BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Tumbuhan Annonaceae

Tumbuhan famili Annonaceae ditemukan dibenua Asia, Afrika, Amerika dan benua Australia dengan topologi berupa pohon dengan tinggi 20 m.. Menurut Singh (2004), klasifikasi Annonaceae adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheobionta
Sub Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Magnolilidae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae

Annonaceae adalah salah satu dari famili tanaman yang jumlahnya sangat besar yang tersebar terutama di daerah subtropis dan tropis baik di benua Asia, Afrika, Amerika maupun di benua Australia. Annonaceae ini terdiri dari 128 genus dan lebih kurang 2300 spesies (Kessler, 1993). Dari studi kimia dan farmasi yang dilakukan secara intensif pada dekade terakhir ini mengandung senyawa-senyawa alkaloid dan non alkaloid yang secara farmakologis digunakan sebagai anti tumor, anti Parkinson, anti bakteri dan lain sebagainya (Leboeuf *et al*., 1982).

Penyebaran utama famili Annonaceae adalah di Asia tenggara. Diketahui bahwa 61 spesies yang berasal dari 27 genera terdapat di pulau Jawa (Backer and Van Den Brink, 1963), sementara 201 spesies dari 37 genera terdapat di Semenanjung Malaysia (Mat-salleh and Latiff, 2004). Beberapa jenis tumbuhan menghasilkan buah yang dapat dimakan, ornamen, obat-obatan dan wangi-wangian.

Dari segi fitokimianya, pada tahun 2006 teruna telah berhasil mengisolasi 47 metabolit sekunder dari 7 spesies tumbuhan famili Annonaceae yaitu *Goniothalamus ridleyi, Orophea hexandra, Polyalthia cauliflora, Polyalthia Jenkinsii, Polyalthia Motleyana, Polyalthia Rumphii and Pseudavaria Reticulata.* Senyawa kimia metabolit sekunder ini termasuk golongan asetogenin, alkaloid,

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

flavonoid, terpenoid, fitosterol dan xanthone. Senyawa kimia yang dihasilkan oleh masing-masing tumbuhan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Senyawa kimia yang terkandung dalam berbagai tumbuhan famili Annonaceae

No	Jenis Tumbuhan	Golongan Senyawa	Jenis Senyawa Kimia
1	*Polyalthia cauliflora*	Diterpen	Liriodenin Metil-18-karboksi-8(17),13*E*-labdadien-15-oat 8(17),14*E*-labdadien-13-ol Asam 8(17),13*E*-labdadien-15-oit Asam 8(17),13*E*-labdadien-15,18-dioit
2	*Polyalthia jenkinsii*	Alkaloid	Sebiferin Asimilobin 10-hidroksiliriodenin Liriodenin Lisikamin Aterospermidin
		Sesquiterpen	Oksipillenodiol A Oksipillenodiol C Sesquikamaenol
3	*Polyalthia rumphii*	Sesquiterpen	1,3,5-bisabolatrien-2,10,11-triol 2-bisabolen-4,5,11-triol
		-	*trans*-feruloyltyramin *cis*-feruloyltyramin *trans*-sinnamoiltriamin
4	*Pseuduvaria reticulata*	Alkaloid	Palladin Sebiferin
			O-metilflavinin Liriodenin Lisikamin
		Sesquiterpen	Sesquikamaenol
		Diterpen	2-oksokolavenik

Meskipun data spesies dari famili Annonaceae yang terdapat di Sumatra tidak tercatat dengan pasti tapi dari berbagai penelitian dan laporan menunjukkan bahwa jumlah spesiesnya cukup banyak . Dari survei intensif yang dilakukan oleh kelompok Kimia Organik Bahan Alam, jurusan kimia FMIPA, Universitas Riau sejak tahun 1993 sampai dengan sekarang ini telah tercatat 31 spesies dari famili Annonaceae yang berasal dari 16 genera, yaitu *Artabotrys. Cyathocalyx, Drepananthus, Fissistigma, Goniothalamus, Melodorum, Neouvaria, Orophea,*

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

Oxymitra, Polyalthia, popowia, Priesodielsia, Pseuduvaria, Trivalvaria, Uvaria dan Xylopia.

