

BAB II

KAJIAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kajian Pustaka

1. Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)

a. Botani Tanaman Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)

Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) adalah tanaman semak tahunan yang berasal dari wilayah tropis Amerika. Tumbuhan ini terkenal luas karena manfaatnya sebagai obat herbal maupun sebagai tanaman hias. Morfologinya terdiri dari batang kayu yang berbentuk silinder dan berwarna coklat keabu-abuan. Tinggi tumbuhan ini dapat mencapai hingga 4-5 meter, dengan cabang yang lebat (*Cai et al.*, 2025).



Gambar 2.1 Tumbuhan Ketepeng Cina
(Sumber: Dokumentasi pribadi diambil pada tanggal 13 Desember 2025)

Menurut Tjitrosoepomo (1991), klasifikasi ketepeng cina sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Rosales
 Famili : Fabaceae
 Genus : Cassia
 Species : *Cassia alata* L.
 Sinonim : *Senna alata* (L.) Roxb.
 Nama Umum : Daun kupang, gelinggang (Melayu), ki manila (Sunda), ketepeng cina (Jawa), acong-acong (Madura), kupang-kupang (Ternate), tabakun (Tidore) (MMI, 2026).

Tanaman ketepeng cina memiliki habitus berupa perdu dengan tinggi mencapai ± 5 m. Batangnya berkayu, berbentuk bulat dan bercabang secara sympodial dengan warna cokelat kotor. Daunnya merupakan daun majemuk menyirip genap dengan jumlah anak daun berkisar antara delapan hingga dua puluh empat pasang. Anak daun berbentuk bulat panjang dengan ujung tumpul, tepi rata dan pangkal membulat hingga memanjang dengan panjang sekitar 3,5-15 cm dan lebar 2,5-9 cm. Pertulangan daun menyirip, tangkai daun pendek dan berwarna hijau. Bunganya tersusun majemuk dalam bentuk tandan, dengan kelopak terbagi menjadi lima bagian dan benang sari berjumlah tiga yang berwarna kuning serta dilengkapi benang pelindung yang pendek. Mahkota bunga berbentuk kupu-kupu dan berwarna kuning. Buah berupa polong berbentuk panjang dan bersegi empat dengan panjang dapat mencapai ± 18 cm dan lebar $\pm 2,5$ cm, yang pada saat muda berwarna hijau dan berubah menjadi cokelat kehitaman saat tua. Bijinya berbentuk segitiga lancip, pipih, berwarna hijau saat muda dan menghitam ketika tua. Sistem

perakaran berupa akar tunggang yang bercabang, berbentuk bulat dan berwarna kehitaman (MMI, 2026).

b. Kandungan Senyawa Aktif Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)

Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) mengandung sejumlah metabolit sekunder yang berperan penting dalam sifat antibakterinya termasuk alkaloid (catenarin dan emodin), flavonoid (quercetin, kaempferol, luteolin), saponin, tanin (katekin, tanin hidroksibenzena), antrakuinon (chrysophanol, physcion), steroid (beta-sitosterol) serta terpenoid (Lathifah *et al.*, 2021). Senyawa-senyawa tersebut berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan bakteri, khususnya *Staphylococcus aureus*, melalui berbagai mekanisme seperti penghambatan enzim, merusak membran sel, denaturasi protein hingga mengganggu proses replikasi DNA bakteri.

2. Sirih (*Piper betle* L.)

a. Botani Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tanaman menjalar yang membutuhkan dukungan dari tumbuhan lain sebagai penopangnya, dan dapat tumbuh sepanjang 5 hingga 15 meter. Batangnya bertekstur kayu lunak, memiliki warna coklat kehijauan, berbentuk silindris dengan ruas-ruas yang terlihat jelas, yang berfungsi sebagai saluran keluar akar udara yang mendukung

tanaman untuk melekat dan merambat (Widiyastuti *et al.*, 2016); (Ramdhani *et al.*, 2024).



Gambar 2.2 Tumbuhan Sirih
(Sumber: Dokumentasi pribadi diambil pada tanggal 28 November 2025)

Menurut Pradhan dkk., (1991), klasifikasi Sirih (*Piper betle L.*) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper betle L.</i>
Nama Umum	: Sirih, sirih hijau (MMI, 2026).

