

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Kana Merah (*Canna coccinea* Mill.)

#### 1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi tanaman kana merah (*Canna coccinea* Mill.) menurut Cooke (2001) adalah sebagai berikut :

- Regnum : Plantae
- Divisio : Magnoliophyta
- Classis : Liliopsida
- Ordo : Zingiberales
- Familia : Cannaceae
- Genus : *Canna*
- Species : *Canna coccinea* Mill.



Gambar 1. Tanaman kana  
Dikutip dari : Sunaryanti (2012)

## 2. Deskripsi Tanaman

Tanaman kana merah (*Canna coccinea* Mill.) merupakan tanaman yang terdiri dari rimpang, batang semu, daun, bunga, buah, dan biji. Batangnya mengandung air (herbaceous) dan terbentuk dari pelepah-pelepah daun yang saling menutupi satu sama lain sehingga disebut “batang palsu”. Tanaman kana memiliki bentuk berumpun dan merupakan tanaman herba, semua bagian vegetatif yaitu batang, daun serta kelopak bunganya sedikit berlilin. Tinggi tanaman kana antara 0,9-1,8 meter. Panjang batang diperoleh dengan cara mengukur batang mulai dari ujung tanaman sampai ujung rimpang atau yang sering disebut dengan umbi (Mishra *et al.* 2011).

Daun tersusun secara berselang-seling, dengan pelepah besar terbuka, tangkai pendek, sirip daun terlihat jelas serta berwarna hijau, daun berbentuk bulat telur dengan ujung runcing. Bagian atas permukaan daun berwarna hijau, tembaga gelap atau keungu-unguan. Panjang daun 15-60 cm, sedangkan lebarnya 7-20 cm. Bagian tengahnya terdapat tulang daun yang tebal. Kemudian untuk warna bunga kana ini adalah merah oranye dan pangkalnya kuning dengan benang sari tidak sempurna. Bunga majemuk, tersusun dalam rangkaian berbentuk tandan, serta memiliki buah yang tidak sempurna. Kuntum bunga berbentuk mirip corong, terdiri dari tiga sampai lima helai mahkota bunga yang berukuran kecil sampai besar (Sunaryanti 2012).

Rimpang tanaman kana merah memiliki diameter antara 5-8,75 cm dan panjangnya 10-15 cm, bahkan bisa mencapai 60 cm, bagian tengahnya tebal dan dikelilingi berkas-berkas sisik yang berwarna ungu atau coklat dengan akar serabut tebal. Rimpang atau umbinya bila sudah cukup dewasa, dimana ditandai dengan daun dan batangnya mulai menguning dan saat hujan tiba, rimpang atau umbi akan bertunas dan membentuk tanaman baru (Fauziah 2007).

## 3. Kandungan Tanaman

Berdasarkan penelitian Sunaryanti tahun 2012, daun kana merah memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid atau triterpenoid,

saponin dan tanin. Selain itu profil farmakognostik dan farmakologikal dari daun kana merah secara kualitatif mengandung asam amino, asam organik, asam sitrat, asam maleat, gliserin, suksinat, asam laktat, glutamine, glutama, dan alanin.

#### 4. Nama Daerah

Dalam suatu daerah tanaman kana merah (*Canna coccinea* Mill.) memiliki nama sebutan yang berbeda pada daerah satu dengan daerah yang lainnya. Beberapa nama sebutan tersebut antara lain : gany hutan (Melayu); lili kana, kembang tasbih, panah india, nyong wana, ganyong alas,(Jawa); ganyol leuweung (Sunda); dan puspnyidra (Agung & Tinton 2008).

#### 5. Khasiat Daun Kana Merah

Daun tanaman kana merah (*Canna coccinea* Mill.) memiliki khasiat sebagai antimalaria. Potensi teraputik dari tanaman kana sangat luas karena mengandung senyawa fitokimia yang sangat luas. Kana merah dilaporkan memiliki variasi aktivitas seperti antihelmintik, antioksi dan, antifungi, moluskisidal dan hepatoprotektif (Mishra *et al.* 2011).

### B. Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.)

#### 1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) menurut Satuhi *et al.* (2008) adalah sebagai berikut :

Regnum : Plantae  
 Divisio : Spermatophyta  
 Classis : Angiospermae  
 Ordo : Monokotyledonae  
 Familia : Musaceae  
 Genus : Musa  
 Species : *Musa paradisiaca* L.