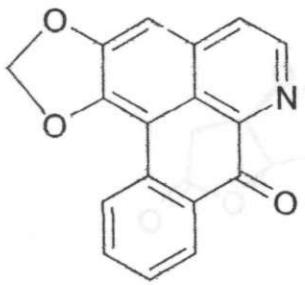
Dari segi fitokimianya, pada tahun 2006 teruna telah berhasil mengisolasi 47 metabolit sekunder dari 7 spesies tumbuhan famili Annonaceae yaitu *Goniothalamus ridleyi, Orophea hexandra, Polyalthia cauliflora, Polyalthia Jenkinsii, Polyalthia Motleyana, Polyalthia Rumphii* dan *Pseudavaria Reticulata.* Senyawa kimia Metabolit sekunder ini termasuk golongan asetogenin, alkaloid, flavonoid, terpenoid, fitosterol dan xanthone.

Untuk melakukan isolasi metabolit sekunder, metode yang dilakukan secara garis besar dapat dibagi dua, pertama pendekatan fitokimia, isolasi dilakukan atas metabolit yang dikehendaki. Misalnya apabila tujuan dari penelitian untuk mengisolasi alkaloid maka teknik isolasinya disesuaikan dengan metoda tersebut (Ghisalberti, 1993). Kedua adalah isolasi dengan cara bioassay (bioassay-guided isolation). Teknik ini mengisolasi metabolit dengan melihat aktivitas suatu sampel. Kedua metode ini masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan (ghisaberti, 1993). Jenis Assay yang dilakukan dipilih berdasarkan atas aktivitas apa yang dicari. Metode Asay ini digunakan antara lain uji toksisitas dengan menggunakan benur udang, anti bakteri, anti jamur (Meyer et al., 1982; Mitscher et al., 1980) dan uji toksisitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* (World Health Organization, 2005)

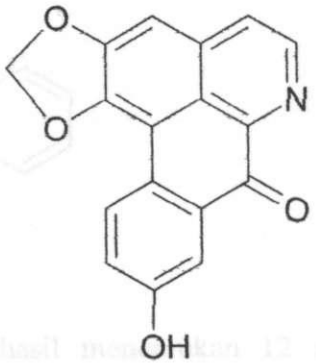
2.2. Senyawa Kimia Famili Annonaceae

Pada tahun 2004, Amador *et al.*, berhasil menemukan dua senyawa alkaloid kelompok oxoaporphine dari tumbuhan *Annona squomosa* yaitu, liriodenine **(1)**, oxoanalobine **(2)**

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

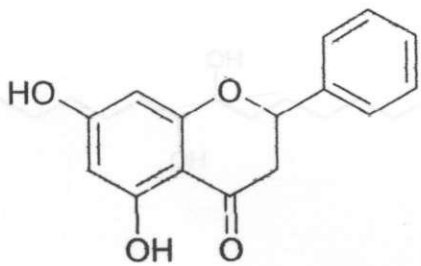


(1)

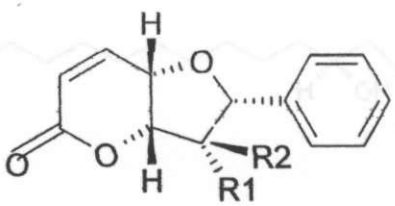


(2)

Pada tahun 2008, Limpipatwattana *et al.*, berhasil menemukan satu senyawa flavonoid yaitu, pinocembrin **(3)**, tiga senyawa styrilpyrones yaitu, altholaktone **(4)**, gonio pypyrone **(5)**, 2-epi-altholaktone **(6)**, satu senyawa naphtoquinone yaitu, 5-hidroxy-3-amino-2-aceto-1,4-napthoquinone **(7)**, satu senyawa styrene derivative **(8)** dari tumbuhan *Goniothalamus laoticus.*

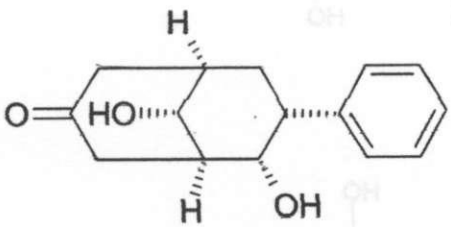


(3)

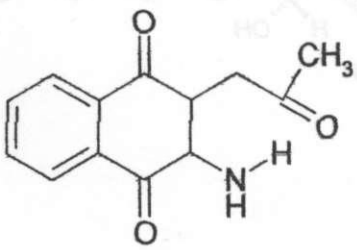


(4), $R_1 = H$, $R_2 = OH$

(8) $R_1 = OH$, R_2

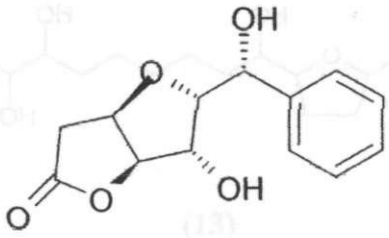


(5)



