

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Takokak (*Solanum torvum Sw.*)

Takokak memiliki nama ilmiah *Solanum torvum Sw.* atau *Solanum ferrugium Jc.*, yang termasuk kedalam famili Solanaceae dan genus *Solanum*. Tanaman ini, dikenal dengan nama daerah cepoka, cokowana, pokak atau terong pipit, rimbang (Kheine dkk, 1987). Takokak merupakan tanaman perdu yang keseluruhan bagian tanamannya dilapisi oleh bulu. Tumbuhan ini, tumbuh di tempat-tempat yang cukup mendapatkan sinar matahari, tidak terlalu lembab, dan tumbuh secara tersebar. Tumbuhan ini memiliki tinggi 2 m – 5 m, berduri tajam, tegak, dengan bunga berwarna putih, majemuk, berbentuk bintang, bertaju 5, dan kelopak berbulu. Daun meruncing, pangkal daun meruncing, panjang 27-30 cm, pertulangan menyirip. Tumbuhan ini berakar tunggang (Kheine, dkk 1987).

Buah takokak (*Solanum torvum Sw.*) biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai sayur baik dimasak ataupun sebagai lalapan. Selain itu, buah takokak juga digunakan sebagai obat darah tinggi, dan penambah nafsu makan. Tanaman ini juga dapat digunakan sebagai obat sakit lambung, sakit gigi, tidak datang haid, dan batuk kronis obat sakit pinggang kaku, bisul, koreng, darah tinggi, penambah nafsu makan, gatal-gatal, mata kering, buta malam, penghilang rasa sakit, anti radang, dan alat kontrasepsi (Mangoting dkk, 2008).

Menurut farmakologi Cina, tanaman takokak memiliki rasa yang pedas, sejuk dan agak beracun. Selanjutnya tanaman ini mampu melancarkan sirkulasi, menghilangkan darah beku dan analgesik. Efek farmakologi ini diperoleh dari penggunaan daun dan akar. Akar dicuci dan dipotong-potong secukupnya lalu dijemur untuk penyimpanan. Daun digunakan untuk pemakaian segar (Mangoting dkk, 2008).



Gambar 1. Buah *Solanum torvum* Swartz

Sumber : www.Plantamour.com

Klasifikasi tanaman takokak adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae (tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
Super Divisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio : Mangnoliophyta (berbunga)
Kelas : Mangnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub kelas : Asteridae
Ordo : Solanales
Familia : *Solanaceae* (terung-terungan)
Genus : *Solanum*
Spesies : *Solanum torvum* Swartz

Berdasarkan penelitian terdahulu, telah dilakukan telaah terhadap kandungan kimia dari ekstrak n-heksan buah takokak (*Solanum torvum* Sw.). Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa buah takokak mengandung senyawa flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid yang mempunyai gugus O-H, C=O, C=C alifatik, C-H alifatik dan tidak mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi (Elfahmi dkk., 2007).

Selain itu, Kandungan kimia tanaman ini yang kini sudah diketahui antara lain:

- 1) Buah mentah: Klorogenin, sisalogenon, torvogenin, vitamin A.
- 2) Buah kering: solasonin 0,1 %.
- 3) Daun: neo-klorogenin, panikolugenin.
- 4) Akar: jurubine.

Biasanya pada bagian buah, bunga, dan daun *Solanum torvum* mengandung saponin dan flavonoid, selain itu bunga dan daunnya juga mengandung alkaloid dan tanin (Elfahmi dkk., 2007).

2.2. Antioksidan

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting bagi kesehatan. Mengonsumsi antioksidan alami yang terdapat pada sayur-sayuran dan buah-buahan sangat menguntungkan bagi tubuh. Para ahli kimia mengidentifikasi bahwa mengonsumsi antioksidan alami dapat menurunkan resiko terkena penyakit kronis dan penyakit kanker (Boonprokob dkk, 2006).

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya sehingga elektron-elektron pada radikal bebas menjadi berpasangan dan stabil (Amrun dkk, 2007). Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Amrun dkk, 2007). Radikal bebas, dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid, atau DNA dan dapat menyebabkan penyakit kardiovaskuler (Aruna, 2001).

Antioksidan alami dari buah dan sayur dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu vitamin, fenol, dan karotenoid. Asam askorbat dan fenol merupakan antioksidan hidrofilik, sedangkan karotenoid merupakan antioksidan lipofilik (Boonprokob dkk, 2006). Antioksidan dapat menghentikan reaksi berantai radikal bebas dalam tubuh bergantung pada jenis antioksidannya.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu:

a). Antioksidan alami

Antioksidan alami adalah antioksidan yang dapat diperoleh dari hasil ekstrak bahan alami seperti buah-buahan dan sayuran. Beberapa antioksidan alami antara lain: polifenol dan turunannya, vitamin C, vitamin E, beta-karoten (Heo dkk, 2008) .

