

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Buah Merah

1. Sistematika dan klasifikasi tanaman

Kedudukan tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* L.) dalam taksonomisebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Kelas : Angiospermae

Subkelas : Monocotyledonae

Ordo : Pandanales

Famili : Pandanaceae

Genus : Pandanus

Species : *Pandanus conoideus* L. (Budi dan Paimin2005).

2. Morfologi tanaman

Buah merah termasuk jenis tanaman pandan-pandan (*Pandanus conoideus*L.).Daun tunggal berbentuk lanset sungsang (*oblanceolate*), berwarna hijau tua dan letaknya berseling.Ujung daun runcing (*acute*), pangkal daun memeluk batang, permukaan daun licin, tepi daun berduri atau tidak berduri tergantung jenisnya.Batang tanaman bercabang banyak, tegak, bergetah dan berwarna cokelat berbercak putih.Akarnya tergolong akar serabut dengan tipe perakaran dangkal.Akar ini berfungsi sebagai penguat batang.Tanaman ini berbuah saat berumur tiga tahun sejak ditanam.Buah merah tersusun dari ribuan biji yang berbaris rapi membentuk

kulit buah. Biji kecil memanjang sepanjang 9-13 mm dengan bagian atas meruncing. Bagian pangkal biji menempel pada bagian jantung, sedangkan ujungnya membentuk totol-totol dibagian kulit buah. Biji berwarna hitam kecoklatan dibungkus daging tipis berupa lemak. Warna daging kuning, coklat atau merah tergantung jenisnya (Budi dan Paimin 2005).

3. Kegunaan tanaman

Buah Merah sudah terbukti sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker. Limbah olahan buah merah berwujud pasta masih berfaedah untuk mempercepat penyembuhan luka akibat tergores pisau dan sejenisnya, sebab buah merah mengandung Yodium. Pasta dioleskan diatas luka sehingga dalam waktu singkat luka mengering dan bebas infeksi, jika pasta belum tersedia, daging buah segar dapat menggantikannya (Anonim 2005).

Ekstrak buah merah (*Pandanus conoieus* L.) pada konsentrasi 80% dan 100%, mempunyai efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Kusumaningsih *et al* 2004).

Penelitian terkait dengan antikanker buah merah (*Pandanus conoideus* L.) telah dilakukan oleh Mun'im *et al* (2006). Pemberian sari buah merah dosis 0,21 ml/200 g BB mampu menghambat pertumbuhan kanker pada paru-paru tikus hasil induksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA).

4. Kandungan kimia

Hasil analisis kimia yang dilakukan I Made Budi, buah merah mengandung komposisi gizi lengkap, seperti betakaroten, tokoferol, asam oleat, asam linoleat dan dekanolat. Buah merah juga mengandung asam lemak esensial dalam dosis

tinggi, meski mengandung 28% lemak, tapi 85% diantaranya berupa asam lemak tak jenuh, sebagian besar berupa asam oleat dan asam linoleat yang sangat dibutuhkan tubuh. Tingginya kadar asam lemak tak jenuh membuat buah merah gampang diserap organ pencernaan dan memperlancar metabolisme (Budi dan Paimin 2005).

Ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus* L.) antara lain mengandung asam lemak tak jenuh, alkaloid dan minyak atsiri, yang diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga mempunyai efek antibakteri (Kusumaningsih *et al* 2004).

Buah merah (*Pandanus conoideus* L.) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Urutan paling tinggi tentang kandungan flavonoid total dari buah merah (*Pandanus conoideus* L.) ialah fraksi etil asetat, ekstrak metanol sebelum dipartisi, fraksi metanol air terakhir fraksi kloroform. Kandungan fenolik total paling besar pada fraksi etil asetat (Sandhiutami dan Indrayani 2012).

Minyak atsiri adalah jenis minyak yang berasal dari bahan nabati bersifat mudah menguap apabila dibiarkan terbuka di udara dan memiliki bau seperti tanaman asalnya. Minyak atsiri biasanya tidak berwarna, terutama bila masih segar (baru saja diperoleh dari isolasi), tetapi makin lama akan berubah menjadi gelap karena terjadi proses oksidasi dan mengalami pendamaran, untuk mencegah proses oksidasi di simpan dalam wadah tertutup rapat (Agusta 2000).