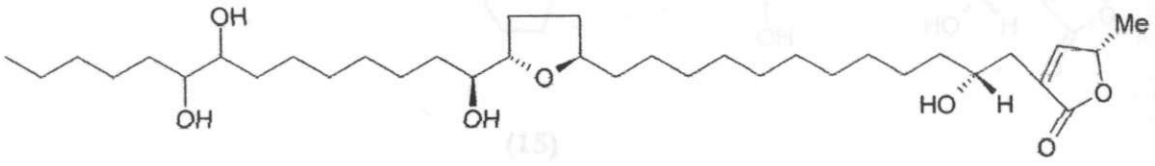
(6)

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

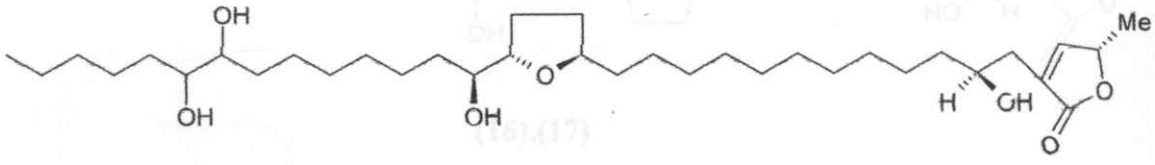


(7)

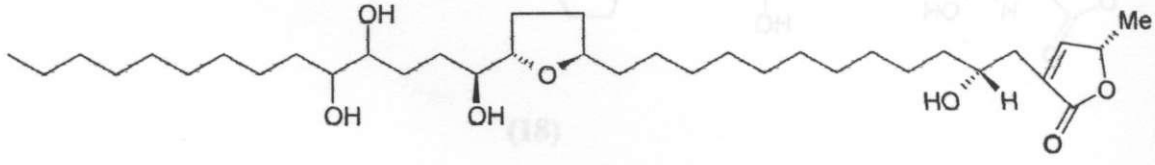
Pada tahun 2001, Chang and Wu berhasil menemukan 12 senyawa asetogenin yaitu, muricin A **(9)**, muricin B **(10)**, muricin C **(11)**, muricin D **(12)**, muricin E **(13)**, muricin F **(14)**, muricin **(15)**, muricatetrocin A **(16)**, muricatretrocin B **(17)**, longifolicin **(18)**, corossolin **(19)**, corossolon **(20)** dari tumbuhan *Annona muricata* yang memiliki aktifitas sitotoksik.



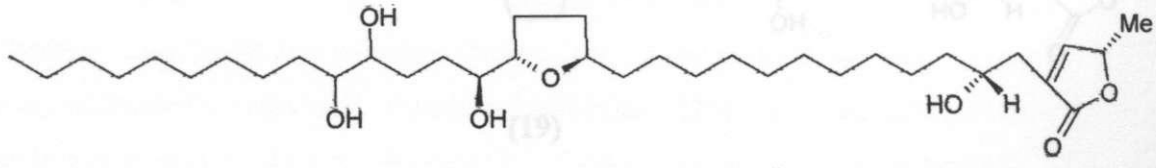
(9)



(10)

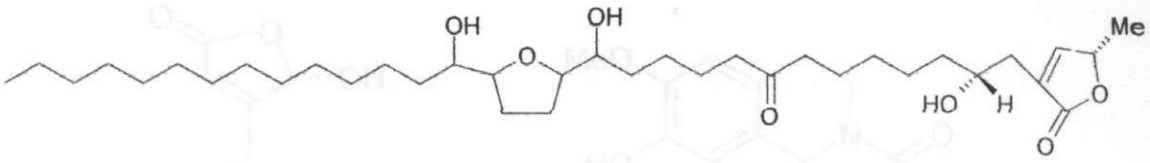


(11)



(12)

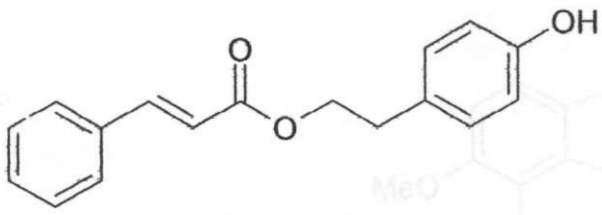
Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/



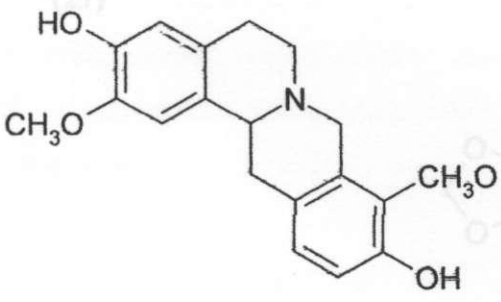
(20)

