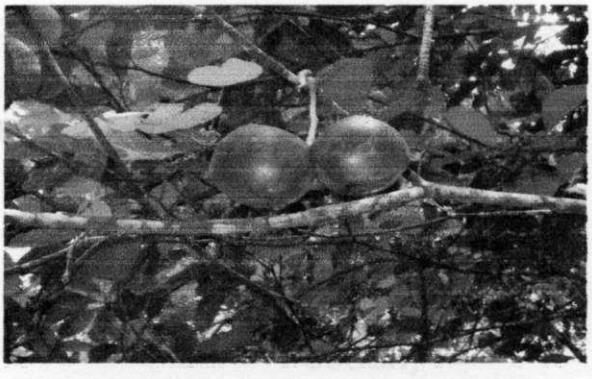
BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Botani *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl

Masyarakat Kabupaten Kuantan Singingi Provinsi Riau mengenal tumbuhan *Tabernaemontana* ini dengan sebutan mentimun gagak. Tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat setempat sebagai obat antimalaria, keseleo, kudis dan bisul (Eryanti dkk., 2004). Menurut Tjitrosoepomo (1994), taksonomi tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Apocynales
Famili	: Apocynaceae
Genus	: *Tabernaemontana*
Spesies	: *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl



Gambar 1. Tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl

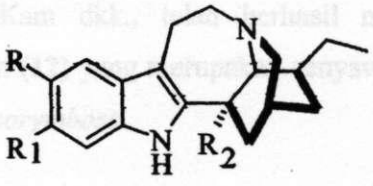
Tumbuhan *Tabernaemontana sphaerocarpa* memiliki tinggi 5-13 m. Batangnya tegak, bulat, permukaan batang kasar, berwarna putih kecoklatan. Daunnya tunggal berhadapan, berbentuk lonjong, ujung runcing, pangkal runcing, tepi rata, panjangnya 9-17 cm, lebarnya 7-13 cm, pertulangan menyirip, tebal, licin, dan berwarna hijau. Bunganya majemuk, berbentuk tandan, tumbuh di ketiak daun, kelopak bentuk cawan, ujung bunga memiliki panjang sekitar 0,5 cm, benang sari dan putik halus, dasar mahkota membentuk tabung, panjangnya

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

sekitar 1,5-2 cm, dan berwarna putih. Sedangkan buah berbentuk buni, lonjong dengan panjang sekitar 3-3,7 cm, masih muda berwarna hijau setelah tua warnanya kuning. Bijinya berbentuk bulat telur yang berwarna coklat dan memiliki akar tunggang yang berwarna putih (Van Steenis, 2003).

2.2 Senyawa Kimia Genus *Tabernaemontana*

Andrade dkk., pada tahun 2005 melakukan isolasi beberapa senyawa alkaloid indol dari tumbuhan *Tabernaemonta australis* yaitu koronaridin (1), voakangin (2), voakangin hidrosiindolenin (3), rupikolin (4), ibogamin (5), ibogain (6), ibogalin (7), desetil-voakangin (8) yang merupakan senyawa anti-inflamasi, anti malaria, anti HIV dan anti kanker.



(1) $R=R_1=H$, $R_2=COOCH_3$

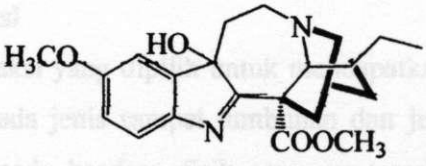
(2) $R=H$, $R_1=OCH_3$, $R_2=COOCH_3$

(5) $R=R_1=R_2=H$

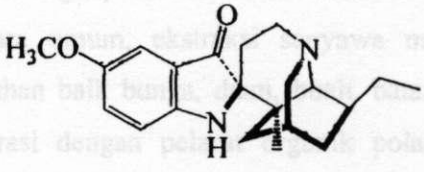
(6) $R=OCH_3$, $R_1=R_2=H$

(7) $R=R_1=OCH_3$, $R_2=H$

(8) $R=H$, $R_1=OCH_3$, $R_3=COOCH_3$



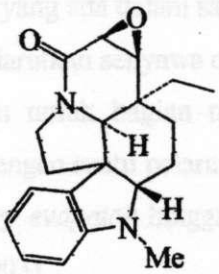
(3)



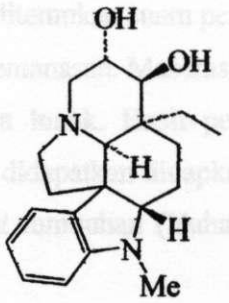
(4)

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Senyawa alkaloid indol dari tumbuhan *Tabernaemontana bovina* telah diisolasi oleh Lien dkk., pada tahun 1998 antara lain 3-oksomeranin (9) dan 14α,15β-dihidrosi-N-metillaspidospermin (10).