Tanaman sirih memiliki habitus berupa tanaman merambat atau memanjat yang dapat mencapai tinggi hingga ± 15 meter dengan cara bersandar pada pohon lain atau struktur pendukung. Batangnya berbentuk bulat, beruas dan berwarna coklat kehijauan, serta memiliki tempat keluarnya akar adventif atau akar panjat. Daunnya merupakan daun tunggal dengan bentuk bulat telur hingga lonjong

atau menyerupai jantung (*cordate*), dengan tepi rata, ujung meruncing (*acuminate*) dan pangkal membulat hingga berbentuk jantung. Daun memiliki pertulangan menyirip, panjang sekitar 5-15 cm dan lebar 2-10 cm, dengan permukaan daun halus, licin dan mengkilap. Warna daun hijau tua pada permukaan atas dan lebih kusam pada permukaan bawah. Bunganya tersusun majemuk dalam bentuk bulir (*spike*), dengan panjang bulir jantan sekitar 1,5-3 cm dan bulir betina 2,5-6 cm, memiliki 3-5 kepala putik serta benang sari yang pendek. Buah berbentuk buni (*berry*), bulat dengan ujung tumpul, tersusun rapat dan berbulu. Sistem perakaran berupa akar tunggang yang disertai akar panjat yang muncul dari ruas batang dan berwarna coklat kekuningan (MMI, 2026).

b. Kandungan Senyawa Aktif Sirih (*Piper betle* L.)

Daun Sirih (*Piper betle* L.) memiliki berbagai zat aktif yang berfungsi penting sebagai agen antibakteri, meliputi minyak atsiri, flavonoid, fenol, saponin, alkaloid, steroid dan terpenoid (Agustina *et al.*, 2016). Minyak atsiri yang utama terdiri dari senyawa seperti eugenol, metil eugenol, kavikol dan kavibetol yang menunjukkan efek antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri dan mengganggu fungsi enzim (Bustanussalam *et al.*, 2015).

3. Bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Morfologi dan Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram-positif yang termasuk dalam famili *Staphylococcaceae*. Menurut tinjauan pustaka taksonomi (Cappuccino & Sherman, 2014) sebagai berikut:

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

Secara morfologis, *Staphylococcus aureus* memiliki bentuk kokus (bulat) dengan ukuran sekitar 0,4-1,2 μm (rata-rata $\sim 0,8 \mu\text{m}$), yang tersusun dalam kelompok menyerupai anggur “*grape-like clusters*” saat diamati di bawah mikroskop setelah dilakukan pewarnaan gram. Bakteri ini bersifat non-motil (tidak dapat bergerak), tidak menghasilkan spora dan merupakan anaerob fakultatif, yang berarti dapat bertahan hidup dalam lingkungan beroksigen maupun tanpa oksigen. Di media pertumbuhan seperti *Mannitol Salt Agar* (MSA), koloni *Staphylococcus aureus* berukuran 2-4 mm, berwarna kuning terang, cembung, halus dan bersinar yang menjadi ciri khas dari bakteri ini (Cappuccino & Sherman, 2014).

b. Patofisiologi *Staphylococcus aureus*

Patofisiologi *Staphylococcus aureus* melibatkan kemampuan bakteri untuk melekat, menginfeksi dan bertahan hidup di dalam tubuh inang melalui berbagai faktor virulensi. Salah satu faktor utama adalah protein permukaan *Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMMs) yang memungkinkan bakteri berkaitan dengan protein matriks ekstraseluler inang seperti fibronektin dan laminin sebagai tahap awal infeksi dan penetrasi ke jaringan yang lebih dalam. Selain itu *Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai enzim dan toksin, seperti hemolisin, koagulase, stafilokinase, enterotoksin dan *Toksin Toxic Shock Syndrome* (TSST), yang berperan dalam perusakan sel, perlindungan dari fagositosis, penyebaran infeksi serta timbulnya gejala sistemik (Husna, 2018).

Infeksi *Staphylococcus aureus* juga memicu respons inflamasi lokal yang ditandai dengan pembentukan nanah dan abses sebagai mekanisme pertahanan tubuh, namun dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Kemampuan bakteri membentuk biofilm meningkatkan ketahanan terhadap sistem imun dan antibiotik, sehingga menyulitkan terapi. Interaksi kompleks antara faktor virulensi bakteri dan respons imun inang menyebabkan manifestasi klinis yang beragam, mulai dari infeksi kulit superfisial hingga

infeksi berat seperti osteomielitis, endokarditis dan sepsis yang berpotensi mengancam jiwa (Husna, 2018; Touaitia *et al.*, 2025).

