# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## A. Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*)

**Gambar II. 1** Tumbuhan Ketepeng Cina

Klasifikasi tumbuhan ketepeng cina sebagai berikut :

*Divisio* (Divisi) : Angiospermae, *Classis* ( Kelas) : Dicotyledoneae, *Ordo* (Bangsa) : Rosales, *Family* (Suku) : Fabaceae, *Genus* (Marga) : Cassia, *Spesies* (Jenis) : *Cassia alata* L. [1]

Ketepeng cina ( *Cassia alata* L. ) berasal dari daerah tropik Amerika dan biasanya hidup pada dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.400 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ketepeng cina termasuk tumbuhan dikotil yang mempunyai sistem perakaran tunggang, yaitu memperlihatkan akar pokoknya yang bercabang-cabang menjadi akar yang lebih kecil dan berbentuk kerucut panjang yang terus tumbuh lurus ke arah bawah.

[1] Noor Hujjatusnaini, Op. Cit., Hlm. 4

Sistem perakaran tunggang ini umumnya berfungsi untuk memperluas bidang penyerapan dan memperkuat tegaknya batang. Jika dilihat dari batangnya, tumbuhan ketepeng cina ( *Cassia alata* L. ) merupakan tumbuhan berkayu dengan ketinggian ± 3 meter, bentuk batang bulat dan mempunyai sistem percabangan simpodial.

**Gambar II. 2** Bentuk Bunga dan Daun Ketepeng Cina

Daun Ketepeng cina ( *Cassia alata* L ) berbentuk jorong sampai bulat telur sungsang, merupakan daun majemuk menyirip genap yang berpasang-pasangan sebanyak 5 – 12 baris, mempunyai anak daun yang kaku dengan panjang 5 – 15 cm, lebar 2,5 – 9 cm, ujung daunnya tumpul dengan pangkal daun runcing serta tepi daun rata. Pertulangan daunnya menyirip dengan tangkai anak daun yang pendek dengan panjang ± 2 cm dan berwarna hijau. Kandungan kimia yang terkandung dalam daun ketepeng cina adalah flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan senyawa antrakuinon (rein aloe-emodina, rein aloe-emodina-diantron, aloe emodina dan asam krisofanat (*dihidroksimetilantrakuinon*).[2] Bunga ketepeng cina ( *Cassia alata* L ) merupakan bunga majemuk yang tersusun dalam tandan bertangkai panjang

[2] Redaksi Agro Media, *Buku Pintar Tanaman Obat*, (Jakarta: PT. Agromedia Pustaka, 2008), Hlm. 145

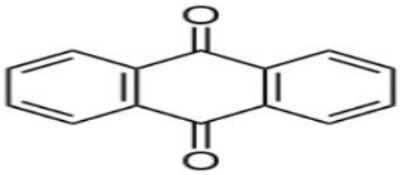
dan tegak yang terletak di ujung-ujung cabangnya dengan mahkota bunganya yang berwarna kuning terang. Buah Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) berupa polong-polongan yang gepeng panjang persegi empat dengan panjang ± 18 cm dan lebar ± 2,5 cm berwarna hitam.

Di samping itu, buah Ketepeng cina juga mempunyai sayap pada kedua sisinya dengan panjang 10 – 20 mm dan lebar 12 – 15 mm. Jika buah tersebut masak, maka pada kedua sisinya akan membuka atau pecah sehingga biji yang terdapat di dalam polong akan terlempar keluar. Biji yang dimiliki ketepeng cina (*Cassia alata* L.) berbentuk segitiga lancip dan berbentuk pipih yang berjumlah 50 – 70 biji pada setiap polongnya.

Di Indonesia, tumbuhan ketepeng cina memilki sebutan yang berbeda-beda, seperti ketepeng kebo (Jawa), ketepeng badak (Sunda), acon-aconan (Madura), sajamera (Halmahera), kupang-kupang (Ternate), tabankun (Tidore), daun kupang, daun kurapan dan gelinggang gajah (Sumatra).