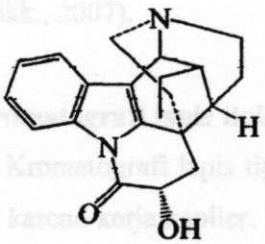


(9)

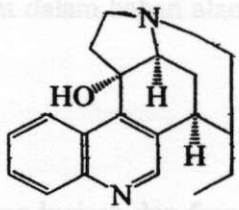


(10)

Pada tahun 2001 Kam dkk., telah berhasil mengisolasi senyawa tronoharin (11) dan voastriktin (12) yang merupakan senyawa alkaloid indol dari tumbuhan *Tabernaemontana corymbosa.*



(11)



(12)

2.3. Metoda Isolasi Senyawa Bahan Alam

2.3.1. Metoda ekstraksi

Metoda ekstraksi yang dipilih untuk mendapatkan senyawa bahan alam sangat tergantung kepada jenis sampel tumbuhan dan jenis senyawa yang ada. Terutama tergantung pada keadaan fisik senyawa tersebut, misalnya senyawa berupa cairan yang mudah menguap berbeda cara ekstraksinya dengan cairan yang tidak menguap. Secara umum, ekstraksi senyawa metabolit sekunder menggunakan bagian tumbuhan baik bunga, daun, buah, batang, kulit dan akar menggunakan sistem maserasi dengan pelarut organik polar seperti metanol (Yuharmen dan Dasni, 2003).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Ada beberapa teknik ekstraksi senyawa bahan alam yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, sokletasi. Maserasi merupakan salah satu teknik isolasi senyawa bahan alam, yang digunakan jika senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sampel, cukup banyak dan ditemukan suatu pelarut yang dapat melarutkan senyawa organik tanpa dilakukan pemanasan. Maserasi biasanya digunakan untuk bagian tumbuhan yang teksturnya lunak. Hasil perendaman sampel dengan suatu pelarut disaring dan filtrat yang didapatkan diuapkan dengan alat *rotary evapator* hingga diperoleh ekstrak kental tumbuhan (Yuharmen dan Dasni, 2003).

Cara lain yang digunakan adalah perkolasi, cara ini digunakan untuk bagian tumbuhan yang teksturnya keras seperti akar, batang dan biji dan apabila senyawa kimia yang akan diekstrak dalam persentase yang cukup sedikit. Sedangkan teknik sokletasi digunakan untuk sampel yang senyawa kimianya tahan panas. Prinsipnya yaitu menggunakan suatu pelarut yang mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa organik yang terdapat dalam bahan alam tersebut (Ajizah dkk., 2007).

2.3.2. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis fase diamnya berupa lapisan dan fase geraknya mengalir karena kerja kapiler. Pada kromatografi lapis tipis (KLT), fase padatnya berupa lapisan yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan kepada permukaan penyangga yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan melekat kepada permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya kalsium sulfonat atau amilum (pati). Pada KLT lapisan itu biasanya berfungsi sebagai permukaan padat yang menyerap, walaupun dapat pula dipakai sebagai penyangga zat cair.

Cara kerja dari KLT adalah sebagai berikut : sampel berupa campuran yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan pada garis batas bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler. Bila noda pada plat telah kering, selanjutnya plat dimasukkan ke dalam *chamber* berisi pelarut yang telah dipilih sebagai fase gerak, lalu *chamber* ditutup dan ditunggu sampai pelarut naik pada garis batas (Gritter dkk., 1991).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Jarak yang ditempuh oleh noda dapat dihitung dengan mengetahui lokasi noda pada plat. Untuk noda yang berwarna dapat dilihat secara visual, tetapi untuk noda tertentu dapat diamati dibawah lampu ultraviolet. Sedangkan untuk komponen yang tidak berwarna harus terlebih dahulu diubah menjadi berwarna dengan menggunakan pereaksi penampak noda. Persamaan visualisasi warna dibandingkan dengan standar yang dapat digunakan sebagai indikasi tambahan untuk mengidentifikasi suatu senyawa secara kualitatif.

Noda yang telah didapat ditandai dengan menggunakan pensil. Gunanya adalah untuk mencari harga Rf (*retardation factor* = faktor penghambat). Harga Rf dihitung dengan cara membandingkan jarak yang ditempuh noda dan jarak yang ditempuh eluen. Harga Rf berkisar antara 0 sampai 1.