4. Ekstraksi

a. Pembuatan Simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum melalui pengolahan kompleks, kecuali dinyatakan lain sebagai bahan yang telah dikeringkan. Secara umum, simplisia dibagi menjadi simplisia nabati, hewani dan pelikan (Depkes RI, 1979). Simplisia nabati yang sering digunakan adalah bagian-bagian tanaman seperti daun, akar, batang dan bunga yang dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 60°C agar senyawa bioaktif yang terkandung tetap stabil. Mutu simplisia dipengaruhi oleh berbagai faktor, dimulai dari pemilihan daun segar yang tidak mengalami kerusakan atau kontaminasi, proses pengeringan yang benar, penyimpanan dalam kondisi bersih dan kering hingga pengemasan yang dapat menghindari kelembaban serta kontaminasi mikroba (Depkes RI, 2017; Kusuma *et al.*, 2023).

b. Metode ekstraksi dingin

Ekstrak dapat diartikan sebagai sediaan pekat yang dihasilkan melalui proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, di mana seluruh atau hampir seluruh pelarutnya dihilangkan melalui penguapan (Depkes RI, 2017). Proses ini bertujuan untuk mengkonsentrasikan senyawa aktif yang terdapat

dalam simplisia sehingga menunjang penghasilan bahan baku senyawa yang lebih mudah diolah dan memiliki kestabilan yang lebih baik. Ekstrak dapat berupa cair, kental atau kering, tergantung pada Teknik penguapan dan pengeringan yang diterapkan.

Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi metode panas dan metode dingin. Ekstraksi dingin, seperti maserasi dan perkolasi, sering dipilih ketika senyawa yang ditargetkan sensitif terhadap panas atau dapat terdegradasi akibat pemanasan. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan merendam simplisia dalam pelarut pada suhu kamar dalam waktu tertentu hingga zat aktif larut. Prinsip dasar maserasi didasarkan pada proses difusi pelarut ke dalam sel tanaman dan melarutkan zat aktif tanpa pemanasan yang berisiko merusak senyawa yang peka terhadap panas (Harborne, 1987). Kelebihan utama maserasi ada pada kesederhanaan alat, biaya operasional yang minimal serta kemampuannya dalam melindungi senyawa yang peka terhadap panas. Namun, cara ini biasanya memerlukan waktu pemrosesan yang lebih lama dan hasil ekstraksi yang mungkin lebih rendah dibandingkan dengan metode termal seperti sokhletasi.

Remaserasi merupakan modifikasi dari metode maserasi yang dilakukan dengan cara mengulangi proses maserasi pada bahan yang sama menggunakan pelarut baru dalam beberapa tahap. Keuntungan remaserasi terletak pada peningkatan efisiensi ekstraksi dengan

mengoptimalkan pemanfaatan senyawa aktif dalam simplisia, sehingga nilai rendemen dan mutu ekstrak dapat lebih baik tanpa perlu menggunakan suhu tinggi yang berisiko menimbulkan degradasi (Ansel, 1989). Penelitian ini menggunakan remaserasi sebagai metode ekstraksi karena efektivitasnya dalam menghasilkan ekstrak dengan rendemen lebih tinggi dan menjaga kandungan senyawa aktif, khususnya pada senyawa yang sensitif terhadap panas (Harborne, 1987; Depkes RI, 2017).

5. Skrining Fitokimia

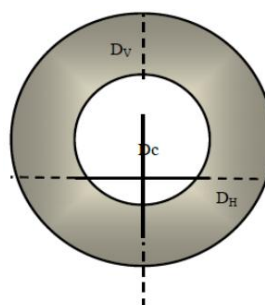
Skrining fitokimia adalah teknik awal yang penting dalam studi tanaman obat untuk mendeteksi kelompok metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas biologis, seperti antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi (Rao *et al.*, 2023). Umumnya, skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif menggunakan reagen spesifik yang dapat menyebabkan perubahan warna atau pembentukan endapan sebagai tanda adanya senyawa tertentu dalam ekstrak tanaman, seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin (Alqethami & Aldhebiani, 2021).