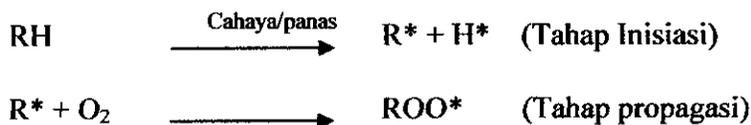
b). Antioksidan sintetik

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang dibuat dari reaksi bahan-bahan kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik seperti: Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil

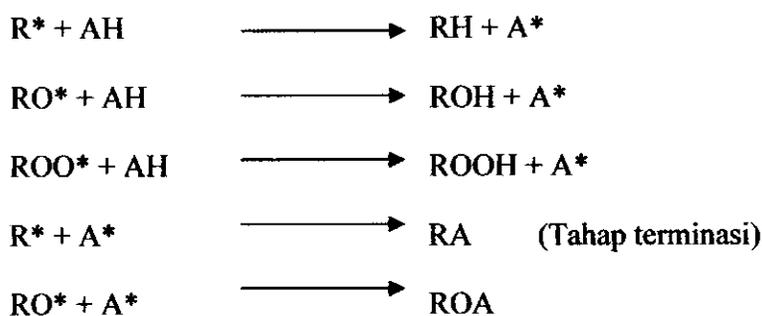
Hidroksi Toluen (BHT), Propil Galat (PG), Tetra Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dan *Nordihidro quairetic Acid* (NDGA) (Kumalaningsih, 2006).

Tahapan-tahapan reaksi oksidasi menurut Ketaren (1986) adalah sebagai berikut:

Pembentukan radikal bebas



Mekanisme kerja antioksidan



Keterangan:

- RH = Lemak/minyak tak jenuh
- AH = Antioksidan
- R* = Radikal bebas
- ROO* = Peroksida aktif

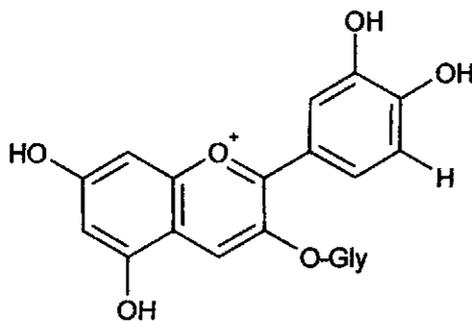
Peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehid dan keton. Peroksida dan radikal bebas dapat merusak lipid, protein dan DNA dengan membentuk kanker, arteoskleriosis, inflamasi dan penyakit degeneratif perkinson dan alzeimer (Hounsone dkk, 2008). Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Kombinasi beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik. Sebagai contoh asam askorbat seringkali dicampur dengan antioksidan yang merupakan senyawa fenolik untuk mencegah reaksi oksidasi lemak (Kumalaningsih,

2006). Aktivitas antioksidan, dapat diukur dengan metode *diphenylpicryl hydrazyl* (DPPH) dan dengan metode *ferric reducing ability of plasma* (FRAP).

2.3. Polifenol

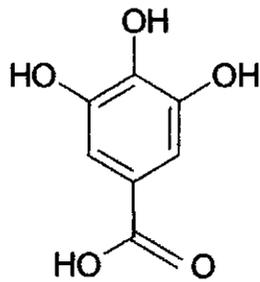
Senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan primer yang mudah larut dan terlepas dari jaringan buah-buahan dan sayuran pada proses yang terjadi di dalam air. Senyawa ini memiliki ikatan rangkap yang terkonyugasi dan gugus hidroksil yang kaya akan elektron sehingga dapat menetralkan pembentukan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya (Kalt, 2005). Kelompok-kelompok senyawa fenolik terdiri dari fenol sederhana fenolpropana, turunan asam benzoat, flavonoid, tanin, lignan dan lignin. Tanaman mempunyai potensi yang cukup baik sebagai penghasil senyawa fenolik (Chang dan Xu, 2007).

Polifenol memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan dikenal sebagai antioksidan tanaman yang sangat superior. Kandungan antioksidan seperti polifenol memiliki kekuatan 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E (Khomsan, 2004). Adapun struktur dari senyawa fenolik dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Stuktur fenolik

Analisis kadar fenolik (polifenol) diukur dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan asam galat sebagai standar (Sun dkk, 2007). Pengukuran fenol berdasarkan serapan cahaya dari spektrofotometer pada ikatan kompleks dari warna biru dongker pada panjang gelombang 750 nm.