2.3.3. Kromatografi kolom

Kromatografi kolom merupakan salah satu metoda kromatografi dengan fase gerak cair dan fase diam padat. Pengunaan fase gerak (eluen) disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dipisahkan. Kromatografi kolom digunakan untuk pemisahan skala preparatif, dari beberapa miligram sampai puluhan gram sampel.

Fase diam ditempatkan dalam tabung kaca berbentuk silinder, pada bagian bawah tertutup dengan katup atau kran dan fase gerak dibiarkan mengalir ke bawah melaluinya karena gaya berat. Pada kondisi yang dipilih dengan baik, eluen yang merupakan komponen campuran, turun berupa pita dengan laju yang berlainan dan dengan demikian dapat dipisahkan. Eluen biasanya dipisahkan dengan cara membiarkannya mengalir keluar dari kolom dan mengumpulkannya sebagai fraksi, seringkali dengan memakai pengumpul fraksi mekanis (Gritter dkk., 1991).

2.3.4. Kromatografi vakum cair

Kromatografi vakum cair atau *Vacum liquid chromatography* (VLC) disebut kromatografi kolom kering. Kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan adsorben lalu

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

divakumkan kembali. Kolom dihisap lagi sampai kering sebelum siap untuk digunakan. Cuplikan, dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan preadsorbsi dan dihisap berlahan-lahan ke dalam kemasan dengan mengvakumnnya. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Oleh karena itu kromatografi cair vakum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Gritter dkk., 1991).

2.4 Senyawa Antimikrobial

Pertumbuhan mikroorganisme dapat dikendalikan melalui proses kimia maupun fisika. Pengendalian dapat berupa pembasmian dan penghambatan populasi mikroorganisme. Menurut Pelczar dan Chan (2005), zat antimikrobial adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Zat antimikrobial, terdiri dari zat anti jamur dan zat antibakterial. Zat antibakteri adalah suatu senyawa, yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh suatu mikroorganisme yang merugikan manusia (Pelczar dan Chan., 2005).

Senyawa antimikroba telah banyak digunakan oleh masyarakat khususnya yang berkenaan dengan makanan dan obat-obatan. Untuk senyawa antimikroba obat lebih dikenal sebagai antibiotik. Oleh karena itu perlu dilakukan uji antibiotik dengan menggunakan metode uji bioaktifitas. Sebelum dilakukan uji aktivitas, ekstrak tumbuhan difraksinasi dan selanjutnya dilakukan isolasi dengan kromatografi kolom. Setiap fraksi dalam proses fraksinasi dengan pelarut maupun kromatografi harus diuji bioaktivitasnya dengan *assay* yang sesuai. Pemilihan sampel yang akan diuji aktivitasnya biasanya berdasarkan etnofarmasi, artinya bahan yang akan diuji merupakan bahan tumbuhan yang telah digunakan secara tradisional oleh masyrakat sebagai bahan obat (Yuharmen dan Dasni, 2003).

Mekanisme kerja antimikroba, dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok utama, yaitu:

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

1. Menghambat sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang rigid, yaitu dinding sel. Dinding sel, berisi peptidoglikan yang secara alami berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang panjang. Dinding sel, berfungsi mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri. Trauma pada dinding sel atau penghambatan dalam pembentukannya dapat menyebabkan lisis pada sel. Salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis dinding sel adalah Penisillin (Tortora, 2001).

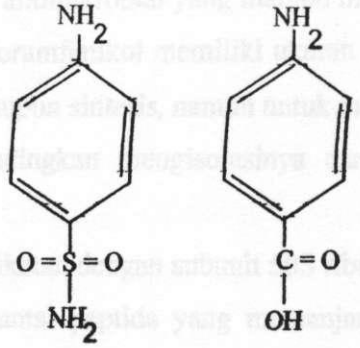
Penisillin dapat diproduksi secara alami atau sintesis. Penisillin alami berasal dari kultur jamur *Penisilltum*. Penisillin memiliki struktur dengan sebuah cincin : β-laktam yang dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri. Langkah awal adalah β-laktam melekat pada satu atau beberapa reseptor, kemudian reaksi transpeptidasi dihambat dan sintesis peptidoglikan dihentikan (Geo dkk., 2005). Penisillin alami memiliki beberapa kekurangan, beberapa diantaranya berspektrum sempit dan sangat rentan terhadap *penisillinase*. *Penisillinase* merupakan enzim yang diproduksi oleh bakteri khususnya genus *Staphylococcus* yang dapat memotong cincin β-laktam dari molekul penisillin (Tortora, 2001).