Alkaloid adalah senyawa basa nitrogen organik yang terdapat pada tumbuhan. Pasangan elektron bebas pada atom Nitrogen menyebabkan alkaloid bersifat basa. Alkaloid bereaksi dengan asam membentuk garam yang tidak larut dalam air. Alkaloid sukar larut dalam air, tetapi mudah larut dalam kloroform, eter

dan pelarut organik lainnya. Peran alkaloid dalam tumbuhan sebagai zat racun yang melindungi tumbuhan dari gangguan serangga dan hewan (Mursyidi 1990).

Flavonoid merupakan senyawa fenol dan dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Flavonoid bisa berfungsi sebagai antimikroba, antivirus, inhibitor kuat pernapasan dan antioksidan (Robinson 1995). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air, mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% (Harborne 1987).

Tanin merupakan senyawa fenol, mempunyai rasa sepat dan kemampuan menyamak kulit. Senyawa ini dapat berfungsi sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk mengusir hewan pemangsa, memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan dapat mendenaturasi protein. Tanin larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar (Robinson 1995). Senyawa fenol diperkirakan bekerja menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerjanya berupa denaturasi terhadap protein yang bersifat *ireversibel* dengan pengendapan yaitu perubahan struktur protein sehingga sifat khasnya menjadi hilang (Robinson 1995).

B. Ekstraksi

1. Pengertian ekstrak

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat didalam simplisia mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat. Kadar zat berkhasiat dalam simplisia sukar diperoleh hasil yang sama. Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati/hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian

semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anief1997).

2. Metode ekstraksi

Isolasi kandungan senyawa yang sangat kompleks dalam tanaman obat umumnya diperlukan beberapa tahap proses pemisahan. Metode yang lazim digunakan adalah ekstraksi. Ekstraksi atau penyarian merupakan perpindahan zat aktif larut dalam cairan penyari. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dan bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat (Ansel1989).

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat Farmakope Indonesia yang umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar disatukan dengan bahan pengestraksi kemudian rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya matahari dan dikocok berulang-ulang (Voigt1984). Maserasi merupakan proses yang paling tepat untuk simplisia yang sudah halus dan memungkinkan direndam hingga meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zatnya akan larut. Obat yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama menstrum yang telah ditetapkan lalu bejana ditutup rapat isinya dikocok berulang-ulang kemudian disaring (Ansel1989). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirik dan lain-lain. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau

pelarut lain. Keuntungannya adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Lima hari kemudian sari diserkai ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserkai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari kemudian endapan dipisahkan (Depkes 1986).

3. Fraksinasi

Fraksinasi secara sederhana dilakukan dengan menggunakan corong pisah, jika ke dalam corong pisah dimasukkan dua pelarut yang masing-masing mempunyai kelarutan yang terbatas dalam pelarut pasangannya (misalnya eter dan air), maka senyawa cenderung terdistribusi atau terpartisi diantara kedua cairan itu. Partisi yang demikian ini merupakan persaingan antara kelarutan dalam cairan (Gritter *etal* 1991). Fraksinasi merupakan pemisahan golongan utama kandungan satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, begitu pula senyawa-senyawa non polar akan terlarut dalam pelarut non polar (Harborne 1987).

4. Pelarut

Pemilihan cairan penyari harus dipertimbangkan banyak faktor, cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan mudah diperoleh,

stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, dapat mencegah bahan dari kontaminasi mikroba dan tidak mudah terbakar (Depkes 1986). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, *n*-heksan, etil asetat, dan air.

4.1. Metanol. Metanol merupakan cairan tidak berwarna, jernih berbau khas dapat bercampur dengan air membentuk cairan jernih tidak berwarna. Bobot jenis 0,796 sampai 0,798, jarak didih tidak kurang dari 95% tersuling pada suhu antara 64,5° dan 65,5°, indeks bias 1,328 sampai 1,329. Pelarut ini bersifat polar, mempunyai rumus molekul CH₃OH (Depkes 1979).

4.2. *N*-Heksan. Pelarut *n*-heksan adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatile, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, eter, uapnya mudah meledak bila berikatan dengan udara maka sebaiknya di simpan dalam tempat yang dingin. Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut non polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid dan karetenoid (Depkes 1987).

4.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat tercampur dalam eter, etanol dan kloroform. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid (Harborne 1987).

4.4. Air. Air digunakan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air bisa melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lendir, enzim, lilin, lemak peptida, zat warna dan asam organik (Depkes 1986).