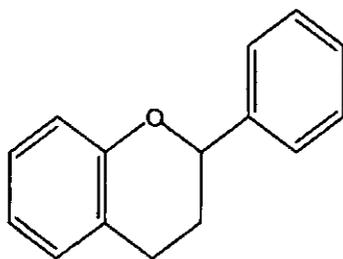


Gambar 3. Struktur Asam Galat

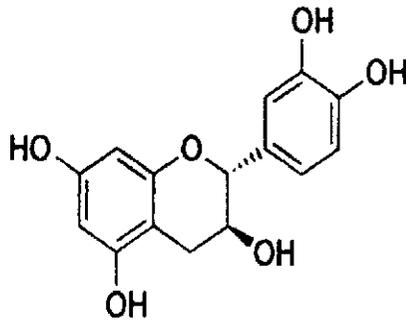
2.4. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak dijumpai pada tumbuh-tumbuhan. Yang termasuk kelompok flavonoid adalah flavon, flavonol dan sedikit tanin. Flavonoid terdapat dalam berbagai warna didalam jaringan tanaman, dan memiliki sifat insektisidal (Richard, 1995).

Secara epidemiologi mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung flavonoid dapat melindungi manusia dari penyakit yang berhubungan dengan kerusakan oksidasi yang disebabkan oleh pengaruh radikal bebas (Chang dan Xu, 2007). Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antialergi, antibakteri, dan antitumor. Efek farmakologi dari obat – obatan tradisional diperoleh dari flavonoid (Maria, 2003). Adapun struktur dari senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.

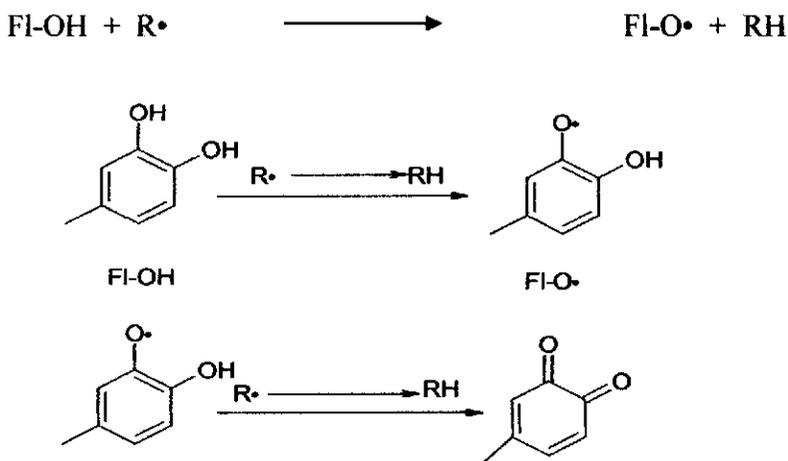


Gambar 4: Struktur dasar Flavonoid



Gambar 5. Struktur Katekin

Analisis kadar flavonoid diukur dengan metoda kolorimetrik (Xu & Chang, 2007) menggunakan katekin sebagai standar. Pengukuran flavonoid berdasarkan serapan cahaya dari spektrofotometer pada ikatan kompleks dari warna *orange* (merah jingga) pada panjang gelombang 510 nm. Flavonoid mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal sehingga menghasilkan radikal flavon. Pada radikal flavonoid terjadi peristiwa resonansi sehingga menghasilkan senyawa kuinon yang stabil. Adapun prinsip reaksi Flavonoid, adalah sebagai berikut:



Gambar 6 : Penghambatan radikal bebas oleh flavonoid

2.5. Tinjauan Umum Senyawa Antimikrobia

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

Beberapa hal yang perlu dipertimbangkan dalam memilih zat antimikrobia adalah:

1. Jenis zat dan mikroorganisme.

Zat antimikrobia yang digunakan harus sesuai dengan mikroorganisme yang digunakan karena memiliki kerentanan yang berbeda-beda.