2. Menghambat sintesis metabolit essential

Aktivitas enzimatik dari mikroorganisme dapat dihambat oleh substansi antimetabolit yang menyerupai substrat. Salah satu contoh adalah antimetabolit sulfanilamida yang strukturnya menyerupai para-amino benzoic acid (PABA). Banyak mikroorganisme yang menggunakan PABA sebagai substrat dalam reaksi enzimatik untuk mensintesis asam folat.

Asam folat berfungsi sebagai koenzim pada sintesis basa purin dan pirimidin dari asam nukleat dan asam amino. Sulfanilamida bekerja sebagai inhibitor yang menghambat enzim mengikat substrat. Kombinasi ini dapat mencegah sintesis asam folat dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Tortora, 2001).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/



Gambar 2. Sulfonamida dan asam-p-aminobenzoat

3. Menghambat sintesis asam nukleat

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Sejumlah antibiotik, memiliki kemampuan untuk menghambat proses replikasi dan transkripsi DNA mikroorganisme, diantaranya *Rifampisin* dan *Quinolones* (Tortora, 2001).

Salah satu derivatif dari antibiotik rifampisin adalah rifampin. Rifampin sering digunakan untuk melawan *Mycobacteria* dalam pengobatan penyakit TBC dan *Leprocy*. Rifampin mampu menembus jaringan dan memberi efek pengobatan dalam cairan *serebrosfinal*, hal ini memungkinkan rifampin sebagai antitubercular karena patogen tubercolosis selalu berada didalam jaringan atau macrophage. Efek yang luar biasa dari rifampin adalah timbulnya warna oranye-merah pada urin, fesses, saliva, keringat dan air mata, sedangkan Quinolone mampu menghambat enzim DNA*gyrase* yang dibutuhkan untuk replikasi DNA (Tortora, 2001).

4. Menghambat Sintesis Protein

Bakteri memiliki 70S ribosom, sedangkan sel mamalia memiliki 80S ribosom. Tiap-tiap sub unit, memiliki tipe ribosom, komposisi kimia, dan spesifikasi fungsi yang berbeda, dan dapat digunakan untuk menerangkan mengapa antimikrobia dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Geo dkk., 2005).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Salah satu contoh antimikrobial yang mampu menghambat sintesis protein adalah kloramfenikol. Kloramfenikol memiliki ukuran molekul yang kecil, dapat diperoleh secara alami maupun sintesis, namun untuk mensintesisnya memerlukan biaya yang mahal dibandingkan mengisolasinya dari *Streptomyces* (Tortora, 2001).

Kloramfenikol berikatan dengan subunit 50S ribosom, menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim *peptidil transferase*. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan bakteri dapat tumbuh kembali jika pengaruh obat dihilangkan. Resistensi mikroorganisme terhadap kloramfenikol disebabkan oleh enzim *kloramfentkol asetil transferase* (Tortora, 2001).

Antibiotik lain yang mampu menghambat sintesis protein adalah aminoglikosida. Semua aminoglikosida bersifat bakterisida dan efektif terhadap organisme aerobik karena bakteri anaerob tidak memiliki sistem transpor yang membutuhkan oksigen. Salah satu anggota aminoglikosida adalah streptomisin yang biasa digunakan untuk mengobati penyakit tuberkolosis, plague, dan tularemia.

2.5 Mikroorganisme

Mikroorganisme mengacu kepada wujud jasad dari organisme yang sangat kecil. Secara taksonomi mikroorganisme termasuk dunia "protista", contohnya bakteri dan jamur. Mikroorganisme ini ada yang bersifat merugikan manusia seperti menyebabkan penyakit, membuat makanan tidak layak dikonsumsi, dan dapat menghancurkan bangunan. Selain bersifat merugikan, mikroorganisme ini juga bersifat menguntungkan manusia dalam bidang kesehatan karena menghasilkan bermacam-macam zat organik dan obat-obatan antibiotik (Irianto, 2006)

2.5.1 Bakteri

Bakteri termasuk golongan prokariotik dengan ukuran penampang maupun panjang yang bervariasi. Pada umumnya penampang bakteri sekitar 0,7-1,5 μm dan panjang sekitar 1-6 μm, dan tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Bentuk