C. Metode Pemisahan

Pemilihan metode kromatografi sangat tergantung dari sifat kelarutan dan keatsirian senyawa yang akan dipisahkan.

1. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Salah satu metode pemisahan yang memerlukan pembiayaan paling murah dan memakai peralatan paling dasar ialah kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). KLTP bersama-sama dengan kromatografi kolom terbuka, masih dijumpai dalam sebagian besar publikasi mengenai isolasi bahan alam, terutama dari laboratorium yang tidak dilengkapi dengan cara pemisahan modern (Hostettmann K, *et al* 1995).

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri dari bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita, kemudian pelat ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak) dan pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (Stahl 1985).

Keserbagunaan KLT disebabkan oleh kenyataan bahwa disamping selulosa, sejumlah penyerap yang berbeda dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga

lain. Kecepatan KLT dipengaruhi oleh sifat penjerap yang lebih padat bila disapukan pada pelat. Kekurangan KLT adalah kerja penyaputan pelat kaca dengan penjerap, bubuk silica gel yang harus dikocok kuat-kuat tiap jangka waktu tertentu, pengeringan pada suhu kamar dan pengaktifan dengan pemanasan pada suhu 100° – 110°C selama 30 menit (Harborne 1987).

Kebanyakan penjerap KLTP mengandung indikator fluoresensi yang membantu mendeteksi kedudukan pita yang terpisah sepanjang senyawa yang dipisahkan menyerap sinar UV, tetapi beberapa indikator menimbulkan masalah yaitu bereaksi dengan asam kadang-kadang dengan asam asetat. Senyawa yang tidak menyerap sinar UV, dengan cara menyemprot dengan air (misalnya saponin), menutup pelat dengan sepotong kaca menyemprot salah satu sisi dengan pereaksi semprot, menambahkan senyawa pembanding. Pita yang kedudukannya telah diketahui dikerok dari pelat dengan spatula atau pengerok berbentuk tabung yang disambungkan ke pengumpul vakum. Cara terakhir tidak dapat dilakukan untuk senyawa peka karena penjerap yang mengandung senyawa yang sudah murni terus menerus kena aliran udara dan resiko kena otooksidasi selalu ada. Senyawa harus diekstraksi dari penjerap dengan pelarut yang paling kurang polar yang mungkin (sekitar 5 ml pelarut untuk 1 gram penjerap) (Hostettmann K, *et al* 1995).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf. Angka Rf berjarak 0,00 dan 1,00 dan hanya ditentukan dua desimal. hRf yaitu angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjarak 0 sampai 100. Nilai Rf hanya dianggap sebagai petunjuk maka angka hRf-lah yang dicantumkan untuk menunjukkan letak suatu senyawa pada kromatogram,

jika angka R_f lebih tinggi dari angka hR_f , maka kepolaran pelarut harus dikurangi, jika angka hR_f lebih rendah maka kepolaran pelarut harus dinaikkan, hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan perbandingan yang bervariasi pelarut yang berbeda kepolarannya (Stahl 1985).

2. Kromatografi kolom

Kromatografi cair yang dilakukan di dalam kolom besar merupakan metode kromatografi terbaik untuk pemisahan campuran dalam jumlah besar (lebih dari 1 gram), kadang-kadang cara ini disebut kromatografi cair preparatif. Campuran yang akan dipisahkan diletakan berupa pita pada bagian atas kolom penjerap yang berada dalam tabung kaca, tabung logam, atau tabung plastik. Pelarut atau fase gerak dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita senyawa linarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari alas kolom. Metode ini merupakan contoh kromatografi elusi karena linarut dielusi dari kolom. Penjerap yang berukuran 60-230 mesh (63-250 μm) pada kolom gaya tarik bumi, umumnya laju aliran sekitar 10-20 ml/cm^2 penampang kolom/jam. (Gritter, *et al*1991).

Kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam medium tertentu dan senyawa-senyawa yang akan dipisahkan. Komponen-komponen pada kromatografi kolom, akan dipisahkan antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menahan komponen campuran dan tidak boleh larut dalam fase geraknya. Contoh fase diam yaitu silica gel, alumunium, arang dan selulosa. Fase gerak dapat berupa

pelarut tunggal atau berupa campuran pelarut dengan komposisi tertentu. Pelarut dapat merupakan pelarut polar maupun non polar (Sastrohamidjojo 1985).

D. Bakteri Uji



Gambar1. *Pseudomonas aeruginosa*.