Flavonoid adalah bagian dari golongan polifenol yang biasanya diuji menggunakan reaksi warna yang khas antara ekstrak dan asam atau basa, menghasilkan perubahan warna kuning hingga oranye jika terdeteksi positif. Alkaloid merupakan senyawa mengandung nitrogen yang dapat dikenali melalui terbentuknya endapan berwarna saat bereaksi dengan reagen seperti Mayer atau Wagner, yang menunjukkan

keberadaannya dalam ekstrak. Saponin diuji melalui tes busa, di mana ekstrak yang dikocok dengan air menghasilkan buih yang stabil menandakan adanya senyawa ini, sementara tanin sebagai kelompok fenolik menghasilkan warna biru-kehitaman atau hijau-kehitaman saat bertemu dengan larutan besi (III) klorida (Alqethami & Aldhebani, 2021; Setyowati *et al.*, 2014; Marwoko, 2013).

6. Metode Uji Aktivitas Antibakteri Difusi Cakram

Uji difusi cakram merupakan salah satu cara *in vitro* yang sering dipakai untuk menilai kemampuan penghambatan senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan mikroba. Metode ini bekerja dengan prinsip difusi senyawa aktif dari disk kertas saring ke dalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, sehingga terbentuk zona bening yang disebut zona hambat (*inhibition zone*) di sekeliling (Jamil *et al.*, 2021). Zona hambat ini memperlihatkan adanya pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, di mana semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, semakin kuat aktivitas antibakteri dari senyawa yang diuji.



Gambar 2.3 Pengukuran Diameter Zona Hambat Difusi Cakram
(Sumber: Magvirah *et al.*, 2019)

Rumus standar yang digunakan adalah $\frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$, di mana D_v adalah diameter vertikal zona bening, D_h diameter horizontal dan D_c diameter cakram, sehingga menghasilkan rata-rata diameter zona hambat bersih dalam satuan mm (Magvirah *et al.*, 2019). Menurut James S. Lewis II *et al* (2023), berikut kategori zona hambat metode difusi cakram:

Tabel 2.1 Kategori zona hambat

Diameter zona hambat	Kategori
≥ 20 mm	<i>Susceptible</i> (S)
15-19 mm	<i>Intermediate</i> (I)
≤ 14 mm	<i>Resisten</i> (R)

(Sumber: *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) edisi 33 tahun 2023)

Kategori ini membantu mengukur tingkat efektivitas antibakteri dari senyawa yang diuji dengan mengacu pada ukuran zona hambat. Metode difusi cakram lebih disukai dibanding metode difusi sumuran karena kontrol yang lebih baik terhadap volume dan konsentrasi sampel, serta kemudahan dalam standarisasi dan replikasi pengujian. Cara ini sangat ideal untuk pengujian bakteri aerob seperti *Staphylococcus aureus* yang berkembang baik pada media agar padat dalam kondisi aerobik, sehingga menghasilkan zona penghambatan yang jelas dan mudah diukur (Jamil *et al.*, 2021).

Hasil uji difusi cakram sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor penting yang perlu dikendalikan dengan ketat. Beberapa faktor tersebut menurut (Jamil *et al.*, 2021) diantaranya yaitu:

- Konsentrasi dan volume sampel yang diserap oleh cakram, menentukan jumlah senyawa aktif yang berdifusi
- Kelarutan, kepolaran dan massa molekul senyawa uji, mempengaruhi kecepatan difusi dalam agar
- Ketebalan media agar, kepadatan inokulum serta suhu dan waktu inkubasi menyebabkan variasi hasil apabila tidak distandarisasi dengan baik