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

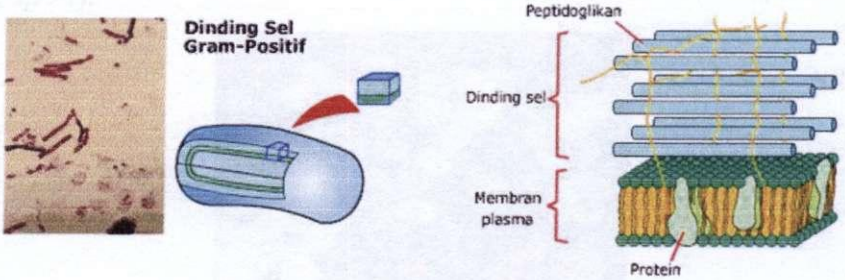
bakteri ada yang bulat (coccus), batang (bacil), bentuk koma (vibrio) dan spiral (sprillium). Meskipun bentuknya bermacam-macam, tetapi pada dasarnya struktur terdiri atas dinding sel, membran sitoplasma, sitoplasma serta nukleolid. Bakteri berkembang biak dengan pembelahan biner, dapat dihambat dengan antibiotik dan dapat bergerak secara aktif karena memiliki flagella (Irianto, 2006).

Dinding sel adalah struktur bakteri yang berfungsi mempertahankan bentuk bakteri, yang secara kimiawi terdiri atas peptidoglikan atau mukopeptida yang juga mengandung komponen-komponen kimia seperti protein, lipoprotein, dan lipopolisakarida. Perbedaan komposisi dan struktur dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif diyakini menjadi penyebab kedua kelompok bakteri memberikan respon terhadap berbagai perlakuan dan bahan seperti pewarnaan Gram dan antibiotik-antibiotik tertentu (Irianto, 2006).

Berdasarkan teknik pewarnaan, bakteri dikelompokkan menjadi dua, yaitu :

- Bakteri Gram positif

Bakteri ini memiliki dinding sel yang cukup tebal sekitar 20-80 nm, terdiri atas 60-100% peptidoglikan. Bakteri ini dapat menyerap zat warna utama (*kristal violet*) pada pewarnaan gram dan dapat menahan zat warna tersebut dengan kuat setelah proses pencucian, sehingga tidak dapat diwarnai lagi dengan zat warna berikutnya (*safranin*) (Purwoko, 2007).



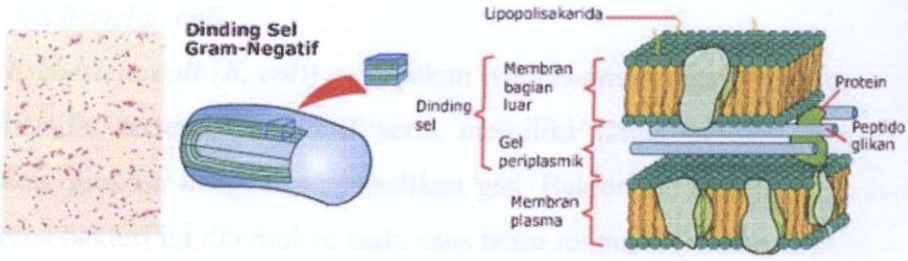
Gambar 3. Dinding Sel Bakteri Gram Positif
Sumber: www.e-dukasi.net/.../mp_255/materi02.html

- Bakteri Gram negatif

Bakteri ini memiliki dinding sel yang terdiri atas 10-20% peptidoglikan. Diluar lapisan ada struktur membran kedua yang tersusun dari protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Bakteri ini tidak dapat menyerap zat warna utama (kristal

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

violet) pada pewarnaan gram sehingga pada proses pencucian akan luntur dan mudah diwarnai lagi dengan zat warna berikutnya (safranin) (Purwoko, 2007).



Gambar 4. Dinding Sel Bakteri Gram Negatif
Sumber: www.e-dukasi.net/.../mp_255/materi02.html

Beberapa jenis bakteri yang sering digunakan sebagai penguji senyawa antimikroba adalah sebagai berikut :

- *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan bakteri gram positif, yang bersifat aerob fakultatif. Bakteri ini berbentuk bulat (*cocci*), bila diamati dibawah mikroskop tampak berpasangan, membentuk rantai pendek, atau membentuk kelompok yang tampak seperti tandan buah anggur. Bakteri ini menghasilkan toksin yang tahan terhadap pemanasan dan dapat menyebabkan penyakit. Meskipun bakteri ini mudah mati pada suhu 66°C, namun toksin yang dihasilkannya dapat bertahan hingga suhu 100°C selama 10 menit (Gamman & Sharrington, 1994).