1. Klasifikasi dan sistematika bakteri

Sistematika *Pseudomonas aeruginosa* dalam taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Brookset al 2001).

2. Morfologi dan fisiologi bakteri

Pseudomonas aeruginosa termasuk dalam bakteri Gram negatif yang mempunyai ukuran 0,5-1,0 x 3,0-4,0 μm , mempunyai flagel polar, ada juga yang mempunyai 2-3 flagel. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh pada pembenihan tanpa sakarosa yang terdapat pada lapisan lendir polisakarida ekstraseluler, strain yang diisolasi dari bahan klinik sering mempunyai pili untuk perlekatan pada pemakaian

sel dan memegang pengaruh penting dalam resistensi terhadap fagositosis (Jawetz *et al* 2005).

Bakteri ini oksidase positif dan tidak meragikan karbohidrat, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. Pengenalan biasanya berdasarkan morfologi, sifat oksidase positif, adanya pigmen yang khas dan pertumbuhan pada suhu 42⁰C. Untuk membedakan *P. aeruginosa* dari *Pseudomonas* yang lain berdasarkan aktktivitas biokimiawinya dibutuhkan berbagai substrat (Jawetz *et al*1980).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif batang, tidak meragi laktosa, dapat hidup dilingkungan seperti tempat-tempat basah, pada instrumen-instrumen kedokteran rumah sakit, kamar mandi, tempat tidur, tinja, dan kulit manusia dapat menyebabkan infeksi nosokomial(Mudihardiet *al*2005).

3. Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa memproduksi sitotoksin dan protease misalnya eksotoksin A dan S, hemolisin, dan elastase. Isolat dari pasien fibrosis kistik menghasilkan alginat polisakarida, hal ini memungkinkan terbentuknya mikrokoloni di mana organisme terlindung dari opsonisasi, fagositosis, dan antibiotika. Alginat, pili, dan protein membran luar memerantai penempelan. Produksi alginat berhubungan dengan kerentanan yang berlebihan terhadap antibiotik, defisiensi LPS, non-motilitas, dan penurunan produksi eksotoksin (Bamford dan Gillespie2007).

Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab penyakit pada orang tertentu dan resisten pada antibiotik. Bakteri ini menginfeksi darah, kulit, telinga, mata, dan saluran kemih, pada luka bakar akan menyerang darahnya menghasilkan nanah. Penyakit yang serius ditimbulkan adalah komplikasi *cystic*

fibrosis di saluran pernafasan. Kanker dan luka bakar pada pasien sering diinfeksi dengan serius oleh bakteri ini (Mudihardi, *et al* 2005).

4. Pengobatan infeksi akibat *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pneumonia, bakteremia, otitis eksterna, infeksi okular, dan infeksi saluran kemih. Antibiotika golongan β -laktam, kuinolon dan aminoglikosida merupakan pilihan untuk bakteri golongan *Pseudomonas aeruginosa* (Bamford dan Gillespie 2007).

Antibiotika pilihan pertama untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah penicillin antipseudomonas (carbenicillin, tikarcillin, azlocillin, mezlocillin dan piperacillin) dan golongan aminoglikosida seperti gentamicin, tobramycin dan amikacin. Antibiotika alternatif untuk *Pseudomonas aeruginosa* adalah penicillin antipseudomonas dikombinasi quinolon, cefepime, ceftazidime, imipenem, meropenem atau aztreonam dikombinasi aminoglikosida (Katzung 2007).

5. Pembuatan suspensi bakteri uji

Biakan murni bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* yang berumur 24 jam diambil beberapa ose, ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) cair dan dihomogenkan. Kekeruhan disesuaikan dengan kekeruhan modifikasi Brown II yang dianggap setara dengan 10⁹7 juta per ml bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. (Bonang dan Koeswardono 1982).

6. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

Metode difusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suatu cakram kertas saring, suatu cawan yang berliang renik, atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada perbenihan

padat yang telah ditanami dengan biakan tebal bakteri yang diperiksa setelah pengeraman, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al* 1986).