## B. Antrakuinon

Glikosida antrakinon, golongan glikosida ini aglikonnya adalah sekerabat dengan antrasena yang memiliki gugus karbonil pada kedua atom C yang berseberangan (atom $C_9$ dan $C_{10}$) atau hanya $C_9$ (antron) dan $C_9$ ada gugus hidroksil (antranol). Adapun strukturnya adalah sebagai berikut.



**a** **b**

**Gambar II. 3** a. Struktur Kimia Antrakuinon, b. Antrakuinon Bubuk

Senyawa antrakinon dan turunannya seringkali bewarna kuning sampai merah sindur (oranye), larut dalam air panas atau alkohol encer. Untuk identifikasi digunakan reaksi Borntraeger. Antrakuinon yang mengandung gugus karboksilat (rein) dapat diekstraksi dengan penambahan basa, misalnya dengan natrium bikarbonat. Hasil reduksi antrakinon adalah antron dan antranol, terdapat bebas di alam atau sebagai glikosida. Antron bewarna kuning pucat, tidak menunjukkan fluoresensi dan tidak larut dalam alkali, sedangkan isomemya, yaitu antranol bewarna kuning kecoklatan dan dengan alkali membentuk larutan berpendar (berfluoresensi) kuat. Oksantron merupakan zat antara *(intermediate)* antara antrakinon dan antranol. Reaksi Borntraeger modifikasi Fairbairn, yaitu dengan menambahkan hidrogen peroksida akan menujukkan reaksi positif. Senyawa ini terdapat dalam Frangulae cortex. Diantron adalah senyawa dimer tunggal atau campuran dari molekul antron, hasil oksidasi antron (misalnya larutan dalam aseton yang diaerasi dengan udara).

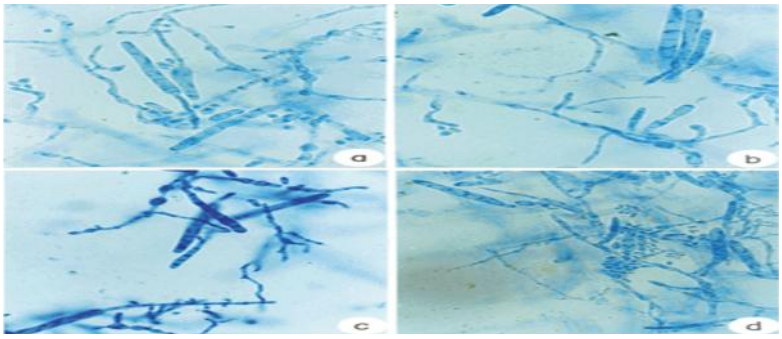
Antrakuinon termasuk senyawa yang tidak berbahaya, tidak menimbulkan ketagihan (adiksi), kebiasaan (habituasi), ataupun tidak menimbulkan toleransi terhadap manusia. Antanol dan antron memiliki sifar reduksi yang kuat. Sifat ini sering dijadikan sebagai pelengkap ramuan dari obat-obat antiseptik tertentu untuk beberapa penyakit kulit, misalnya pemakaian krisarobin dalam psoriasis, eksim kering dan penyakit kulit karena

berbagai jamur, juga pemakaian aloe sebagai antiseptik untuk luka pada pengobatan veteriner.[3]

**Tabel II. 1** Berbagai Kadar Antrakuinon[4]

| Simplisia | Kadar (%) |
|---|---|
| Aloe (lidah buaya) | 15-20 |
| Resin aktif | 40-80 |
| Frangula (kulit kayu) | 6 |
| Rheum (rimpang) | 3-74 |
| Kaskara sagrada (kulit kayu) | 4 |
| Senna (buah) | 1-1,5 |
| Senna (daun) | 1-1,5 |

## C. *Trichophyton sp*



**Gambar II. 4** Koloni Jamur *Trichopyton sp*

*Trichophyton* termasuk dalam golongan jamur yang talusnya berupa hifa atau miselium dengan beberapa percabangan. Hifa atau miselium tersebut umumnya tidak bersekat, kecuali pada bagian hifanya yang akan membentuk atau menghasilkan konidia (konidiaspora). Cabang – cabang hifa umumnya pendek dengan bentuk yang relatif sama dan merupakan hasil pertunasan hifa. Jamur tersebut dapat melakukan fragmentasi hifa yang