Gambar 5. *Staphylococcus aureus*

www.textbookofbacteriology.net/*Staphylococcus_aureus*

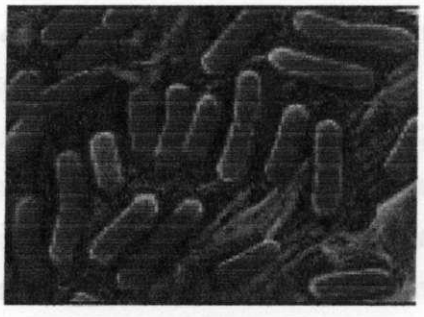
Manusia, dan hewan merupakan sumber utama infeksi *S. aureus*. Bakteri ini, menyebabkan mastitis pada sapi perah sehingga produksi susu menurun. Selain itu, bakteri ini juga menimbulkan penyakit yang berasal dari makanan (*food borne illnes*) antara lain daging dan produk daging; daging unggas

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

dan produk telur; ikan tuna, kentang, dan makaroni; produk roti seperti kue dengan isi krim, susu dan produk susu. Serta pada makanan yang tidak disimpan pada kisaran suhu 7,2°C-60°C (Ambarwati, 2007).

- *Escherichia coli*

Eschericia coli (*E. coli*) merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif serta memiliki flagel peritrik. Bakteri ini menguraikan glukosa dengan menghasilkan gas. Bakteri ini disebut juga bakteri kolon karena bakteri ini ditemukan pada usus besar manusia (Irianto, 2006).

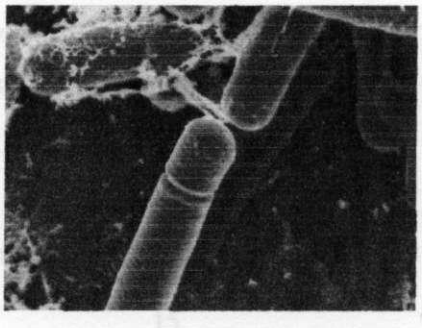


Gambar 6. *Escherichia coli*

www.astrographics.com

- *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis termasuk golongan bakteri gram-positif, aerob dan berbentuk basil panjang yang disebut sreptobasil. Temperatur minimum untuk hidup bakteri ini adalah dari -5 °C sampai dengan -45 °C sedangkan temperatur maksimum dari 25-27 °C. *Bacillus subtilis* banyak ditemukan dalam tanah, air dan berbagai jenis makanan. Sporanya ini berbentuk oval dan silinder serta lebarnya tidak melebihi dari sel induknya (Volk dkk., 1993)



Gambar 7. *Bacillus subtilis*

www.iccb.state.il.us

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

➢ *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang dapat bergerak, berbentuk batang, dengan ukuran diameter 2-3 mm, tumbuh baik pada suhu 37 - 42°C (Geo dkk., 2005).

Bakteri ini bersifat aerobik obligat yang dapat tumbuh cepat dalam berbagai tipe media, kadang menghasilkan aroma seperti anggur atau seperti jagung. Bakteri ini membentuk koloni bulat, halus, dengan warna flouresen kehijauan. Beberapa galur, menghasilkan pigmen biru, merah gelap, atau pigmen hitam. Bakteri yang berasal dari koloni berbeda mempunyai aktivitas biokimia, enzimatik dan kepekaan antimikroba yang berbeda pula (Geo dkk., 2005).

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri ini kadang-kadang mengkoloni pada manusia dan menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan inang abnormal (Lianatalia, 2009). Pada keadaan normal *P. aeruginosa* bersifat saprofit pada usus normal dan pada kulit manusia, namun dapat menjadi patogen apabila berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya pada selaput lendir, dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan (Geo dkk., 2005). *P. aeruginosa* menimbulkan berbagai penyakit diantaranya yaitu Infeksi pada luka dan luka bakar menimbulkan nanah hijau kebiruan serta infeksi saluran kemih (Lianatalia , 2009).

2.5.2 Jamur

Jamur tersebar secara meluas di alam baik yang bersifat saprofit maupun parasit bagi tumbuhan, hewan dan manusia. Jamur umumnya banyak tumbuh di daerah yang kurang baik untuk pertumbuhan bakteri. Lingkungan tersebut adalah pH rendah, kelembaban yang rendah, kadar gula dan garam yang tinggi, suhu penyimpanan yang rendah, radiasi pada makanan dan adanya antibiotik. Selain bersifat menguntungkan pada manusia, jamur juga bersifat patogen pada manusia, antara lain menyebabkan penyakit kulit, maupun penyebab keracunan pada makanan seperti aflatoksin yang disebabkab jamur *Aspergillus flavatus* (Deacon, 2006).