Gambar 2. Bonggol Pisang Kepok

Dikutip dari : kabartani. com

## 2. Deskripsi Tanaman

Tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) merupakan tanaman yang dapat ditanam dan tumbuh dengan baik pada berbagai macam topografi tanah. Tanaman ini termasuk dalam golongan terna monokotil tahunan berbentuk pohon yang tersusun atas tumpukan pelepah daun atau batang tersusun. Percabangan tanaman memiliki tipe simpodial dengan meristem ujung memanjang dan membentuk bunga kemudian membentuk buah. Bagian bawah batang pisang terdapat umbi yang berbentuk menggebu atau biasa disebut bonggol. Pucuk lateral (sucker) muncul dari kuncup pada bonggol yang selanjutnya tumbuh menjadi tanaman pisang. Buah pisang umumnya tidak berbiji atau bersifat partenokarpi (Hendro 2008).

Perlekatan daun pada batang membentuk roset batang, helaian daun berbentuk lanset memanjang, mudah koyak, panjang 1,5-3 m, lebar 30-70 cm, permukaan bawah daun berkilin, tulang tengah penopang jelas disertai tulang daun yang nyata, tersusun sejajar dan menyirip. Daun paling muda terbentuk di bagian tengah tanaman, keluarinya menggulung dan terus tumbuh memanjang, kemudian secara progresif membuka. Batangnya semu yang tersusun atas

tumpukan pelepah daun yang tumbuh dari batang bawah tanah sehingga mencapai ketebalan 20-50 cm (Ashari 2006).

Pisang kepok mempunyai bunga majemuk yang tiap kuncup bunga dibungkus oleh seludang berwarna merah kecoklatan. Seludang akan lepas dan jatuh ke tanah jika bunga telah membuka. Bunga betina akan berkembang secara normal, sedang bunga jantan yang berada diujung tandan tidak berkembang dan tetap tertutup oleh seludang dan disebut sebagai jantung pisang. Tiap kelompok bunga disebut sisir, yang tersusun dalam tandan. Jumlah sisir betina 10-16 buah, buahnya merupakan buah buni, bulat memanjang dan membengkok, tersusun seperti sisir dua baris, dengan kulit berwarna hijau, kuning, dan coklat. Tiap kelompok buah atau sisir terdiri dari beberapa buah pisang. Bentuk pisang kepok sedikit pipih sehingga pisang ini sering disebut pisang gepeng. Berbiji atau tanpa biji, bijinya kecil, bulat, dan warna hitam. Berat buah pertandan dapat mencapai 14-22 kg (Suyanti 2008).

### **3. Kandungan Tanaman**

Menurut Ningsih dan Agustien (2013) terdapat banyak kandungan senyawa aktif dari tanaman pisang kepok yang berperan sebagai senyawa antimikroba dan agen kemoterapi. Pada ekstrak etanol 96% bonggol tanaman pisang kepok memiliki kandungan metabolit sekunder senyawa fenol seperti saponin, glikosida, alkaloid, tanin dan flavonoid.

### **4. Nama Daerah**

Pisang kepok dalam suatu daerah dikenal dengan nama yang berbeda-beda, di Filipina dikenal dengan nama pisang saba, di Malaysia dikenal dengan pisang nipah atau pisang abu, sedangkan di Bali dikenal dengan nama biu gedang saba (Suyanti 2008).

### **5. Khasiat Bonggol Pisang**

Tanaman pisang kepok, khususnya pada bagian bonggol pisang memiliki beberapa khasiat seperti, obat sakit perut, pendarahan pada usus (hemostatik), penurun panas (antipiretik), serta penghitam dan mencegah rambut rontok (Dalimarta 2003).

### C. Mekanisme Senyawa Alam Sebagai Antibakteri

Secara umum banyak tanaman yang mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Golongan senyawa antibakteri memiliki mekanisme yang berbeda-beda dalam mematikan sel bakteri. Macam-macam golongan senyawa tersebut antara lain adalah flavonoid, polifenol, saponin, steroid dan tanin.