2.3. Senyawa Kimia Genus Polyalthia.

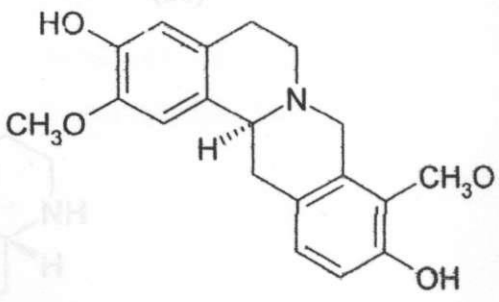
Pada tahun 2007, Kaewamatawong *et al.*, berhasil menemukan dua senyawa coumarate esters yaitu, p-hydroxyphenylethyl p-coumarate **(21)** dan p-hydroxyphenylethyl ferulate **(22)**, dua senyawa isoquinoline alkaloid yaitu, dehydrodiscretamine **(23)** dan (-)-discretamine **(24)** dari tumbuhan *Polyalthia parviflora.*



(21) R=H
(22) R=OCH3



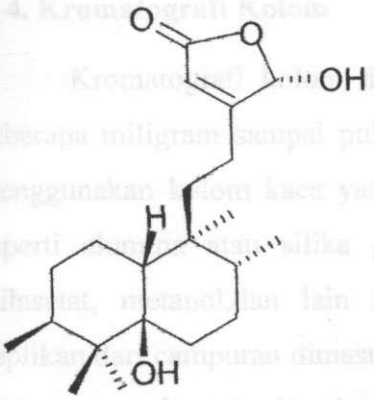
(23)



(24)

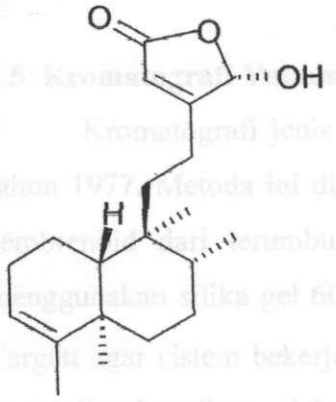
Pada tahun 2000, Chen *et al.*, berhasil menemukan satu senyawa haliman diterpen yaitu,3β,5β,16ά-trihydroxyhalima-13(14)-en-16-olide**(25)**,satu senyawa oxoprotoberberin alkaloid, (-)-oxopolyalthiaine **(26)** dan senyawa 16ά—hydroxycleroda3,13-dien-15,16-olide **(27)**, 5-hydroxy-6-methoxyonychine **(28)**, (-)-anonain **(29)** dari tumbuhan *Polyalthia longifolia* yang memiliki aktifitas sitotoksik.

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

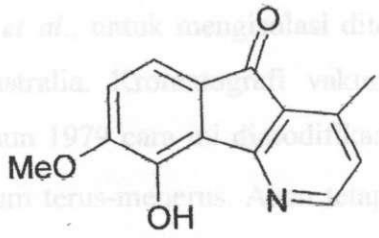


(25)

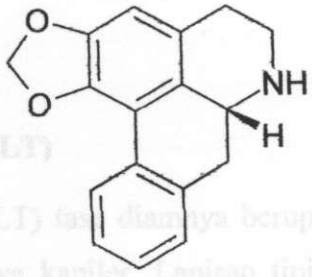
(26)



(27)



(28)



(29)

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

2. 4. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk pemisahan skala preparatif, dari beberapa miligram sampai puluhan gram sampel. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kolom kaca yang dapat diisi dengan bahan penyerap (adsorben) seperti alumina atau silika gel dan dialiri dengan pelarut seperti heksana, etilasetat, metanol,dan lain sebagainya sebagai fasa gerak. Sejumlah kecil cuplikan dari campuran dimasukkan melalui sebelah atas kolom kemudian dielusi sehingga membentuk pita-pita serapan dari cuplikan tersebut. Kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada beratnya ia terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom (Sastrohamidjojo, 1985).

2.5. Kromatografi Vakum Cair (VLC)

Kromatografi jenis ini pertama kali diperkenalkan oleh Coll *et al.*, pada tahun 1977. Metoda ini digunakan oleh Coll *et al.*, untuk mengisolasi diterpena sembrenoid dari terumbu karang lunak Australia. Kromatografi vakum cair menggunakan silika gel 60 (63-200 μ m). Tahun 1979 cara ini dimodifikasi oleh Targett agar sistem bekerja pada kondisi vakum terus-menerus. Akan tetapi cara yang diperkenalkan oleh Coll *et al.*, cukup baik untuk fraksinasi ekstrak tumbuhan secara kasar. Kromatografi vakum cair yang diperkenalkan oleh Coll *et al.*, menggunakan corong *Buchner* kaca atau kolom pendek sedangkan Targett *et al.*, menggunakan kolom yang lebih panjang untuk meningkatkan daya pisah (Hostettmann *et al.*, 1995).