[3] Didik Gunawan dan Sri Mulyani, *Ilmu Obat Alam*, (Bogor: Penebar Swadaya, 2004), Hlm. 82

[4] Ibid., Hlm. 83

merupakan cara untuk perkembang biakannya sekaligus penularan dari sel jamur *Trichophyton. Trichophyton* termasuk dalam kelas jamur tidak sempurna atau *Fungi Imperpecty*, karena selama hidupnya hanya memiliki fase vegetatif (fase aseksual) saja, yaitu melalui pembentukan konidia. Sedangkan fase generatifnya (fase seksual) tidak ditemukan. Jamur jenis ini dapat menginfeksi kulit, kuku dan rambut. [5] Hifa berbentuk spiral, mitokondria bundar. Makrokonida berbentuk pensil dan terdiri atas beberapa sel.[6]

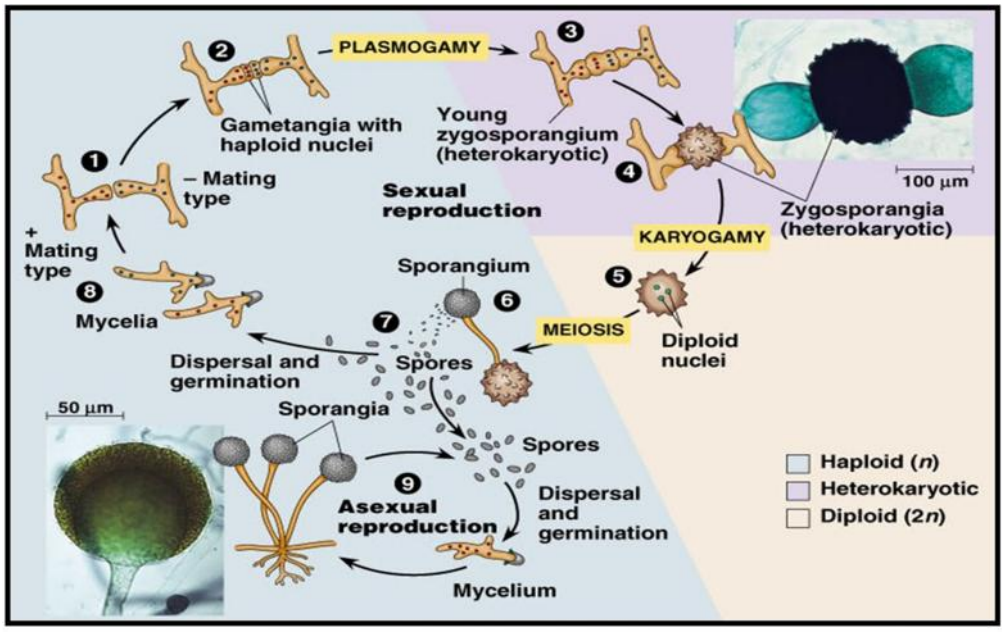
Kultur jamur *Trichophyton* pada medium memperlihatkan miselium yang halus berwarna putih dan tampak seperti kapas, meskipun kadang dapat juga berwarna lain tergantung dari pigmen yang dimilikinya. Butiran halus yang dimiliki oleh *Trichophyton* sebagai konidia yang dapat berbentuk makrokonidia ataupun juga mikrokonidia.

Pertumbuhan *Trichophyton* dapat diartikan sebagai pertambahan ukuran atau panjang hifa (miselium) sebagai akibat dari pertunasan hifa. Pertunasan hifa tersebut akan membentuk percabangan yang bagian terminalnya akan membentuk konidia. Reproduksi aseksual yang dimiliki oleh *Trichophyton* akan terjadi melewati pembentukan konidia melalui pertunasan, fragmentasi (pemotongan) hifa dan pembentukan konidiosposra.

