BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Streptococcus Mutans

Streptococcus mutans biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi (Nugraha, 2008). Streptococcus mutans adalah bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidodurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Oleh karena kemampuan ini, Streptococcus mutans bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, lengket mendukung bakteri- bakteri lain, pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan asam melarutkan email gigi (Nugraha, 2008).

Nama Streptococcus mutans diberikan untuk membedakan bakteri yang menyerang manusia secara oral selain itu yaitu Streptococcus sobrinus. S. Mutans merupakan anggota dari Grup Streptococcus viridians. Klasifikasi terbaru tentang bakteri oral menunjukkan bahwa Streptococcus mutans merupakan salah satu dari empat kelompok Streptococcus oral selain Streptococcus anginosus, mistis dan salivarus (Ningtyas, 2012).

2.1.1. Taksonomi dan Klasifikasi

Streptococcus adalah mikroorganisme bulat, tersusun secara khas dalam rantai dan tersebar luas dalam alam. Beberapa diantaranya adalah anggota flora normal manusia, dan yang lainnya dihubungkan dengan penyakit – penyakit penting pada manusia sebagai infeksi dengan

Streptococcus. Bakteri ini menghasilkan berbagai zat ekstraseluler dan enzim – enzim (Brooks *et al.*, 2007).

Klasifikasi ini didasarkan pada data kemotaksonomi dan genotipik (Whiley dan Beighton, 1998). Adapun tatanama atau klasafikasi dari *Streptococcus mutans* menurut Bergey dalam Capuccino (1998) adalah :

Kingdom: Monera

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Lactobacilalles

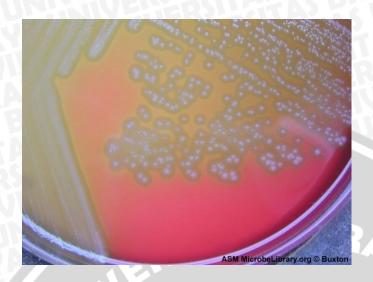
Family : Streptococcaceae

Genus : Streptococcus

Species : Streptococcus mutans

<u>10μm</u>

Gambar 2.1 : Streptococcus mutans pada pewarnaan gram (Manton,2010)



Gambar 2.2 : Streptococcus mutans pada media Blood Agar Plate (Buxton, 2005)

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), termasuk dalam bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk kokus yang soliter berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai, tidak membentuk spora, diameter sel ±0,5 - 1µm. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu 18°- 40°C. Streptococcus mutans biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies untuk email gigi (Nugraha, 2008).

Streptococcus mutans bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, asidodurik, mampu tinggal pada lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran. Sehubungan dengan kemampuan ini, Streptococcus mutans bisa menyebabkan lengket dan mendukung bakteri lain menuju ke email gigi, lengket mendukung bakteri - bakteri lain, pertumbuhan bakteri asidodurik yang lainnya, dan asam melarutkan email gigi (Nugraha, 2008).

2.1.2. Pathogenesis karies gigi

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* adalah karies gigi. Ada beberapa hal yang menyebabkan karies gigi bertambah parah adalah gula, air liur, dan juga bakteri pembusuknya. Setelah mengkonsumsi sesuatu yang mengandung gula, terutama adalah sukrosa, dan bahkan setelah beberapa menit penyikatan gigi dilakukan, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak pada gigi. Pada waktu yang bersamaan berjuta-juta bakteri yang dikenal sebagai *Streptococcus mutans* juga bertahan pada glikoprotein itu. Walaupun banyak bakteri lain yang juga melekat, hanya *Streptococcus mutans* yang dapat menyebabkan rongga atau lubang pada gigi (Nugraha, 2008).

Pada langkah selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolism glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis di bawah kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat ini menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH sampai batas tertentu sehingga dapat menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi mendorong kearah pembentukan suatu rongga atau lubang. Streptococcus mutans ini yang mempunyai suatu enzim yang disebut glucosyl transferase diatas permukaannya yang dapat menyebabkan polimerisasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan dari fruktosa, sehingga dapat mensintesa molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) alfa (1-3). Pembentukan alfa (1-3) ini sangat lengket, sehingga tidak larut dalam air. Hal ini dimanfaatkan oleh bakteri streptococcus mutans untuk berkembang dan membentuk plak gigi. Enzim

yang sama melanjutkan untuk menambahkan banyak molekul glukosa ke satu sama lain untuk membentuk dextran yang memiliki struktur sangat mirip dengan amylase dalam tajin. Dextran bersama dengan bakteri melekat dengan erat pada enamel gigi dan menuju ke pembentukan plak pada gigi. Hal ini merupakan tahap dari pembentukan rongga atau lubang pada gigi yang disebut dengan karies gigi (Nugraha, 2008).