2.6. Kromatografi lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) fase diamnya berupa lapisan tipis dan fase bergeraknya mengalir karena daya kapiler. Lapisan tipis (tebal 0,1-2 mm) ini terdiri dari bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan tipis melekat pada permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya kalsium sulfat atau amilum (pati). Lapisan tipis pada kromatografi ini biasanya berfungsi sebagai permukaan padat yang menyerap (Gritter, 1991).

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

Untuk dapat menghitung jarak yang ditempuh oleh noda maka harus diketahui lokasi noda pada plat dengan tepat. Untuk noda yang berwarna dapat dilihat secara visual, tetapi untuk noda yang tidak berwarna dapat diamati dengan cara menggunakan sinar lampu UV, uap iodium dan pereaksi penampak noda.

Noda yang telah didapat ditandai dengan menggunakan pensil. Gunanya adalah untuk mencari harga Rf (retardation factor = faktor penghambat).

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

2.7. Kromatografi Cepat (*flash chromatography)*

Flash chromatography (kromatografi cepat) termasuk dalam kromatografi kolom. Konsep *flash chromatography* sangat sederhana dalam pemisahan preparatif. Kromatografi jenis ini biasanya menggunakan kromatografi kolom biasa yang dimodifikasi. Cara ini sangat mudah dan murah dilakukan karena hanya menggunakan alat-alat gelas. Oleh karena itu metoda ini banyak sekali digunakan oleh para peneliti yang bekerja dalam masalah pemisahan. Kinerja *flash chromatography* iebih rendah dari pada kromatografi cair tekanan menengah, tapi dengan pertimbangan kesederhanaan dan ekonomis orang lebih sering menggunakan metoda ini (Hostettmann *et al*., 1995).

Silika gel yang digunakan dalam *flash chromatography* berukuran antara 40-60 μm (230-240 mesh). *Flash chromatography* dilengkapi dengan sistem katup jarum dan pengendali aliran. Tekanan dapat diperoleh dari pipa udara bersih atau tangki gas nitrogen yang disambungkan dengan pengatur aliran tekanan yang diberi katup buka-tutup. Jika katup ditutup atau ditutup sebagian, tekanan akan meningkat yang menyebabkan pengembangan kromatogram secara cepat (Gritter *et al*., 1991).

2.8. Rekristalisasi

Suatu senyawa organik dikatakan murni apabila tidak ditemukan pengotor dan memiliki sifat fisik yang tetap. Biasanya hasil isolasi yang diperoleh tidak pernah langsung murni dan masih ada pengotornya. Prinsip dasar dari proses ini

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

yaitu melarutkan padatan pada titik didih pelarut dan kelarutannya kecil dalam keadaan dingin sehingga kristal mulai terbentuk kembali.

2.9. Penentuan Titik Leleh

Titik leleh adalah temperatur di mana padatan mulai meleleh hingga meleleh seluruhnya, temperatur padatan dan cairan berada pada kesetimbangan yang sama. Jika selisih harga titik lelehnya kecil atau sama dengan $2^{o}C$ maka senyawa tersebut sudah murni.

2.10. Struktur Elusidasi

Untuk menentukan struktur suatu senyawa digunakan beberapa cara spektroskopi. Ada empat spektroskopi utama yaitu UV, IR, MS, NMR.

2.10.1. Spektroskopi ultraviolet (UV)

Spektroskopi ultraviolet sangat berguna untuk mempelajari molekul-molekul organik yang memngandung ikatan rangkap dua maupun rangkap tiga, khususnya untuk ikatan rangkap terkonjugasi dan aromatik (Palleros, 2000). Senyawa organik yang dikarakterisasi dengan UV harus dalam keadaan murni. Senyawa yang akan dianalisis dilarutkan dalam pelarut organik yang sesuai (Zubrick, 1987).