3. Konsentrasi dan intensitas zat antimikrobia.

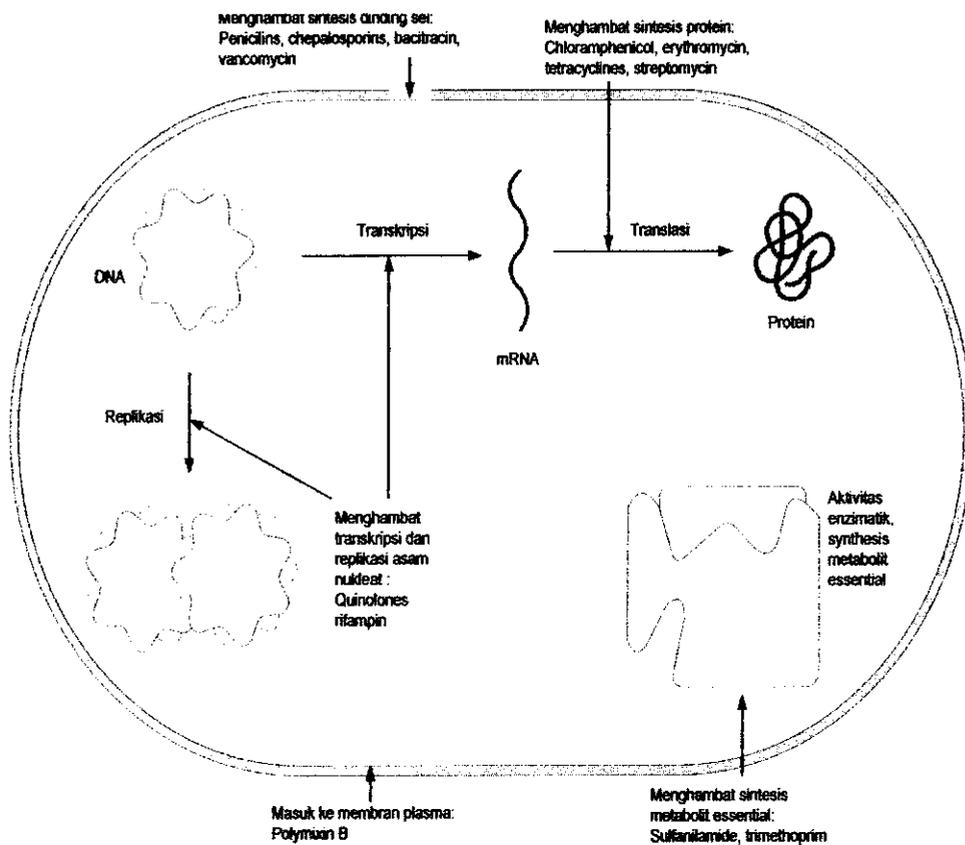
Semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobia yang digunakan, maka akan semakin tinggi pula kemampuannya dalam mengendalikan mikroorganisme.

4. Jumlah organisme.

Semakin banyak mikroorganisma yang dihambat atau dibunuh, maka semakin lama waktu yang diperlukan untuk mengendalikannya.

5. Suhu.

Suhu yang optimal, dapat meningkatkan efektivitas zat antimikrobia.



Gambar 7 : Mekanisme Kerja Antimikroba (Tortora dkk, 2001).

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

1. Menghambat sintesis 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).

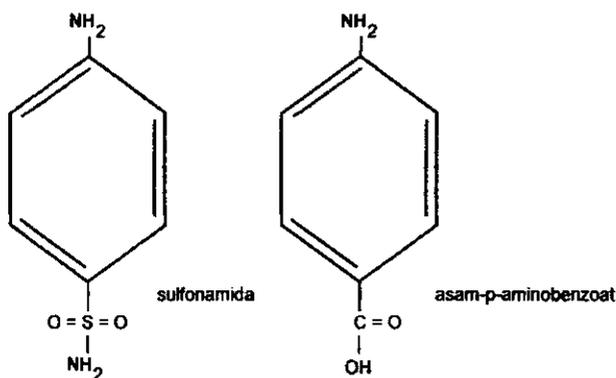
Penisillin dapat diproduksi secara alami atau sintesis. Penisillin alami berasal dari kultur jamur *Penisillium*. Penisillin memiliki struktur dengan sebuah cincin : β -lactam yang dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri. Langkah awal adalah β -lactam melekat pada satu atau beberapa reseptor, kemudian 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 -lactam 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).



Gambar : 8

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).

Rifampisin sering digunakan untuk melawan mycobacteria dalam pengobatan penyakit TBC dan *Leproy*. *Rifampisin* mampu menembus jaringan dan memberi efek pengobatan dalam cairan *serebrospinal*, hal ini memungkinkan *rifampin* sebagai antitubercular karena patogen tuberculosis selalu berada didalam jaringan atau macrophage. Efek yang luar biasa dari *rifampisin* adalah timbulnya warna oranye-merah pada urin, fesses, saliva, keringat dan air mata, sedangkan Quinolone mampu menghambat enzim DNAgyrase yang dibutuhkan untuk replikasi DNA (Tortora, 2001).