B. Kerangka Berpikir

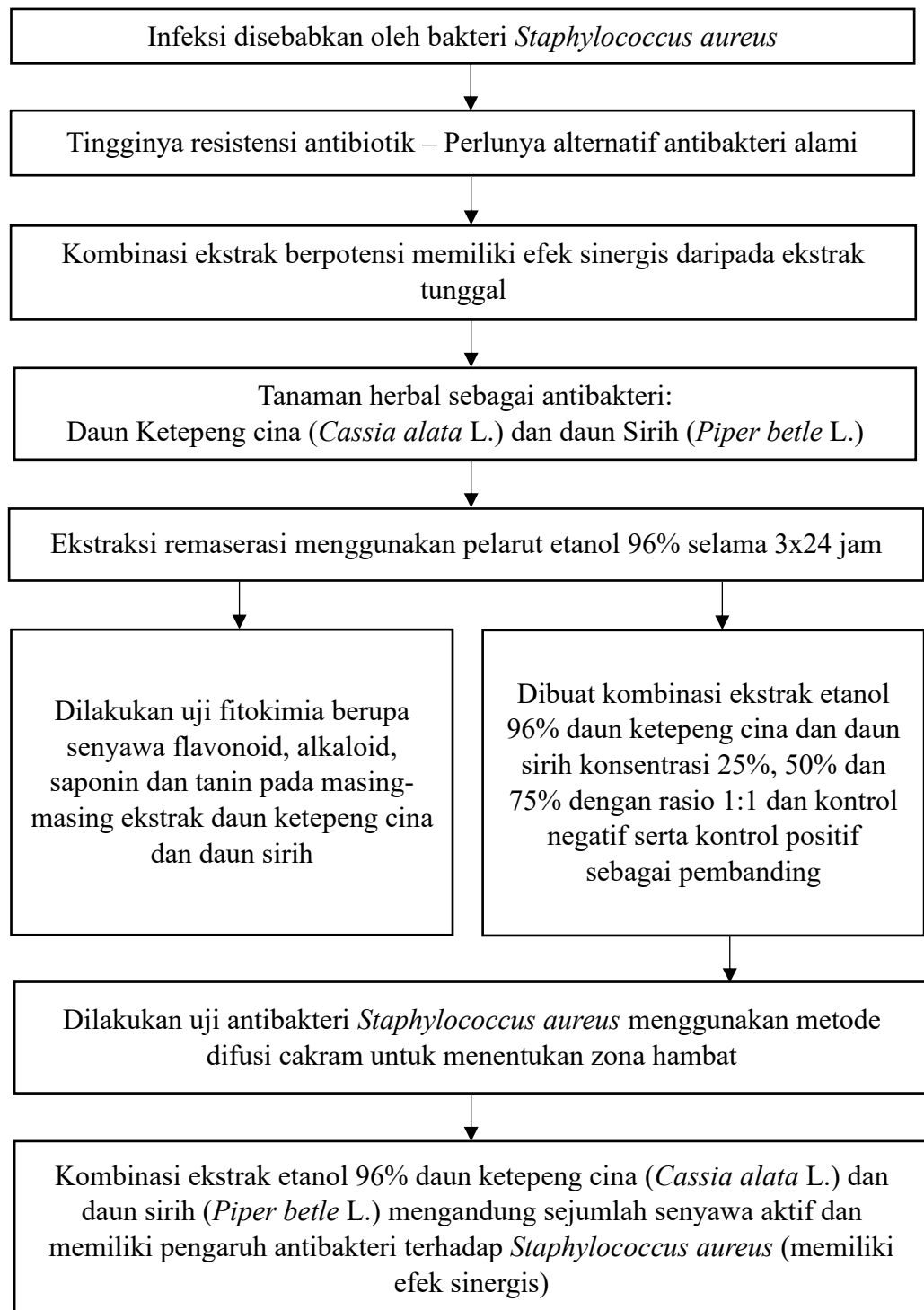
Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* masih menjadi permasalahan kesehatan yang sering dijumpai, terutama pada infeksi kulit dan jaringan lunak. Penanganan infeksi ini umumnya menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan berkepanjangan telah menyebabkan meningkatnya kasus resistensi antibiotik. Tingginya resistensi bakteri terhadap antibiotik konvensional mendorong perlunya pencarian alternatif antibakteri yang berasal dari bahan alam yang lebih aman dan berpotensi efektif.

Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah pemanfaatan tanaman herbal sebagai sumber antibakteri alami. Kombinasi ekstrak tanaman diketahui berpotensi memberikan efek sinergis yang lebih baik dibandingkan penggunaan ekstrak tunggal. Daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan tanaman herbal yang secara empiris telah digunakan dalam pengobatan tradisional dan dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Kedua tanaman tersebut

mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri.

Untuk memperoleh senyawa aktif secara optimal, daun ketepeng cina dan daun sirih diekstraksi menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin pada masing-masing ekstrak. Selanjutnya, ekstrak etanol daun ketepeng cina dan daun sirih dikombinasikan pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% dengan perbandingan 1:1, serta dilengkapi dengan kontrol negatif dan kontrol positif sebagai pembanding.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Metode ini digunakan untuk mengetahui kemampuan kombinasi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil dari pengujian diharapkan dapat menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol 96% daun ketepeng cina dan daun sirih mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri serta memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* melalui efek sinergis.



Gambar 2.4 Kerangka berpikir

C. Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak etanol 96% daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.
2. Kombinasi ekstrak etanol 96% daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% dengan rasio 1:1 memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.