Untuk mempelajari serapan ultraviolet secara kualitatif, berkas radiasi dikenakan pada cuplikan dan intensitas radiasi yang ditransmisikan harus di ukur. Penggunaan spektroskopi ultraviolet secara kuantitatif berhubungan dengan hukum Lambert-Beer, maka dapat dinyatakan hubungan antara konsentrasi absorbansi dengan konsentrasi dan tebal cuplikan (Silverstein, 1986).
Hubungan ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$\text{Log } T = A = \varepsilon\, b\, c$$

- log T = A = Absorbansi

dengan : ε = Absorpsitivitas molar ($cm^{-1}\, M^{-1}$)

b = Panjang sel (cm)

c = Konsentrasi (M)

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

2.10.2. Spektroskopi inframerah (IR)

Penggunaan spektrofotometri inframerah untuk maksud analisis lebih banyak ditujukan untuk identifikasi suatu senyawa melalui gugus fungsinya. Hal ini disebabkan spektrum inframerah senyawa organik bersifat khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda pula.

Panjang gelombang IR dapat dibagi menjadi tiga sub daerah, yaitu IR dekat (υ = 4000 -1300 cm^{-1} atau λ = 2,5 μm – 0,8 μm), IR tengah (υ = 400 – 4000 cm^{-1} atau λ = 25 μm – 2,5 μm) dan IR jauh (υ = 400 – 40 cm^{-1} atau λ = 250 μm – 25 μm). Hanya IR tengah yang berguna dalam analisis struktur organik, karena pada daerah ini teramati vibrasi-vibrasi ulur dan dapat dihubungkan dengan bentuk struktur molekul (Crews, 1998).

2.10.3. Spektroskopi massa (MS)

Dalam spektrofotometri massa, molekul-molekul organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion bermuatan positif yang bertenaga tinggi (ion-ion molekuler atau ion-ion induk), yang dapat pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (fragmen). Lepasnya elektron dari molekul menghasilkan radikal kation yang dinyatakan sebagai M M^+ (Sastrohamidjojo, 1992). Penentuan rumus molekul terlihat dari intensitas puncak ion molekul yang cukup tinggi.

2.10.4. Spektroskopi resonansi magnetik inti (NMR)

Metoda spektroskopi magnetik inti (NMR) memberikan gambaran mengenai perbedaan dari berbagai inti yang ada dan untuk menduga letak inti tersebut dalam suatu molekul. Disamping itu, NMR ini juga dapat memberikan keterangan tentang jumlah setiap jenis lingkungan hidrogen yang ada dalam molekul dan juga jumlah atom hidrogen yang ada pada karbon tetangga.

Fenomena resonansi magnet inti ini terjadi bila inti yang menyearahkan terhadap medan yang digunakan direduksi untuk menyerap tenaga dan orientasi spinnya berubah. Makin besar medan magnet yang digunakan, makin besar pula perbedaan tenaga antara kedudukan-kedudukan spin yang ada:

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

$$\nu = \left(\frac{\gamma}{2\pi}\right) B_o$$

Keterangan: ν = frekuensi elektromagnetik

B_o = kuat medan magnet

γ = perbandingan giro magnet dan merupakan tetapan

2.11. Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen maupun yang non-patogen. Senyawa-senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri terdiri dari garam logam-logam, senyawa fenol, formaldehid, alkohol, yodium, senyawa klor, deterjen, sulfonamida dan antibiotik (Tortora, 2001).

Dikenal beberapa senyawa antibakteri kimiawi, misalnya senyawa antibakteri yang penggunaannya berkaitan erat dengan produksi makanan dan obat-obatan. zat kimia yang bersifat hanya menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan bakteriostatik. Sedangkan bakterisida merupakan zat kimia yang dapat mematikan bakteri tersebut (Dwidjoseputro, 1994). Cara kerja senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu (Ajizah *et al.*, 2007).

1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri
2. Mengganggu fungsi dari membran sel bakteri
3. Menghambat sintesis protein dan asam nukleat bakteri
4. Mengganggu metabolisme sel bakteri

Menurut Dziezak (1986), keefektifan senyawa antimikroba tergantung pada tiga faktor, yaitu : pH, kemampuan merusak mikroba oleh asam dan pengaruh spesifik senyawa antimikroba.

2.12. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling penting dan beraneka ragam hubungannya dengan makanan dan manusia. Beberapa jenis bakteri dapat mengakibatkan pembusukan pada makanan dan dapat juga menimbulkan penyakit bagi manusia. Akan tetapi ada juga bakteri yang menguntungkan manusia, seperti

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

bakteri yang digunakan dalam fermentasi makanan dan minuman (Buckle *et al.*, 1985).

Berdasarkan morfologinya bakteri termasuk mikroorganisme bersel tunggal dengan panjang 0,1-1,0 μm dan lebar 0,5-2,5 μm. Sel-sel ini biasa ditemukan dalam keadaan tunggal, berpasangan, tetrad, kelompok kecil, gerombolan atau rantai.