---

[5] Juni Prianto, , *dkk*. Atlas Parasitologi Kedokteran. (Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. 2001). Hal 226

[6] Ibid




**Gambar II. 5** Fase Hidup Jamur *Trychophyton sp.*

Pertumbuhan jamur *Trichophyton* sangat dipengaruhi oleh faktor luar (lingkungan) dalam proses sporulasinya, seperti faktor temperatur, nutrient, pH, zat – zat metabolit seperti toksin dan antibiotik, kelembaban dan substratnya. Sel jamur yang patogenik akan dapat tumbuh optimal jika berada pada rentang suhu 25º – 32º C. *Trichophyton* merupakan jenis jamur yang bersifat parasit dan patogenik dan dapat menimbulkan penyakit seperti kurap, kadas, panu dan juga kutu air atau istilah lainnya adalah dermatomikosis. Jamur yang parasit dan patogenik tersebut akan mengekstraksi makanan dari inangnya sampai timbul gejala klinis sebagai tanda mulai terjadinya infeksi.

Dermatomikosis merupakan istilah ataupun nama penyakit yang disebabkan oleh jamur dermatofit, diantaranya *Trichophyton.* Dermatomikosis disebut juga "*ringworm*" disebabkan oleh karakteristik akibat infeksi yang ditimbulkannya tampak membentuk daerah luka (infeksi) yang melingkar pada permukaan kulit dan tidak berambut. "*Ring*" atau cincin

tersebut sebagai gambaran daerah penjalaran atau pelebaran faerah infeksinya.

**a** **b** **c**

**Gambar II. 6** Penyakit Akibat Infeksi Jamur *Trichophyton sp* (a. *Tinea unguinum* (*onikomikosis*), b. *Tinea manus*, c. *Tinea versikolor* (panu))

## D. Antimikroba

Senyawa antimikroba didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Kriteria umum yang digunakan sebagai antimikroba antara lain: tidak bersifat racun bagi bahan pangan, ekonomis, tidak menyebabkan perubahan aroma, cita rasa dan tekstur makanan, tidak menyebabkan timbulnya galur resisten dan sebaliknya baik jika mempunyai kemampuan membunuh dibandingkan menghambat pertumbuhan mikroba.[7]

Mekanisme penghambatan mikroba oleh senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba adalah sebagai berikut:

1. Merusak dinding sel sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat proses pembentukan dinding sel pada sel yang sedang tumbuh

[7] Reza Fadhilla, *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (Marchantia palaecea) terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makana* (Tesis, Bogor: IPB, 2010), Hlm. 18

2. Mengubah permealibitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrien dari dalam sel
3. Mendenaturasi protein sel
4. Merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler.[8]

Antibiotik adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup termasuk struktur analognya yang dibuat secara sintetik, yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme.[9] Berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya antibiotik dapat dibedakan menjadi dua, yaitu:

1. Antibiotik spektrum sempit (*narrow spectrum*)

   Antibiotik spektrum sempit hanya mampu menghambat segolongan jenis bakteri saja, contohnya hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri gram negatif saja atau gram positif saja.
2. Antibiotik spektrum luas (*broad spectrum*)

   Antibiotik spektrum luas dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan gram positif maupun gram negatif.[10]

**1. Antijamur**

Jamur adalah mikroorganisme eukariotik yang berbentuk filamen yang memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya (sumber karbon dan

---

[8] Masniari Peoloengan, *Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat* (Bogor: IPB, 2006), Hlm. 974-978

[9] Anonim, *Antibakteri*, http://id.wikipedia.org/wiki/Antibakteri (diakses: 16 Januari 2013 pukul 21.00 WIB)

[10] Sylvia T. Pratiwi, *Mikrobiologi Farmasi* (Jakarta: Erlangga, 2008., Hlm.154

energi).[11] Bila sumber nutrisi tersebut diperoleh dari bahan organik mati, maka jamur tersebut bersifat saprofit. Beberapa jamur ada yang bersifat menguntungkan sebagai elemen daur ulang yang vital, misalnya cendawan (*mushroom*). Beberapa jamur dapat bersifat parasit dan merugikan karena menimbulkan penyakit pada manusia, hewan, maupun tumbuhan.[12]

Antijamur merupakan obat yang memiliki aktivitas menghambat atau membunuh jamur patogen. Obat antijamur antara lain adalah golongan *polyene*. Obat antijamur ini bekerja dengan mengikat sterol pada membran plasma jamur sehingga membran plasma sel menjadi sangat permeabel dan sel menjadi mati.