Jamur terdiri dari dua golongan besar yaitu ragi (khamir) dan jamur (kapang). Khamir dan kapang ini dapat menimbulkan masalah melalui:

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

1. Pembentukan metabolit yang toksik
2. Resisten terhadap panas, dingin, antibiotik dan penyinaran
3. Kesanggupan untuk mengubah substrat yang tadinya tidak cocok menjadi dapat untuk pertumbuhan bakteri patogen
4. Khamir dan kapang dapat menyebabkan hilangnya bau, rasa, dan warna pada permukaan makanan.

Terdapat beberapa jamur yang sering digunakan sebagai penguji senyawa antimikrobial adalah sebagai berikut :

1. *Penicillium sp.*

Ciri umum jamur ini adanya lubang konidiospora untuk membentuk kepala konidial yang menyerupai sikat. Mikroorganisme ini banyak tersebar di alam dan banyak ditemukan dalam makanan. Konidia ini bisa berwarna putih, hijau, abu-abu atau hijau kekuning-kuningan. *Penicillium roqueforti* dan *Penicillium camemberti* memberikan cita rasa yang khas untuk keju rokeforti dan kamemberti. *Penicillium notatum* dan *Penicillium chrysogenum* adalah pembuat antibiotik dari penisillin (Schlegel dan Schmidt, 1994).

2. *Candida albicans*

Candida albican memiliki bentuk sel bermacam-macam, menghasilkan banyak pseudomiselium serta dapat membentuk miselium sejati dan klamidospra. *Candida* merupakan jamur diploid dan merupakan agen penyebab infeksi vagina pada manusia. Sistem infeksi jamur ini merupakan penyebab penting timbulnya morbiditas dan mortalitas pada pasien yang mempunyai masalah dengan kekebalan tubuh (seperti AIDS, kemoterapi kanker, transplantasi tulang sum-sum atau organ).

Candida hidup sebagai saprofit pada lendir mulut manusia dan sistem usus. Dalam keadaan normal, *candida* hidup pada 80 persen populasi manusia tanpa menimbulkan efek yang membahayakan, meskipun pertumbuhan yang berlebihan dari jamur ini dapat menimbulkan *Candidiasis* (infeksi saluran lendir mulut, usus dan vagina). *C. albicans* dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat tumbuh dalam pembenihan pada suhu 28°C - 37°C. Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada *C. albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO_2 dan Dinding sel *C. albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda.

Membran sel *C. albicans* seperti sel eukariotik lainnya terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktifitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukan sintase, ATPase dan protein yang mentransport fosfat. Terdapatnya membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antimikotik dan kemungkinan merupakan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding selH_2O dalam suasana aerob (Larone, 2002).

3. Rhizopus oryzae

Ciri organisme ini adalah adanya *micelia coenoctic* dan stolon yang menyebar, reproduksinya aseksual serta bersifat sebagai organisme pembusuk pada makanan. Dengan memfermentasikan gula, *Rhizopus* dapat menghasilkan asam fumarat dalam konsentrasi tinggi. Keuntungan dari jamur ini adalah banyak digunakan dalam produksi makanan yang memerlukan fermentasi, seperti tempe. Sedangkan kerugian yang ditimbulkan adalah dapat membusukkan makanan dan menyebabkan warna hitam pada makanan.

4. Microsporum gypseum

Microsporum gypseum merupakan penyebab penyakit kulit, pemakan zat tanduk atau keratin, serta merusak kuku dan rambut. Jamur *Microsporum gypseum* dapat ditularkan secara langsung. *Microsporum gypseum* menyerang kulit tubuh dan sering dialami oleh anak-anak. Infeksi kulit yang disebabkan terlihat membengkak seperti sarang lebah. *Microsporum gypseum* biasanya ditularkan dengan gejala bercak-bercak meradang yang tidak berambut yang lama kelamaan dapat menjadi alopesia atau kebotakan permanen (Wicaksana, 2008).