Cara metode difusi adalah menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan ditekan-tekan pada ujung tabung dioleskan pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) sampai rata (Bonang dan Koeswardono 1982). Media dibuat lubang sumuran dengan menggunakan boor prop, dengan diameter 6 mm, tiap lubang sumuran diisi 50 µl larutan uji dengan variasi konsentrasi, DMSO sebagai kontrol negatif, dan gentamisin sebagai kontrol positif. Jumlah bakteri yang digunakan disesuaikan dengan kekeruhan Standar Brown II yang dianggap setara dengan 10⁹7 juta bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (Bonang dan Koeswardono 1982). Masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, diamati adanya hambatan disekeliling sumuran dan diukur dengan jangka sorong. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar sumuran yang berisi larutan uji menandakan bahwa kandungan kimia buah merah memiliki daya hambat terhadap bakteri uji.

E. Antibiotika

1. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berbeda-beda sesuai dengan sifat bahan dan bakteri yang digunakan yaitu, menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel

bakteri dan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri. Aktivitas selektif antibakteri dapat dibedakan menjadi antibakteri yang bersifat bakteristatik yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri saja dan antibakteri yang bersifat membunuh atau disebut bakterisid (Ganiswarna 1995).

2. Golongan aminoglikosida

Aminoglikosida mencakup streptomisin, neomisin, kanamisin, amikasin, gentamisin, tobramicin, sisomisin dan netilmisi. Aminoglikosida merupakan inhibitor ireversibel sintesis protein, namun mekanisme yang pasti untuk aktivitas bakterisidnya belum diketahui. Proses awal aktivitas tersebut adalah difusi pasif melalui kanal pori pada membran luar bakteri. Obat ini selanjutnya ditranspor secara aktif melalui membran sel bakteri ke dalam sitoplasma melalui suatu proses yang bergantung pada oksigen. Gradien elektrokimiawi transmembran menyuplai energi untuk proses tersebut, dan transpor aktif dirangkaikan dengan suatu pompa proton. Ph ekstrasel yang rendah dan suasana anaerob menghambat proses transpor dengan mengurangi gradien tersebut. Proses transpor dapat dipermudah oleh obat-obat yang aktif bekerja pada dinding sel bakteri seperti penisilin atau vankomisin, proses ini mungkin merupakan dasar terjadinya sinergisme antibiotik tersebut dengan aminoglikosida (Katzung2007).

Di dalam sel bakteri, aminoglikosida berikatan dengan reseptor pada Subunit 30S protein ribosom bakteri. Sintesis protein ribosom dihambat oleh aminoglikosida setidaknya melalui tiga cara, pertama mengganggu kompleks inisiasi pembentukan peptida, kedua menyebabkan kesalahan pembacaan (*misreading*) mRNA, yang menyebabkan penggabungan asam amino yang salah ke dalam peptida, ketiga

menguraikan polisom menjadi monosom yang tak berfungsi. Aktivitas tersebut terjadi secara bersamaan, dan efek keseluruhannya bersifat ireversibel dan letal bagi sel bakteri. Gentamisin termasuk golongan aminoglikosida yang diisolasi dari *Micomonospora purpurea* .dan tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri anaerob. Gentamisin digunakan pada infeksi berat seperti sepsis dan pneumonia yang disebabkan oleh bakteri gram-negatif yang mungkin telah resisten terhadap obat-obat lain, terutama *Pseudomonas*, *Serratia*, *Proteus*, *Acinetobacter* dan *Kliebsiella* (Katzung2007).

F. Media

1. Pengertian media

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran nutrisi/nutrien zat makanan yang dipakai untuk menumbuhkan mikroba. Nutrien adalah substansi anorganik dan organik yang dalam larutan dapat melintasi membran sitoplasma untuk menunjang pertumbuhan mikroorganisme. Proses penyerapan nutrien disebut nutrisi. Persyaratan suatu medium adalah harus mengandung semua nutrien yang mudah digunakan bakteri; harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai; tidak mengandung zat-zat penghambat; dan harus steril (Suryono 1995). Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain pertumbuhan mikroorgansime di laboratorium disebut media kultur. Pengetahuan tentang habitat normal mikroorganisme sangat membantu dalam pemilihan media yang cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium (Pratiwi2008).

2. Klasifikasi media

Klasifikasi media dibedakan berdasarkan susunan kimia, konsistensi dan fungsi. Klasifikasi media berdasarkan susunan kimia ada empat yaitu media anorganik, organik, sintetis dan non sintetis. Klasifikasi media berdasarkan fungsinya yaitu media diperkaya (*enriched media*), media selektif, media differensial, media menguji (*assay medium*), media khusus, media untuk bakteri anaerob (Suryono 1995). Klasifikasi media berdasarkan konsistensinya ada tiga yaitu:

2.1. Media cair (*liquid medium*). Media cair yang biasa dipakai adalah kaldu, air dan pepton. Pepton merupakan protein yang terdapat pada daging, susu dan kedelai. Pepton banyak mengandung nitrogen (Suryono 1995).