**2. Antibakteri**

Istilah bakteri berasal dari kata bakterion (bahasa yunani) yang berarti tongkat atau batang. Bakteri dikenal sebagai mikroorganisme *prokaryotis* (bahasa yunani) bersel satu. Pembagian bakteri berdasarkan karakteristik warna yang didapat setelah pewarnaan gram terbagi menjadi dua, yaitu gram positif dan gram negatif. Pewarnaan baketriologis bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasi mikroorganisme. Bakteri yang berwarna ungu adalah gram negatif dan bakteri yang berwarna merah muda adalah gram positif.

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme

[11] Rasti Saraswati, *Metode Analisis Biologi Tanah* (Jawa Barat: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian, 2007), Hlm. 11

[12] Sylvia T. Pratiwi, *Op. Cit.*, Hlm. 38

mikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.[13]

Berdasarkan aktivitasnya zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu bakteriostatik dan bakteriosida.

1. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (menghambat perbanyakan populasi bakteri), namun tidak mematikan.
2. Bakterisida adalah zat antibakteri yang memiliki aktifitas membunuh bakteri. Namun ada beberapa zat antibakteri yang bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisida pada konsentrasi tinggi.[14]

## E. Pengukuran Aktifitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme, termasuk bakteri dan jamur. Jika pengujian dilakukan terhadap bakteri disebut uji aktivitas antibakteri dan jika pengujian dilakukan terhadap jamur disebut uji aktivitas antijamur. Kegunaan uji antimikroba ini adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam-macam metode uji antimikroba sebagai berikut: [15]

---

[13] Anonym, antibakteri, http://id.wikipedia.org/wiki/Antibakteri, ( diakses 04 Maret 2013 pukul 15.00) WIB

[14] *Ibid.*

[15] Sylvia T. Pratiwi, *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta, Erlangga, 2008, hlm. 188

## 1. Metode Difusi Agar

Metoda yang paling sering digunakan adalah metoda difusi agar yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Kerjanya dengan mengamati daerah yang bening yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar.[16] Metoda difusi ini dibagi atas beberapa cara sebagai berikut:

### 1.1 Cara Silinder Plat

Cara ini dengan memakai alat pecadang berupa silinder kawat. Pada permukaan media pembenihan dibiakkan mikroba secara merata lalu diletakkan pencadang silinder harus benar-benar melekat pada media, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Setelah inkubasi, pencadang silinder diangkat dan diukur daerah hambat pertumbuhan mikroba.

### 1.2 Cara Cakram

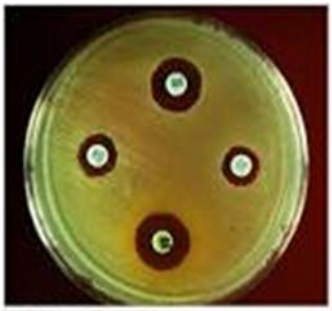
Cakram kertas yang berisi antibiotik diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut.

---

[16] *Ibid.*

### 1.3 Cara Cup Plat

Cara ini juga sama dengan cara cakram, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.[17]



**Gambar II. 7** Cara Difusi

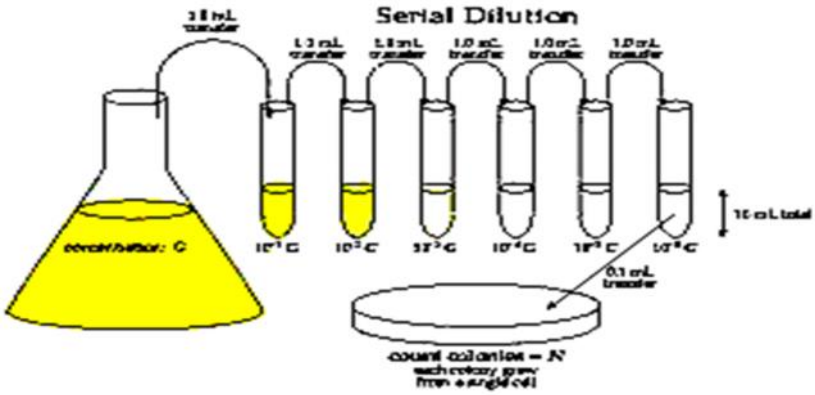
## 2. Metode Dilusi

Metode ini digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari zat antimikroba. Metode dilusi ini menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi dengan media cair dan sejumlah tertentu mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diuji dengan zat antimikroba yang telah diencerkan secara serial. Seri tabung diinkubasi pada suhu ± 36 $^{o}$C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Selanjutnya biakkan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan pada suhu ± 36 °C.