4. Menghambat Sintesis Protein

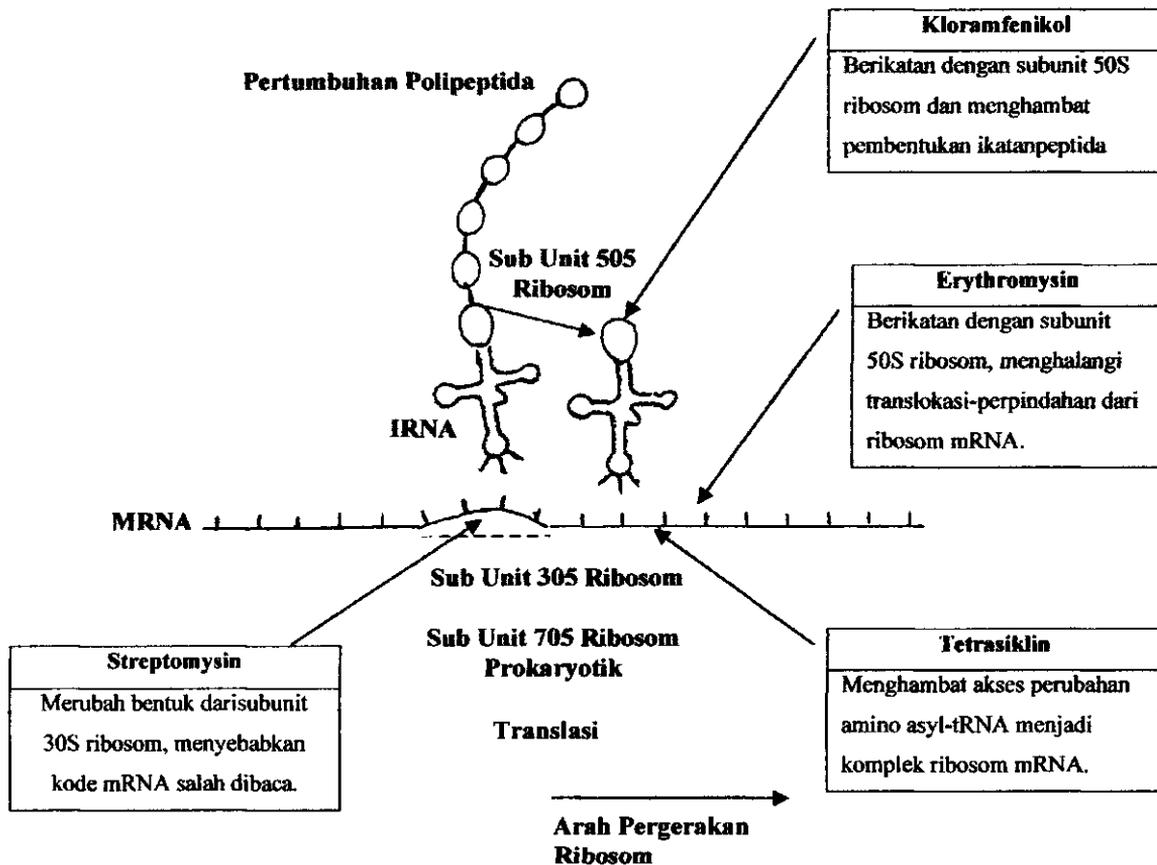
Bakteri memiliki 70S ribosom, sedangkan sel mamalia memiliki 80S ribosom. Tiap-tiap sub unit, memiliki tipe ribosom, komposisi kimia, dan spesifikasi fungsi yang berbeda, dan dapat digunakan untuk menerangkan mengapa antimikrobia dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh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

Salah satu contoh antimikrobia 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 *kloramfenikol 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 *streptomycin* yang biasa digunakan untuk mengobati penyakit tuberkulosis, plague dan tularemia.

Mekanisme kerja dari antibiotik ini dimana antibiotik yang melintasi membran sel kemudian terikat pada subunit ribosom 30S yang terpisah, bercampur dengan aparatus ribosomal fungsional atau menyebabkan subunit 30S ribosom yang lengkap salah membaca kode genetik. Polisom menjadi menurun karena *aminoglikosida* mengganggu proses penggabungan dan pemecahan polisom (Champe, P.C dkk., 2001).



Gambar 9: Penghambatan Syntesis Protein oleh Antibiotik

2.6. Bakteri Patogen

Bakteri patogen merupakan bakteri yang dapat menimbulkan penyakit. Ciri-ciri bakteri patogen yaitu menularkan penyakit pada sel inang, meracuni, serta mampu untuk menghindar dari sistem kekebalan tubuh sel inang (Geo dkk, 2005).

Banyak bakteri patogen mampu menyerang seluruh bagian tubuh inang meskipun bakteri tersebut hanya berkoloni di satu tempat saja. Hal itu dikarenakan bakteri

mengeluarkan toksin. Toksin dibedakan menjadi dua, yaitu eksotoksin dan endotoksin (Purwoko, 2007).