2.2. Media padat (*solid media*). Media padat adalah medium kaldu yang dicampur dengan agar-agar, media ini dapat berupa media organik/alamiah. Contoh media padat yaitu media wortel, kentang. Agar-agar hanya sebagai zat pengental, bukan zat makanan mikroorganisme (Suryono 1995).

2.3. Media padat yang dapat dicairkan (*semisolid medium*). Media ini dalam keadaan panas berbentuk cair, jika dalam keadaan dingin berbentuk padat, sebab media ini mengandung agar-agar atau gelatin. Media ini bisa dibuat tegak atau miring tergantung keperluan. Gelatin mencair pada suhu 25°C, jadi yang berbentuk padat harus disimpan dibawah suhu kamar (Suryono 1995).

3. Komposisi media

Media mengandung nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme. Nutrisi yang dibutuhkan antara lain air, sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, sumber aseptor elektron, mineral dan faktor pertumbuhan (Suryono 1995).

G. Sterilisasi

Bahan dan peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak ditumbuhi bakteri yang tidak diharapkan, yang akan merusak media dan mengganggu proses yang akan dikerjakan. Steril didapatkan melalui proses sterilisasi, cara sterilisasi yang umum digunakan adalah sterilisasi secara fisik, misal dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar X, sinar gamma, sinar ultra violet, sterilisasi secara kimia, misal dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, sterilisasi secara mekanik, misal dengan penggunaan saringan atau filter (Suriawiria 1986).

H. Landasan Teori

Masyarakat tradisional mengenal buah merah (*Pandanus conoideus* L.) sebagai obat cacung, penyakit kulit (kaskado), menghambat kebutaan dan meningkatkan stamina. Buah merah (*Pandanus conoideus* L.) mengandung zat-zat gizi bermanfaat atau senyawa aktif dalam kadar tinggi, diantaranya betakaroten, tokoferol, serta asam lemak seperti asam oleat dan asam linoleat. Buah merah merupakan antibiotika dan antivirus karena asam lemak aktif melemahkan dan meluruhkan membran lipida virus serta mematikannya (BudidanPaimin2005).

Buah merah (*Pandanus conoideus* L.) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Urutan paling tinggi tentang kandungan flavonoid total dari buah merah (*Pandanus conoideus* L.) ialah fraksi etil asetat, ekstrak metanol sebelum dipartisi, fraksi metanol air terakhir fraksi kloroform. Kandungan fenolik total paling besar pada fraksi etil asetat (Sandhiutami dan Indrayani 2012).

Senyawa fenol diperkirakan bekerja menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerjanya berupa denaturasi terhadap protein yang bersifat *ireversibel* dengan pengendapan yaitu perubahan struktur protein sehingga sifat khasnya menjadi hilang (Robinson 1995). Flavonoid merupakan senyawa fenol dan dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Flavonoid bisa berfungsi sebagai antimikroba, antivirus, inhibitor kuat pernapasan dan antioksidan (Robinson 1995). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air, mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% (Harborne 1987).

Ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus* L.) antara lain mengandung asam lemak tak jenuh, alkaloid dan minyak atsiri, yang diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga mempunyai efek antibakteri. Ekstrak buah merah pada konsentrasi 80% dan 100%, mempunyai efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Kusumaningsih *et al* 2004).

Kegunaan minyak atsiri sebagai antiseptik dan antifungi berbeda-beda pada bermacam-macam minyak atsiri. Mekanisme minyak atsiri sebagai antiseptik dan antifungi belum diketahui, tetapi kemungkinan minyak atsiri menghambat aktivitas enzim dehidrogenase dalam sel, yaitu enzim yang mengatalisis pelepasan hidrogen dari substrat pada reaksi oksidasi reduksi dalam rantai pernafasan sel dalam mitokondria (Dobbs 1961).

Pemisahan senyawa dari ekstrak metanol dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair yaitu ekstraksi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran (Harborne 1987). Cairan penyari yang digunakan adalah *n*-heksan, etil asetat dan air. Pelarut *n*-

heksan merupakan pelarut non polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid dan karetenoid (Depkes 1987). Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah melarutkan golongan flavonoid (Harborne 1987). Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Air dapat melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gum, pati, protein, lendir, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam organik (Robinson 1995).