Konsentrasi terendah zat antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih adalah KHM dari zat itu. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukan

[17] *Ibid*., hlm. 189

dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari zat antimikroba terhadap bakteri uji.[18]




**Gambar II. 8.** Metode Dilusi

### 3. Metode Bioautografi

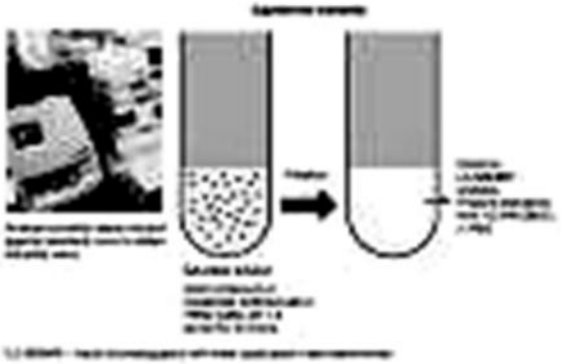
Metode bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT (kromatografi lapis tipis) yang mempunyai aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus. Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Kerugiannya adalah metoda ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM.[19]

### 4. Cara Turbidimetri

Metode turbidimetri dilakukan berdasarkan hambatan pertumbuhan mikroba dalam media cair yang mengandung zat antimikroba. Hambatan pertumbuhan mikroba ditentukan dengan mengukur serapannya dengan

[18] *Ibid*
[19] *Ibid*., hlm. 191-192

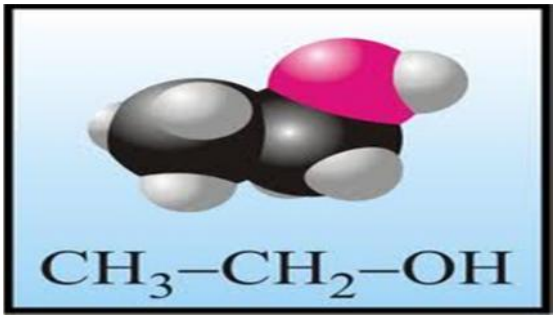
menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Metode turbidimetri memiliki kelebihan, yaitu cepat tidak destruktif, dan tidak mahal. Sedangkan kekurangannya, yaitu sensitifitasnya rendah.



**Gambar II. 9** Metode Turbidimetri

## F. Etanol

Etanol atau etil alkohol merupakan senyawa alkohol yang mempunyai rumus kimia $C_2H_5OH$; zat cair jernih tidak berwarna, berbau khas, mudah terbakar dan mudah bercampur dengan air. Digunakan sebagai antiseptik (alkohol 70%), bahan minuman keras (bir, arak dan wiskiy), dan sebagai bahan bakar, sebagai bahan mentah dalam beberapa industri kimia. T. l. -117,3 °C; t. d. 78,5 °C; d. 0,789.[20]



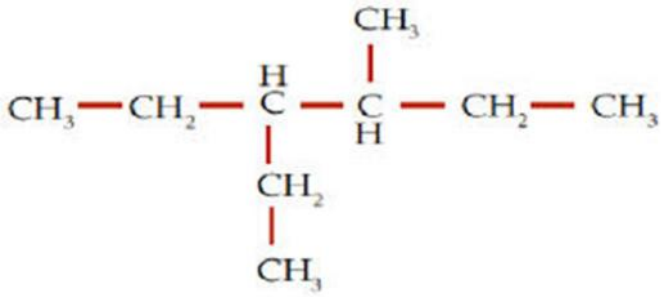

**Gambar II. 10** Struktur Kimia Etanol

[20] Mulyono Ham, *Kamus Kimia*, (Jakarta: Bumi Aksara, 2009), Hlm. 123

Etanol adalah cairan tak berwarna yang mudah menguap dengan aroma yang khas. Etanol terbakar tanpa asap dengan lidah api berwarna biru yang kadang-kadang tidak dapat terlihat pada cahaya biasa. Sifat-sifat fisika etanol utamanya dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksil dan pendeknya rantai karbon etanol. Gugus hidroksil dapat berpartisipasi ke dalam ikatan hidrogen, sehingga membuatnya cair dan lebih sulit menguap dari pada senyawa organik lainnya dengan massa molekul yang sama.