2.6 Metode Uji Antimikroba

Pemakaian antimikroba yang berlebihan menyebabkan bakteri yang semula sensitif terhadap antibiotik menjadi resisten. Oleh kareana itu, senyawa

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

antimikroba baru diperlukan untuk mengatasi bakteri resisten tersebut. Disamping itu, juga perlu pengembangan antiseptik dan disinfektan yang baru, yang lebih aman bagi kulit dan jaringan tubuh manusia. Umumnya antibiotik yang ada sekarang adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme sedangakan antibiotik dari tumbuhan tingkat tinggi masih dalam pencarian (Ardiansyah, 2007)

Uji aktivitas antimikroba dari suatu ekstrak dapat dilakukan dengan tiga metoda yaitu (Lenny, 2006) :

1. Metoda difusi agar (*Kirby Bauer Test*)

   Metoda difusi agar merupakan metoda yang paling umum dilakukan untuk uji antibakteri. Dengan metoda difusi ini ekstrak uji yang diserap dengan kertas saring dimasukkan ke dalam silinder atau ke dalam lubang, di kontakkkan dengan media yang telah di inokulasi. Kemudain setelah diinkubasi diameter zona bening (*clear zone*) diukur (Waluyo, 2004). Diameter zona bening ini merupakan daerah inhibisi dari ekstrak sampel terhadap mikroba uji . Sistem dibiarkan pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum dinokulasi yaitu untuk memberikan kesempataqn kepada antibiotik untuk berdifusi sebelum mikroba tumbuh.

2. Metoda pengenceran

   Pada metoda ini sampel yang akan diuji di campur dengan medium yang cocok dan telah diinokulasi sebelumnya dengan mikroba uji. Setelah di inkubasi, pertumbuhan mikroba dapat ditentukan secara visual atau dengan perbandingan turbudimetri di kultur uji dan yang di kultur kontrol. Kultur kontrol adalah kultur yang tidak diberi sampel yang akan diuji aktivitasnya, sedangkan kultur uji adalah kultur yang telah dicampurkan dengan sampel uji.

3. Metoda bioautografi

   Metoda ini digunakan untuk menentukan tempat atau posisi suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba pada kromatogram. Caranya adalah dengan memindahkan senyawa uji dari kromatogram lapis tipis atau kertas ke medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

kemudian diinkubasi. Bercak yang menghasilkan zona bening berarti senyawa aktif terhadap mikroba uji.

2.7 Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Toksisita merupakan kemampuan suatu zat yang memiliki sifat dekstruktif pada sel, terutama menyangkut proses suatu sel dalam sistem kekebalan tubuh atau obat-obatan yang bersifat antineoplastik yang secara selektif dapat membunuh sel. Toksisitas merupakan sifat suatu senyawa yang mengganggu pertumbuhan sel, baik sel normal maupun sel kanker. Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari suatu campuran zat kimia pada hewan coba sebagai uji pra skrining senyawa bioaktif antikanker (Sajuthi, 2000). Uji toksisitas akut dipergunakan untuk mengetahui pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari campuran zat kimia pada hewan coba sebagai evaluasi terhadap keamanan zat-zat kimia

Uji toksisitas mempunyai korelasi dengan aktivitas obat antikanker. Apabila LC_{50} suatu ekstrak tanaman lebih kecil dari 1000 ppm terhadap kematian organisme uji maka ekstrak tersebut bersifat toksik Sedangkan untuk senyawa murni dianggap bersifat toksisitas jika harga LC_{50} lebih kecil dari 10 ppm (Zetra dkk., 2007). Sitotoksik dapat diartikan sebagai suatu zat yang mempunyai pengaruh pengrusakan yang spesifik pada sel-sel tertentu atau mempunyai pengaruh seperti penggunaan pada proses lisis sel-sel dan untuk obat anti neoplasmatik yang selektif membunuh sel. Dari pengertian ini sitotoksik memberikan hubungan dengan obat antikanker. Obat antikanker merupakan senyawa kemotropik yang digunakan untuk pengobatan tumor yang membahayakan kehidupan, yang sering pula disebut sebagai obat sitotoksik atau senyawa antineoplasma. Untuk mengukur tingkat toksisitas dapat digunakan istilah :

- LD_{50} (*Lethal Dose*) yaitu dosis yang dibutuhkan untuk membunuh 50% organisme uji
- ED_{50} (*Effective Dose*) yaitu dosis dimana 50% organisme uji memperlihatkan efek aktivitas nyata.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

- LC_{50} (*Lethal Concentration*) yaitu konsentrasi yang digunakan, dimana 50 % organisme uji mati selama waktu tertentu.

Salah satu metoda yang digunakan untuk menguji senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dari senyawa yang diisolasi adalah *Brine shrimp lethality test (BSLT)*, dimana tujuan dari penggunaan metode ini adalah sebagai uji pendahuluan yang dapat mendukung penemuan senyawa-senyawa antikanker dan pestisida.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/