Bentuk bakteri terbagi dalam 4 bentuk yaitu (team yayasan pendidikan haster, 2004):

- Coccus: bentuk tubuh bakteri yang bulat peluru, dengan variasi sebagai berikut:
  - Streptococcus: susunan cocus yang menyerupai rantai
  - Staphylococcus: susunan coccus yang menyerupai buah anggur
  - Monococcus/diplococcus: bentuk coccus yang sifatnya satu-satu atau dua-dua.
  - Sarcina: bentuk coccus yang menyerupai kubus
- Bacillus (basil): bentuk tubuh bakteri yang menyerupai batang, dengan variasi:
  - Streptobacillus:. Susunan kecil yang menyerupai rantai.
  - Staphylobacillus: susunan bacil yang berkelompok
- Vibrio (koma): bentuk tubuh bakteri seperti koma.
- Spirillum (spiral): bentuk tubuh bakteri yang menyerupai spiral (per).

Berdasarkan teknik pewarnaan, bakteri dikelompokkan menjadi dua, yaitu:

- Bakteri gram positif

Bakteri yang dapat menyerap zat warna utama pada pewarnaan gram dan dapat menahan zat warna tersebut dengan kuat setelah proses pencucian, sehingga tidak dapat diwarnai lagi dengan zat warna berikutnya. Dinding sel bakteri gram positif cukup tebal sekitar 20-80 nm, terdiri atas 60-100% peptidokglikan.

- Bakteri gram negatif

Bakteri yang tidak menyerap zat warna utama pada pewarnaan gram sehingga pada proses pencucian akan luntur dan mudah diwarnai lagi dengan zat warna berikutnya. Dinding selnya terdiri atas 10-20% peptidoglikan. Diluar

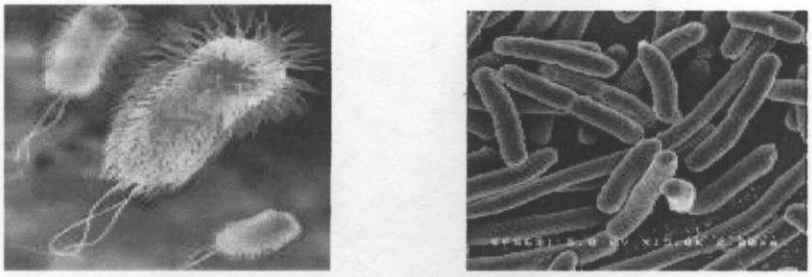
Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

lapisan ada struktur membran kedua yang tersusun dari protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida

Beberapa jenis bakteri yang digunakan untuk uji aktivitas antimikrobial adalah sebagai berikut :

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli dinamakan untuk menghormati ilmuwan Jerman yang bernama Theodor Escherich. *E. coli* adalah bakteri gram negatif, bergerak, berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan mempunyai flagel peritrik. Bakteri ini terdapat secara normal dalam alat-alat pencernaan manusia dan hewan (Buckle *et al.*, 1987). Bakteri ini biasanya ditemukan pada usus besar manusia sehingga sering disebut dengan bakteri kolon. Apabila berada di dalam perut, *Escherichia coli* dapat membantu proses pencernaan, dan menghasilkan sejumlah kecil vitamin B12 dan K. *E. coli* dapat menyebabkan keracunan pada makanan yang telah terkontaminasi. Bakteri ini merupakan bakteri patogen penyebab diare (keracunanan makanan) dan dapat menjadi indikator pencemaran air (Frobisher, 1968).



Gambar 1. *Escherichia coli*
Sumber: www.astrographics.com

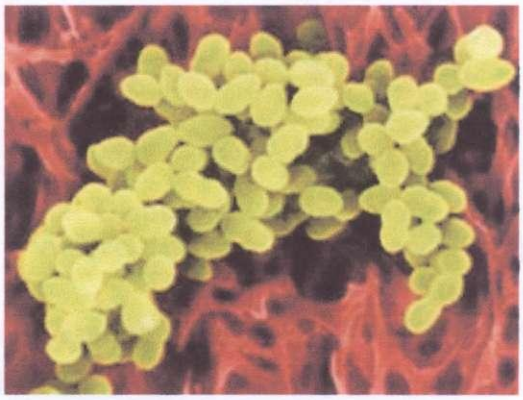
Klasifikasi *E. coli* menurut Bergey (1998) adalah :

Kingdom : Bakteria
Divisio : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