**1. Flavonoid.** Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada didalam sel (Ngajow *et al.* 2013).

**2. Polifenol.** Polifenol merupakan senyawa fenol yang bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Pada konsentrasi yang rendah terbentuk kompleks antara protein dan fenol dengan ikatan lemah hal ini diikuti dengan penetrasi fenol kedalam sel sehingga menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Sedangkan pada kadar yang tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sel mengalami lisis (Sari *et al.* 2010).

**3. Saponin.** Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intra sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

**4. Steroid.** Steroid bekerja dengan merusak membran sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi dari membran sel berubah sehingga menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

**5. Tanin.** Tanin bekerja dengan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna akibatnya sel bakteri dapat mengalami lisis yang berimbas pada kematian sel (Sari *et al.* 2009).

#### **D. Efek Kombinasi**

Pemberian kombinasi obat herbal bertujuan untuk memperluas aktivitas terapi dari suatu zat aktif. Karena seringkali zat aktif dalam obat herbal tunggal hanya memberikan efek secara tunggal saja. Sehingga memunculkan suatu anggapan, apabila suatu senyawa obat yang memiliki efek tunggal kemudian dikombinasi dengan obat herbal lainnya, maka akan dapat menghasilkan suatu efek. Dimana terdapat tiga efek dari kombinasi kandungan kimia obat herbal yaitu efek komplementer, efek sinergis dan efek kontraindikasi (Kirana & Tan 2007).

Efek komplementer merupakan suatu efek terapi dengan menggabungkan penggunaan beberapa senyawa yang saling mendukung dalam upaya pencegahan atau penyembuhan suatu penyakit, namun melalui mekanisme yang berbeda. Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan, baik dengan mekanisme aksi yang sama maupun dengan mekanisme aksi yang berbeda. Dan efek kombinasi yang terakhir adalah efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan (Pramono 2006).

#### **E. Simplisia**

##### **1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Dimana mutu sediaan herbal sangat dipengaruhi oleh mutu simplisia yang digunakan. Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk (Gunawan 2004; Depkes RI 2000). Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Ditjen POM 2005).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan yang diperoleh dengan cara memisahkan zat

nabati lain dengan cara tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat penting yang dihasilkan oleh hewan. Sedangkan simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana. Contohnya serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan 2010).

## **2. Pengumpulan Simplisia**

Simplisia yang digunakan adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun dari tanaman kana merah (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang dari tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.).

## **3. Pencucian dan Pengeringan**

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung bahan yang mudah larut air, dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin. Pengeringan pada dasarnya dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan secara buatan.

Pengeringan alamiah dapat dilakukan dengan sinar matahari langsung dan dengan diangin-anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu, kelembapan, tekanan, aliran udara dan waktu pengeringan. Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air, sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim (Gunawan 2010).

## **F. Ekstraksi**

### **1. Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai separating agent. Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua



cara, yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terbagi menjadi dua; maserasi dan perkolasi. Sedangkan cara panas terbagi menjadi lima jenis; refluks, soxhlet, digesti, infuse, dan dekok (Depkes RI 2000).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstraksi (Tiwari *et al.* 2011). Pemilihan sistem pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi tersebut berdasarkan kepada kemampuan pelarut dalam melarutkan jumlah maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Depkes RI 2000).

## **2. Pengertian Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995). Berdasarkan konsistensinya ekstrak dibagi menjadi tiga macam yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air 5-30%. Sedangkan ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Hartini 2016).

## **3. Metode Maserasi**

Metode maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia dengan pelarut, dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (Depkes 2008). Prinsip dari metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Metode maserasi menggunakan pelarut etanol, karena kebanyakan golongan senyawa seperti flavonoid, fenol, terpenoid, minyak atsiri, yang larut dalam pelarut tersebut.

Maserasi dapat dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke

dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif akan larut dengan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang ada di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Maserasi memiliki keuntungan yaitu metodenya sangat sederhana dan mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya menggunakan pelarut tertentu. Sedangkan kerugiannya adalah membutuhkan waktu yang lama, dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 2000).

#### **4. Pelarut**

Pelarut adalah suatu cairan pembawa pada metode ekstraksi, pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan daya larut yang aktif, zat yang tidak aktif, serta yang tidak diinginkan tergantung pada preparat yang digunakan (Srivastava 2011). Pemilihan pelarut juga harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain : murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika kimia, bereaksi netral dan inert, tidak mudah menguap dan terbakar, serta tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Sutriani 2008).