Hasil dari fraksinasi ekstraksi cair-cair ekstrak metanolik buah merah kemudian dilakukan uji antibakteri. Metode uji antibakteri yang digunakan adalah metode difusi. Metode ini dilakukan dengan cara menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi yang telah dibuat dan ditekan-tekan pada ujung tabung, dioleskan pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) sampai rata (Bonang & Koeswardono 1982). Sumuran pada media dibuat dengan menggunakan boor prop. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , ada tidaknya daya hambat yang teramati dibandingkan dengan DMSO sebagai kontrol negatif dan gentamisin sebagai kontrol positif.

Pemisahan fraksi aktif antibakteri pada penelitian ini menggunakan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri dari bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita, kemudian pelat ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak) dan pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (Stahl 1985).

Kromatografi kolom adalah kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campurannya. Pemisahan kromatografi kolom didasarkan pada absorpsi komponen-komponen campuran dengan afinitas berbeda-beda terhadap permukaan fase diam. Fase diam yang digunakan adalah silika gel. Fase geraknya adalah cairan yang mengalir membawa komponen campuran sepanjang kolom (Gritter *et al* 1991).

Pseudomonas aeruginosa merupakan basilus Gram-negatif, yang motil dan hidup dalam suasana aerob. Bakteri ini terdapat dimana-mana pada lingkungan, tetapi jarang terdapat pada flora orang yang sehat. Jumlah pembawa meningkat dengan perawatan inap di rumah sakit. Lingkungan yang lembab merupakan tempat hidup *Pseudomonas aeruginosa*, seperti bak cuci, keran air dan desinfektan yang digunakan lebih dari 24 jam. *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi sitotoksin dan protease (misalnya eksotoksin A dan S, hemolisin dan elastase). Isolat dari pasien fibrosis kistik menghasilkan alginat polisakarida, hal ini memungkinkan terbentuknya mikrokoloni dimana organisme terlindung dari opsonisasi, fagositosis dan antibiotik. Alginat, pili dan membran protein luar memerantai penempelan. Produksi alginat berhubungan dengan kerentanan yang berlebihan terhadap antibiotik, defisiensi LPS, non-motilitas dan penurunan produksi eksotoksin (Bamford dan Gillespie 2007).

Golongan *Pseudomonas aeruginosa* terdiri dari batang bergerak Gram negatif aerob yang menghasilkan pigmen yang larut dalam air dan berdifusi melalui perbenihan. Kuman ini banyak terdapat di dalam tanah, air, sampah dan udara. *Pseudomonas aeruginosa* sering terdapat dalam jumlah sedikit dalam flora

normal usus. Kuman ini ditemukan juga pada kulit manusia. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh cepat pada perbenihan buatan, tidak meragikan laktosa dan membentuk koloni bulat halus dengan fluoresensi kehijau-hijauan dan bau aromatis yang enak. Koloni-koloni pigmen hijau kebiru-biruan berdifusi ke dalam perbenihan, beberapa strain menghemolisis darah. Pigmen yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah piosianin, suatu zat berwarna kebiru-biruan yang larut dalam kloroform dan air dan mempunyai aktivitas antijasad renik. Fluoresein juga termasuk pigmen yang berwarna kehijau-hijauan, berfluoresensi, larut dalam air. *Pseudomonas aeruginosa* hanya patogen bila masuk ke dalam daerah-daerah yang pertahanan normalnya tidak ada. Kuman ini menyebabkan infeksi luka dan luka bakar, membentuk nanah yang berwarna biru-hijau, meningitis, dan infeksi saluran kemih (Jawetz *et al* 1980).

Antibiotika pilihan pertama untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah penicillin antipseudomonas (carbenicillin, tikarcillin, azlocillin, mezlocillin dan piperacillin) dan golongan aminoglikosida seperti gentamicin, tobramycin dan amikacin. Antibiotika alternatif untuk *Pseudomonas aeruginosa* adalah penicillin antipseudomonas dikombinasi quinolon, cefepime, ceftazidime, imipenem, meropenem atau aztreonam dikombinasi aminoglikosida (Katzung 2007).

I. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama fraksi etil asetat dari ekstrak metanolik buah merah (*Pandanus conoideus* L.), diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Kedua, subfraksi hasil kromatografi kolom fraksi etil asetat buah merah (*Pandanus conoideus* L.) diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