2.1.3 Peran Streptococcus Mutans

Dari penelitian sebelumnya didapatkan Kadar Hambat Minimum (KHM) sirih (*Piper betle Linn*) terhadap *Streptococcus mutans* adalah pada konsentrasi 25%. Sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) sirih (*Piper betle Linn*) adalah pada konsentrasi 100%. (Prima, 2008). Jumlah koloni *Streptococcus mutans* yang menempel pada permukaan resin komposit sinar tampak jenis hibrid lebih banyak daripada jenis mikrofil (Anggraeni dkk, 2012). Dari penelitian yang dilakukan bahwa semua pasta gigi yang diuji mempunyai daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dan berbeda secara bermakna (r < 0,05). Daya hambat terbesar dimiliki oleh pasta gigi herbal C (mengandung siwak) dan terkecil pasta gigi kontrol (non herbal) (Pratiwi, 2005).

2.2. Morfologi dan Habitat Streptococcus mutans

Streptococcus mutans telah diisolasi dari rongga mulut dan sejumlah hewan percobaan termasuk tikus dan rongga mulut manusia. Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak) dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. Streptococcus mutans memiliki

bentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai (Ningtyas, 2012).

Streptococcus mutans memiliki berbagai unsur antigenik di dalam dinding selnya, seperti misalnya antigen protein, polisakarida spesifik, peptidonglikan, dan asam lipoterikoat. Antigen-antigen tersebut menentukan imunogenitas Streptococcus mutans. Secara serologis Sterptococcus mutans dapat dibedakan menjadi 8 serotipe berdasarkan spesifitas karbohidrat pada dinding selnya yaitu serotipe a yang disebut S. cricetus, serotipe b yang disebut S. ratius, Serotipe c, e, dan f yang disebut Streptococcus mutans, serotipe d dan g yang disebut S. cobrinus, serotipe h yang disebut S. downer. Semua serotipe Streptococcus mutans kecuali S. ratius mengekspresikan major cell surface-associated protein yang disebut antigen I atau antigen II, antigen B, Streptococcus protein A atau antigen Sterptococcus mutans serotipe c dan Streptococcus cobrinus yang disebut Streptococcus mutans serotipe g sebagai agen etiologi karies yang utama (Ningtyas, 2012).

Dinding sel *Streptococcus mutans* terdiri dari 6,8 % protein, 8,9 asam *tricoid gliserol*, 3,3,6 nonpeptidonglikan polisakarida dan 4,9,9 peptidonglikan. Spesies ini mengandung antigen yang telah diberi nama melalui komponen besarnya antigen minornya dimana sangat mudah ditunjukkan dengan teknik *microplate* daripada dengan metode biasanya yaitu imunoelektroniphoretik (Ningtyas, 2012).

Habitat utama *Streptococcus mutans* adalah permukaan gigi namun bakteri ini tidak dapat tumbuh secara bersama ke seluruh permukaan gigi melainkan *Streptococcus mutans* sering tumbuh pada area tertentu pada

permukaan gigi. Biasanya kita dapat menemukan koloni *Streptococcus mutans* dalam pit dan fisur, permukaan oklusal, area proksimal permukan gigi, gingiva atau pada lesi karies gigi. Jumlah populasi *Streptococcus mutans* dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain diet sukrosa, topikal aplikasi fluor, penggunaan antibiotik, obat kumur yang mengandung antiseptik dan keadaan higiena oral. Kadar *Streptococcus mutans* dalam air liur berkisar 106 sampai 107 CFU (*Colony Forming Unit*) per ml (Ningtyas, 2012).

Michalek dan Mc Ghee (1996) serta Nolte (1982) menyatakan bahwa media selektif untuk pertumbuhan *Streptococcus mutans* adalah agar *Mitis Salivarius*, yang menghambat kebanyakan bakteri mulut lainnya kecuali *Streptococcus*. Penghambatan pertumbuhan bakteri mulut lainnya pada agar *Mitis Salivarius* disebabkan karena kadar biru *trypan*. Di samping itu, media ini juga mengandung membran violet, telurit dan sukrosa berkadar tinggi. *Streptococcus mutans* yang tumbuh pada agar *Mitis Salivarius* memperlihatkan bentuk koloni halus berdiameter 0,5 – 1,5 mm, cembung, berwarna biru tua dan pada pinggiran koloni kasar serta berair membentuk genangan di sekitarnya (Ningtyas, 2012).