Eksotoksin merupakan protein yang diproduksi dan dikeluarkan oleh bakteri patogen sehingga toksin tersebut dapat terbawa ke peredaran darah sampai ke seluruh bagian tubuh inang. Endotoksin merupakan lipid dan termasuk dalam bagian lipopolisakarida. Endotoksin diproduksi oleh bakteri gram negatif. Ketika bakteri patogen hidup, efek endotoksin terhadap inang lemah, tetapi ketika mati dan lisis efek endotoksin menjadi kuat (Purwoko, 2007).

Bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan, termasuk manusia dan binatang dimana mereka secara normal bertempat tinggal dan hidup. Dalam bekerja, bakteri meningkatkan kemampuannya untuk bertahan dan meningkatkan kemungkinan penyebaran (Geodkk, 2005).

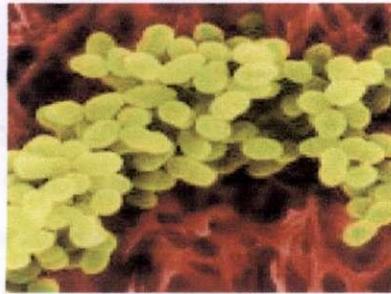
a. Bakteri gram positif

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).

Contoh dari bakteri patogen

- *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 dkk, 1994).



Gambar 10 : *Staphylococcus aureus*

Sumber : www.conectique.com

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (Capuccino 1998) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

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 illness*) antara lain daging dan produk daging; daging unggas dan produk telur; ikan tuna, kentang, dan makaroni; produk roti seperti kue dengan isi krim, dan *chocolate éclairs*; roti isi, susu dan produk susu. Serta pada makanan yang tidak disimpan pada suhu lebih dari 60°C atau kurang dari 7.2°C (Ambarwati, 2007).

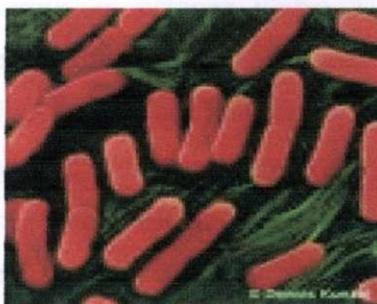
Gejala yang ditimbulkan akibat keracunan *S. aureus* antara lain pusing, sakit perut, diare. Dalam kasus-kasus yang lebih parah, dapat terjadi kram otot, dan perubahan yang nyata pada tekanan darah serta denyut nadi. (Gamman dkk, 1994).

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

- *Eschericia 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). Bentuk morfologi dari *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 11 : *Escherichia coli*

Sumber : www.propanraya.com

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Bergey (1998) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bakteria
Divisio	: Proteobacteria
Class	: Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli termasuk kedalam kelompok enterobacteriaceae yang dapat menyebabkan penyakit, diantaranya infeksi sistem saluran kencing, dan penyebab diare (Geo dkk., 2005).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (*P.aeruginosa*) merupakan bakteri gram negatif yang dapat bergerak, berbentuk batang, ukurannya 0,6 x 2 m, tumbuh baik pada suhu 37 - 42°C (Geo dkk, 2005).

Bakteri ini bersifat aerobik obligat yang dapat tumbuh cepat dalam berbagai tipe media, kadang memproduksi bau manis 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).

P. 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). Bentuk morfologi dari *P. aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 11.



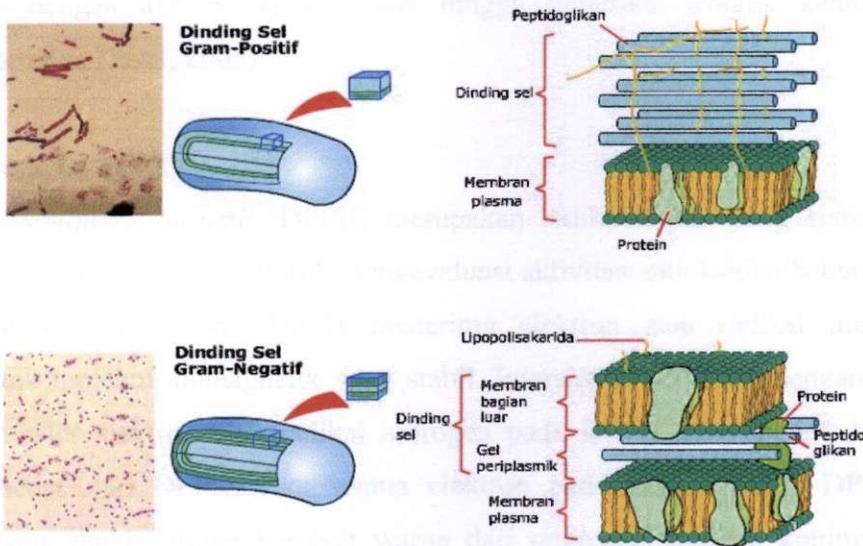
Gambar 12 : *Pseudomonas aeruginosa*

Sumber : www.randstarteam.com

Klasifikasi dari *Pseudomonas aeruginosa* menurut Bergeys (1998) adalah sebagai berikut:

- Divisi : Protophyta
- Class : Schizomcetes
- Ordo : Pseudomonadales
- Sub Ordo : Pseudomonadaneae
- Family : Pseudomonadaceae
- Species : *Pseudomonas aeruginosa*
- Genus : *Pseudomonas*

P. aeruginosa menimbulkan berbagai penyakit diantaranya yaitu Infeksi pada luka dan luka bakar menimbulkan nanah hijau kebiruan, infeksi saluran kemih, infeksi pada saluran napas mengakibatkan pneumonia yang disertai nekrosis, otitis eksterna ringan pada perenang dan infeksi mata (Lianatalia , 2009).



Gambar 13 : Perbedaan dinding sel bakteri gram – dengan gram +

Sumber : jazzroc.wordpress.com

2.7. Isolasi Senyawa Bahan Alam

Teknik isolasi yang digunakan untuk mendapatkan senyawa bahan alam, sangat tergantung kepada jenis sampel tumbuhan dan jenis senyawa yang ada, terutama tergantung pada keadaan fisik senyawa tersebut (Yuharmen dan Dasni, 2003).

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 (Darwis, 2000). Pada penelitian ini teknik isolasi yang digunakan adalah maserasi menggunakan pelarut metanol untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder fenolik, flavonoid yang diinginkan.

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 evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental tumbuhan (Yuharmen dan Dasni, 2003).

2.8. Metode DPPH

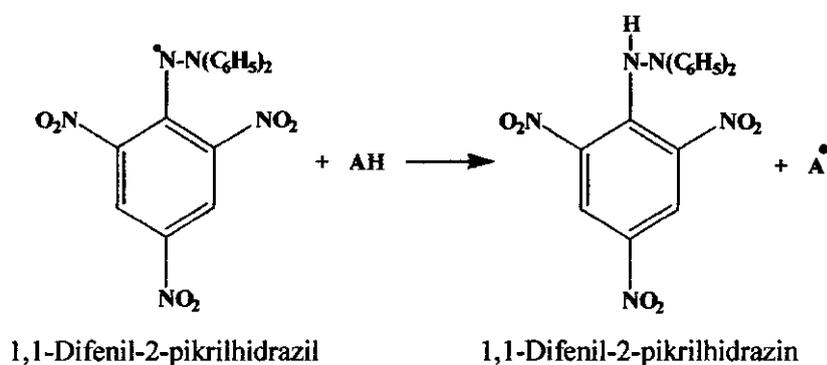
Difenilpicril hidrazil (DPPH) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka larutan berubah warna dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517nm akan hilang (Suratmo, 2009).

Ada 3 langkah reaksi DPPH dengan zat antioksidan. Langkah pertama meliputi delokalisasi suatu elektron pada gugus tersubstitusi para dari senyawa tersebut kemudian memberikan atom hidrogen untuk mereduksi DPPH. Langkah berikutnya meliputi dimerisasi antara dua radikal fenoksil yang akan mentransfer radikal hidrogen yang akan bereaksi kembali dengan radikal DPPH. Langkah terakhir adalah pembentukan kompleks

antara radikal aril dengan radikal DPPH. Berdasarkan mekanisme tersebut, dapat dikatakan bahwa senyawa antioksidan memiliki sifat yang relatif stabil dalam bentuk radikalnya (Suratmo, 2009).

Aktivitas radikal bebas DPPH dari reaksi dapat diserap pada sinar tampak dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 – 517 nm (Vichitphan dkk, 2007).

Adapun metoda reaksi DPPH adalah sebagai berikut:



Gambar 14 : Metoda reaksi DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metoda DPPH digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menangkap radikal bebas (Suratmo, 2009).

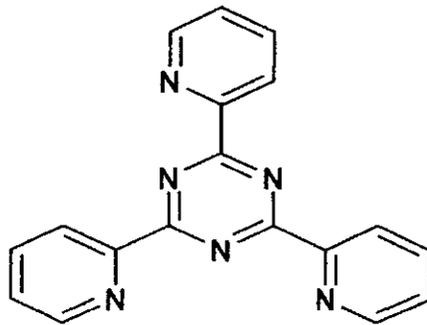
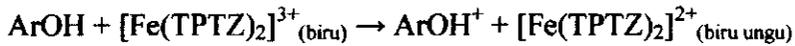
2.9. Metode FRAP

Metode (FRAP) merupakan metode untuk menentukan kemampuan antioksidan dalam mereduksi radikal bebas. Uji FRAP dikendalikan oleh kompleks *Ferri tripyridyltriazine* (Fe(III)-TPTZ) yang berubah menjadi *Ferro tripyridyltriazine* (Fe(II)-TPTZ) oleh suatu senyawa pereduksi pada pH rendah.