Etanol adalah pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan pelarut organik lainnya, meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Ia juga larut dalam hidrokarbon alifatik yang ringan, seperti pentana dan heksana, dan juga larut dalam senyawa klorida alifatik seperti trikloroetana dan tetrakloroetilena. Campuran etanol-air memiliki volume yang lebih kecil daripada jumlah kedua cairan tersebut secara terpisah. Campuran etanol dan air dengan volume yang sama akan menghasilkan campuran yang volumenya hanya 1,92 kali jumlah volume awal. Pencampuran etanol dan air bersifat eksotermik dengan energi sekitar 777 J/mol dibebaskan pada 298 K. Campuran etanol dan air akan membentuk azeotrop dengan perbandingkan kira-kira 89 % mol etanol dan 11 % mol air. Perbandingan ini juga dapat dinyatakan sebagai 96% volume etanol dan 4% volume air pada tekanan normal dan T = 351 K. Komposisi azeotropik ini sangat tergantung pada suhu dan tekanan. Ia akan menghilang pada temperatur di bawah 303 K.

## G. N-Heksana



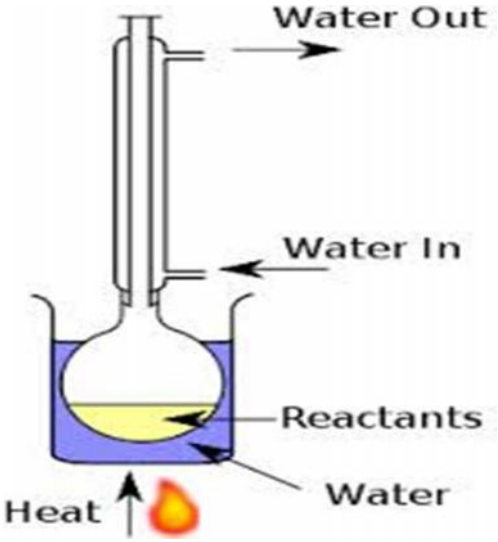
**Gambar II. 11** Struktur Kimia n-heksana

Heksana ($C_6H_{14}$) atau CH3-$CH_2$-$CH_2$-$CH_2$-$CH_2$-$CH_3$ merupakan pelarut non polar yang tidak berwarna dan mudah menguap dengan titik didih 69 $^oC$, pada suhu dan tekanan normal berbentuk cair. Senyawa ini merupakan fraksi petroleum eter yang ditemukan oleh Castille da Henri. Secara umum Heksana merupakan senyawa dengan 6 rantai karbon lurus yang didapatkan dari gas alam dan minyak mentah. Heksana biasanya digunakan dalam pembuatan makanan termasuk ekstraksi dari minyak nabati.

**Tabel II.2** Karakteristik Pelarut Heksana

| | |
|---|---|
| **Rumus molekul** | $C_6H_{14}$ |
| **Massa molar** | 86,18 gr/mol |
| **Densitas** | 0,6548 gr/ml |
| **Titik leleh** | −95 °C (178 K) |
| **Titik didih** | 69 °C (342 K) |
| **Viskositas** | 0,294 cP pada 25 °C |

## H. Refluks




**Gambar II. 12** Instrumen Refluks

Refluks adalah suatu metode ekstraksi cara panas, disebut juga aliran berbalik kembali; misalnya, pada pendingin zat cair dalam labu dengan menggunakan tabung pendingin yang mengembunkan uap kembali dan meneteskan embun kembali ke dalam labu.[21]

Prosedur dari sintesis dengan metode refluks adalah semua reaktan atau bahannya dimasukkan dalam labu bundar leher tiga. Kemudian dimasukkan batang magnet stirer setelah kondensor pendingin air terpasang. Campuran diaduk dan direfluks selama waktu tertentu sesuai dengan reaksinya. Pengaturan suhu dilakukan pada penangas air, minyak atau pasir sesuai dengan kebutuhan reaksi. Pelarut akan mengekstraksi dengan panas, terus akan menguap sebagai senyawa murni dan kemudian terdinginkan dalam kondensor, turun lagi ke wadah, mengekstraksi lagi dan begitu terus.