Pertumbuhan *Streptococcus mutans* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau kaldu, kecuali diperkaya darah atau cairan jaringan. Kebanyakan *Streptococcus Mutans* tumbuh dalam media padat sebagai koloni *discoid*. Media lain yang dapat dipakai untuk menumbuhkan *Streptococcus mutans* adalah *Brain Heart Infusion Broth (BHIB), Trypton Yeast Cystein (TYC)* dan agar darah (Ningtyas, 2012).

2.3 Tes sensitivitas

Berdasarkan Dzen dkk (2003) tes sensitivitas terhadap bakteri bisa dilakukan dengan 2 metode yaitu metode dilusi (*dilution method*) dan metode difusi cakram.

2.3.1 Tes Sensitivitas dengan Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dari obat anti mikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah dengan menggunakan suatu tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah pada tabung ditunjukkan dengan hasil biakan yang dimulai tampak jemih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jemih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada dan tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM obat dapat juga dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen dkk, 2003).

2.3.2 Tes Sensitivitas denagn Metode Difusi Cakram

Obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji. Kemudian diinkubasikan 37°C selama 18 – 24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakan isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat) dapat dilakukan dua cara seperti berikut:

- Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat NCCLS (*National Commitee foe Clinical Laborarory* Standard). Dengan tabel NLSS ini dapat diketahui kreteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten.
- Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radus zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzenn dkk, 2003). Kreterianya adalah:

Sensitif: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas, sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3mm terhadap kontrol.

Intermediet: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih besar dari 3mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil 3mm.

Resisten : yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3mm (Dzen dkk, 2003).

2.4 Daun Beluntas

Salah satu tanaman obat yang sudah dipergunakan oleh masyarakat Indonesia adalah beluntas (*Pluchea indica Less*). Beluntas biasa ditanam oleh masyarakat sebagai tanaman pagar, berkhasiat sebagai penghilang bau badan. Cara pemakaian, daun atau akar sebanyak 10–15 gr direbus, lalu diminum. Untuk pemakaian luar, daun dilumatkan lalu dilulurkan untuk pegal limu, scabies, kudis dan borok. Daun beluntas selain berfungsi untuk pengobatan secara kuratif dan preventif (Susetyarini, 2009).

2.4.1 Morfologi dan Klasifikasi

Beluntas adalah tanaman perdu kecil, tumbuh tegak, tinggi mencapai 0,5-2 meter dan kadang-kadang lebih. Percabangannya banyak, berusuk halus, berambut lembut, daun bertangkai pendek dan letak berseling, helaian daun bulat telur sungsang, ujung bulat melancip, tepi bergerigi, berkelenjar, panjang 2,5-9 meter, lebar 1-1,5 meter, warnanya hijau terang, dan bila diremas baunya harum. Bunganya majemuk, keluar dari ketiak daun dan ujung tangkai, cabang-cabang perbungaannya banyak, bunga bentuk bogol bergagang atau duduk serta berwarna putih kekuningan sampai ungu. Beluntas memiliki buah seperti bentuk gasing, kecil, keras, cokelat, sudutsudut putih. Bijinya kecil dan berwarna coklat keputihan (Ningtyas, 2012). Menurut Pujowati (2006) klasifikasi dari tanaman beluntas sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dycotyledonae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae

Marga : Pluchea

Spesies : Plucea indica [L] Less



Gambar 2.3 : Daun beluntas

2.4.2 Nama lain

Nama-nama lain tanaman Daun Beluntas tersebut antara lain luntas (Jawa Tengah), beluntas (Sunda), baluntas (Madura), lamutasa (Makasar), dan lenabou (Timor). Nama daun beluntas di luar indonesia antara lain Indian camphorweed (inggris), cuc tan, phat pha (vietnam), luan yi (china).

2.4.3 Manfaat

Khasiat medis tanaman ini yaitu dapat digunakan untuk menghilangkan bau badan, melancarkan pencernaan (nafsu makan), mengatasi nyeri rematik dan sakit pinggang, menurunkan panas badan (demam), peluruh keringat, serta TBC kelenjar leher. Manfaat tersebut dirasa, salah satunya karena tanaman mengandung flavonoid, tanin, alkaloid dan minyak atsiri (Handayani, 2012).