2. *Staphylococcus aureus*

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

Staphylococcus aureus pertama kali ditemukan oleh Alexander Ogston seorang dokter berkebangsaan Skotlandia. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bola yang umumnya berkelompok seperti buah anggur, berdiameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. bakteri ini tidak bergerak dan anaerob fakultatif. Memiliki suhu optimum 35-37 °C dan pH 4,0-9,8 dengan pH optimum 7,0-7,5. Bakteri ini sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. *S. aureus* dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul dan meningitis pada manusia. Mereka hidup saprofit di dalam saluran pengeluaran lendir dari hidung, mulut dan tenggorokan, dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin (Volk et al., 1993). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan keracunan karena memproduksi enterotoksin yang bersifat tahan panas. Selain enterotoksin, bakteri ini juga memproduksi hemolisin yaitu toksin yang dapat merusak dan memecah sel-sel darah merah.



Gambar 2. *Staphylococcus aureus*
Sumber : www.textbookofbacteriology.net/*Staphylococcus_aureus*

Klasifikasi *S. aureus* menurut Bergey (1998) adalah :

Kingdom	: Bakteria
Divisio	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae

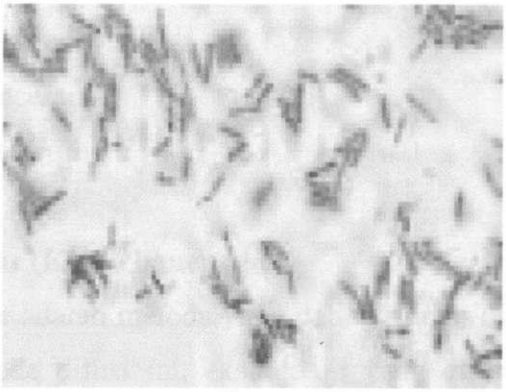
Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Genus : *Staphilococcus*

Spesies : *Staphilococcus aureus*

3. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif, aerob dan berbentuk basil panjang yang disebut streptobasil. Temperatur minimum untuk hidup bakteri ini adalah -5-4,5°C sedangkan temperatur maksimum 25-27°C. *Bacillus subtilis* banyak ditemukan didalam tanah, air dan berbagai jenis makanan. Sporanya berbentuk oval dan silinder, dan lebarnya tidak melebihi sel induk (Haryanti, 2005). Bakteri ini dikenal sebagai penyebab keasaman dari makanan kaleng karena fermentasi gula yang dikandung pada makanan tersebut (Buckle *et al.*, 1985).



Gambar 3. *Bacillus subtilis*
Sumber : www.iccb.state.il.us/.../bacillus_subtilis.jpg

Klasifikasi *B. subtilis* menurut Bergey (1998) adalah :

Kingdom : Bacteria

Divisio : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus subtilis*

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

2.13. Uji Aktivitas Antibakteri

Pemakaian antibakteri yang berlebihan menyebabkan bakteri yang semula sensitif terhadap antibiotik menjadi resisten. Oleh karena itu, senyawa antibakteri 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, sedangkan antibiotik dari tumbuhan tingkat tinggi masih dalam pencarian (Ardiansyah, 2007).

Uji aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak dapat dilakukan dengan 3 metoda yaitu (Lenny, 2006) :

1. Metode Difusi agar.
2. Metode Pengenceran.
3. Metode Bioautografi

2.13.1. Metode difusi agar (Kirby bauer test)

Metoda difusi agar adalah metoda yang paling umum dilakukan untuk uji antibakteri. Dengan metode difusi ini, ekstrak uji yang diserap dengan kertas saring dimasukkan ke dalam silinder atau dimasukkan 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 bakteri uji. Untuk menurunkan limit deteksi, sistem dibiarkan pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum diinokulasi, yaitu untuk memberikan kesempatan kepada antibiotik untuk berdifusi sebelum bakteri tumbuh.

2.13.2. Metode pengenceran

Pada metode ini, sampel yang akan diuji dicampur dengan medium yang cocok yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri uji. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri dapat ditentukan secara visual atau dengan perbandingan turbidimetri di kultur uji dengan di kultur kontrol. Kultur kontrol adalah kultur

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

yang tidak diberi sampel yang akan diuji aktivitasnya, sedangkan kultur uji adalah kultur yang telah dicampurkan dengan sampel uji.

2.13.3. Metode bioautografi

Metoda ini digunakan untuk menentukan tempat atau posisi suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri pada kromatogram. Caranya adalah dengan memindahkan senyawa uji dari kromatogram lapis tipis atau kertas ke medium agar yang sudah diinokulasi dengan bakteri uji kemudian diinkubasi. Bercak yang menghasilkan zona bening berarti adalah senyawa aktif terhadap bakteri.

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