[21] Hadyana Pudjaatmaka dan Meity Taqdir Qodratillah, *Kamus Kimia*, (Jakarta: Balai Pustaka, 2002), Hlm: 719

Demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyaringan sempurna.

Penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan. Dilakukan dengan menggunakan alat destilasi, dengan merendam simplisia dengan pelarut/solven dan memanaskannya hingga suhu tertentu. Pelarut yang menguap sebagian akan mengembun kembali kemudian masuk ke dalam campuran simplisia kembali, dan sebagian ada yang menguap.

Keuntungan dari metode refluks adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar, dan tahan pemanasan langsung. Sedangkan kerugian dari metode refluks adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar.[22]

## I. PDA (*Potato Dextrose Agar*)

**Gambar II. 13** Media PDA

PDA atau *Potatto dextrose Agar* merupakan salah satu jenis media yang biasa digunakan untuk membiakkan jamur. PDA biasanya dibuat dengan menggunakan bahan alami kentang atau menggunakan bahan PDA yang telah dikemas dalam bentuk serbuk. Selain PDA, media yang juga biasa

[22] Sri Mulyani, http://www.catatankimia.com/metoda-ekstraksi.html, (Diakses pukul tanggal 25 Mei 2013 pukul 20.00 WIB)

digunakan untuk membiakkan berbagai jenis jamur adalah *Malt Extract Agar* (MET), *Czapek Dox Agar* (CDA), *Carrot Agar* (CD), *Oal Meal Agar* (OA).[23]

Pertumbuhan mikroorganisme dalam medium dapat tumbuh dengan baik apabila medium memenuhi persyaratan, antara lain:

a. Medium harus mengandung semua nutrien yang mudah digunakan oleh mikroorganisme.

b. Medium harus mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan, dan pH yang sesuai dengan pertumbuhan mikroorganisme.

c. Medium tidak mengandung zat-zat yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

d. Medium harus steril sebelum digunakan, agar mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik.[24]

Adapun bahan-bahan yang diperlukan untuk pembuatan PDA adalah kentang segar, dekstrosa, agar-agar bubuk dan air yang steril.

**1. Kentang**

Belilah kentang dengan kualitas baik, keadaan mulus dan tidak terlalu banyak bintiknya. Kentang juga tidak boleh dalam keadaan terlalu

[23] Indrawati Gandjar , *dkk*, *Mikologi Dasar dan Terapan*, (Jakarta: Yayasan Obor Indonesia, 2006), Hlm. 159-160

[24] Lud Waluyo, *Teknik & Metode Dasar Dalam Mikrobilogi*, (Malang: UPT Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang, 2010), Hlm. 129

tua dan sudah lunak. Sebaiknya kentang masih segar dan dalam keadaan masih cukup keras.

**Gambar II. 14** Umbi Kentang

**2. Dekstrosa**

Dextrosa ini adalah sejenis glukosa atau gula. Jika kesulitan untuk mendapatkannya, bisa diganti dengan gula putih biasa. Biasanya dextrosa bisa dibeli di apotek, toko-toko laboratorium, atau di toko alat-alat kedokteran.

**Gambar II. 15** Dekstrosa

**3. Agar-agar bubuk**

Agar-agar yang digunakan bisa agar-agar batang atau agar-agar bubuk. Jika kita menggunakan agar-agar bubuk, pilihlah yang kualitas baik dan yang tidak berwarna atau bening. Dalam satu sachet biasanya memiliki berat bersih 7gram, jadi jika diperlukan 20 gram, maka diperlukan 3 sachet/bungkus agar-agar.

**Gambar II. 16** Agar-agar Bubuk

**4. Air steril**

Air steril yang digunakan dapat berupa air minum kemasan yang sudah dikenal baik dari segi kualitas.

**Gambar II. 17** Air Steril