Uji *Ferryc Reducing Antioxidant Power* (FRAP) menggunakan FeSO₄·7H₂O sebagai standar. Larutan (Fe(II)-TPTZ) berwarna biru kuat, dan dapat diukur pada panjang gelombang 593 nm. Pada uji ini terjadi perubahan warna biru dari reagen FRAP menjadi biru ungu (Vichitphan dkk, 2007). Metode FRAP sangat sensitif dalam

pengukuran kemampuan antioksidan yang berasal dari sampel tumbuhan segar (Szollosi, 2002).

Pengujian antioksidan FRAP ini tidak rumit dan dapat memberikan hasil yang cukup akurat dan cepat (Benzie,1996). Prinsip reaksi metoda FRAP adalah sebagai berikut:



Gambar 15: Struktur Tripydyl triazine (TPTZ)

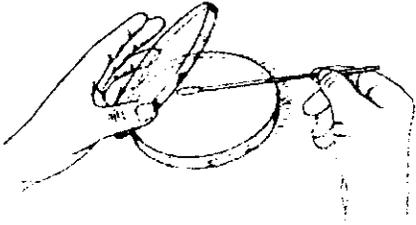
Kedua metode DPPH maupun FRAP merupakan metoda yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan pada suatu sampel. Namun, kedua metoda ini memiliki perbedaan, dimana metode DPPH digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi dengan menangkap radikal bebas, sedangkan dengan menggunakan metoda FRAP kita dapat mengetahui kemampuan antioksidan dalam mereduksi radikal bebas.

2.10. Uji Antibakteri

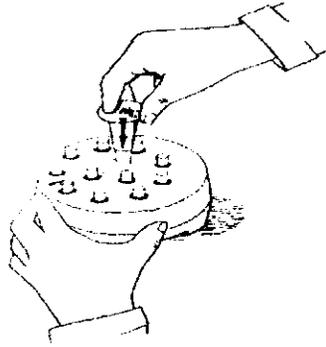
Pengujian antimikroba, dapat dilakukan dengan beberapa metoda, antara lain Metoda Difusi Agar, Metoda Pengenceran, dan Metoda Bioautografi. Dalam penelitian ini, akan dilakukan pengujian antibakteri menggunakan Metoda Difusi Agar (*Kirby Bauer Method*).

- Metode Difusi Agar (*Kirby Bauer Method*)

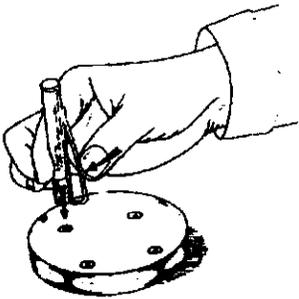
Pada metode difusi ekstrak tumbuhan dikontakkan dengan media pertumbuhan (misalnya agar). Ekstrak uji dengan konsentrasi berbeda yang diserap dengan kertas cakram dimasukkan ke dalam silinder atau ke dalam lubang, dikontakkan dengan media yang telah diinokulasi. Kemudian setelah diinkubasi, diameter daerah bening (*clear zone*) diukur. Diameter daerah bening ini merupakan daerah inhibisi dari ekstrak sampel terhadap mikroba uji. Sistem dibiarkan pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum diinokulasi, yaitu untuk memberikan kesempatan kepada antibiotik untuk berdifusi sebelum mikroba tumbuh (Tortora, 2001).



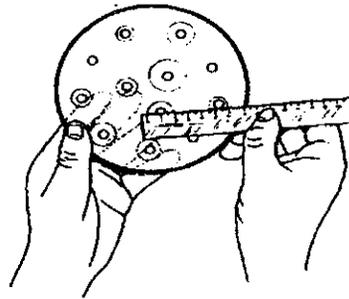
1. Mikroorganisme yang akan di test, digoreskan pada permukaan cawan yang berisi nutrient agar.



2. Tangkai dispenser, ditekan pada 12 cakram yang terdapat pada medium. Selain untuk mengeluarkan cakram, dispenser ini juga berfungsi memadatkan cakram.



3. Difco berfungsi untuk membuang cakram satu persatu. Hanya 4 atau 5 cakram yang ditempatkan pada piringan kecil 100 mm.



4. Setelah diinkubasi selama 18 jam, zona inhibisi dihitug dalam mm.

Gambar 16 : Metode Difusi