2.4.4 Kandungan

Beluntas mengandung bahan aktif penting terutama dari senyawa metabolit sekunder dengan struktur yang unik dan bervariasi. Metabolit sekunder yang berupa alkaloid, tanin, dan flavonoid mempunyai fungsi sebagai aktivitas biologis dan berfungsi sebagai pelindung bagi tumbuhan atau lingkungan terhadap serangan hama penyakit (Susetryani, 2009) Dari berbagai manfaat di atas dalam berbagai penelitian dilakukan uji senyawa yang terkandung di dalam daun beluntas. Berdasarkan skrining fitokimia yang telah dilakukan, golongan senyawa aktif yang teridentifikasi dalam daun beluntas antara lain fenol hidrokuinon, tanin, alkaloid, steroid dan minyak atsiri (Ardiansyah *et al.*, 2002). Berdasarkan penelitian lain, tanaman beluntas juga mengandung *benzyl asetat, benzyl alcohol*, serta eugenol (Ningtyas, 2012).

2.4.4.1 Alkaloid

Menurut Juliantina (2008), senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan

menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, menurut Gunawan (2009), menyatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang menggandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Rinawati, 2011).

2.4.4.2. Fenol

Menurut Singh (2005), senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel. Menurut Susanti (2008), fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis (Rinawati, 2011).

2.4.4.3. Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik yang mempunyai ciri adanya cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidrosil kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000 (Hermawan,2003). Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas

dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, tanin terkondensasi dan tanin yang dapat dihidrolisis. Yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi (Pambayun,2007).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut: toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa *astrigent* tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama,2001).

Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein sebagaimana kerja fenol (Juliantina, 2007).

2.4.4.4. Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah campuran alamiah lipofilik yang komponennya terdiri atas turunan isoprena (Stahl, 1985). Membran sel merupakan membran yang terbentuk dari protein yang tertanam dan menyatu dengan suatu lapisan rangkap (bilayer) molekul-molekul fosfogliserida dengan ujung hidrofobiknya yang menghadap ke dalam dan ujung hidrofiliknya menghadap ke luar. Fungsi protein-protein adalah untuk memungkinkan masuknya air, ion-ion, dan senyawa-senyawa termasuk senyawa minyak atsiri. Senyawa minyak atsiri dengan konsentrasi yang tinggi akan berdifusi dan ditangkap oleh sensor

hidrofilik. Komponen yang hidrofilik akan mengikat molekul-molekul minyak yang akan menyebabkan kerusakan membran lipoprotein sel (Hidayati dkk., 2002). Apabila membran sel yang merupakan pelindung bagi sel rusak, maka akan menyebabkan matinya sel mikrobia (Kusumaningrum dkk., 2003) (Fitri, 2007).

2.5 Peran Tanaman Beluntas Sebagai Antibakteri

Indonesia memiliki berbagai tanaman yang benyak subagai antibakteri salah satunya daun beluntas. Daun beluntas telah diteliti mengenai efek antibakterinya, misalnya ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa Multi Resistant* dan *Meticillin Resistant Stapylococcus aureus* (Rr.Sulistiyaningsih, 2009).

Pada penelitian fraksi senyawa aktif ekstrak etanol daun beluntas (*Pluhea indica Less*) kandungan senyawa aktif yang cukup tinggi adalah flavonoid sebanyak 4.158% dan tanin sebanyak 2.351% sedangkan alkaloid sebanyak 0.316% (Susetyarini, 2009).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dalam pelarut tertentu (Depkes RI, 2000). Pemilihan metode ekstraksi harus mempertimbangkan berbagai keadaan, di antaranya sifat jaringan tanaman, sifat kandungan zat aktif serta kelarutan zat yang akan diekstraksi. Berdasarkan fase yang diekstraksi, ekstraksi digolongankan ke dalam dua bagian besar yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat (Rr.Sulistiyaningsih, 2009).

Metoda pembuatan ekstrak menurut Ditjen POM (2000) ada 2, yaitu dengan cara panas dan dingin.

Ekstraksi cara dingin

Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Ditjen POM, 2000).

Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*ekhaustive extraction*) yang pada umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penetesan / penampungan ekstrak) (Depkes, 2000).

Ekstraksi cara panas

Soxhletasi

Metode ekstraksi soxhlet adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan

uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Ditjen POM, 2000).

Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Ditjen POM, 2000).

Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengaduk kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Ditjen POM, 2000).

Infusum

Infusum adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit (Ditjen POM, 2000).