Etanol sering digunakan sebagai cairan penyari karena lebih selektif. Kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, etanol juga tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena menghasilkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk proses identifikasi dan merupakan bahan pelarut dengan campuran etanol dan air yang menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal.

### G. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah suatu metode pemisahan senyawa dan alat yang digunakan untuk menguji senyawa kimia baik secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal atau campuran. Keuntungan dari kromatografi adalah peralatan yang di perlukan sedikit, waktu cepat, sederhana dan daya pisah yang cukup baik (Wulandari 2011).

Teknik pelaksanaan KLT diawali dengan cara menotolkan zat yang akan dipisahkan pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan, ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak di dalam *chamber*. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang sesuai (Wulandari 2011).

Parameter yang digunakan dalam KLT adalah nilai  $R_f$ , jarak yang ditempuh masing-masing komponen dirumuskan dengan :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Faktor yang mempengaruhi nilai  $R_f$  adalah struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, derajat aktivitasnya dan derajat kemurniannya, sifat dari penyerap (adsorben), kejenuhan dari uap dalam *chamber*, jumlah cuplikan yang digunakan dalam penelitian dan pelarut yang digunakan sebagai fase gerak (Akhyar 2010).

## H. Media

### 1. Pengertian

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrient) yang berguna untuk membiakan mikroba. Selain digunakan untuk membiakan mikroba, media juga dapat digunakan untuk mengisolasi mikroorganisme, membuat kultur murni, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba. Komposisi nutrisi media yang komplet mengandung sumber karbon, nitrogen, belerang, fosfat, logam mikro, vitamin, penyubur, NaCl dan air (Sutarma 2000).

### 2. Macam-macam Media

Berdasarkan bentuknya terdapat tiga macam media yang dapat dibedakan dari ada atau tidaknya bahan tambahan berupa bahan pematat seperti agar-agar atau gelatin. Bentuk media tersebut yaitu media cair, semi padat, dan padat.

**1.1 Media padat (solid medium)** merupakan media yang mengandung kurang lebih 15% agar atau zat pematat, dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan mikroalga (Suriawiria 2005).

**1.2 Media cair (liquidum medium)** merupakan media yang tidak ditamahi bahan pematat, media ini dapat berupa bahan organik atau dapat juga berupa bahan anorganik misalkan Silika gel. Media ini biasa digunakan untuk pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji (Suriawiria 2005).

**1.3 Media semi padat (semi solid medium)** merupakan media yang mengandung agar kurang lebih 0,3%-0,4%. Umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Waluyo 2004).

### 3. Klasifikasi Media Berdasarkan Fungsi

**1.1 Media pengayaan.** Media yang mengandung bahan-bahan tertentu yang di satu pihak dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu, tetapi di lain pihak sebaliknya dapat menunjang pertumbuhan bakteri tertentu lainnya. Misalnya media Muller-kauffman mengandung natrium tetrasetat yang

menunjang pertumbuhan *Salmonella* tetapi menghambat pertumbuhan *Escherichia* (Sulastrri 2009).

**1.2 Media biakan khusus (spesifik).** Merupakan media untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan-perubahan kimia tertentu misalnya, medium tetes tebu untuk *Saccharomyces cerevisiae* (Sulastrri 2009).

**1.3 Media sintetik.** Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Media sintetik disusun dari senyawa kimia yang jenis dan takarannya diketahui secara pasti, contohnya Mac Conkey Agar (MCA) (Sulastrri 2009).

**1.4 Media selektif.** Media yang memungkinkan suatu jenis mikroba tumbuh dengan pesat, sementara jenis mikroba lain terhambat. Contohnya media Salmonella Shigela Agar (SSA), Thioslphate Citrate Bile Salt (TCBS). Media selektif merupakan media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu yang akan menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan yang ada dalam suatu spesimen. Inhibitor yang digunakan berupa antibiotik, garam dan bahan-bahan kimia lainnya (Sulastrri 2009).

**1.5 Media differensial.** Media yang bila ditumbuhi oleh mikroba lain, maka mikroba tersebut akan tumbuh dengan ciri khusus sehingga dapat dibedakan. Contohnya Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dan media Sulfit Indol Motility (SIM) (Sulastrri 2009).

**1.6 Media kompleks.** Media ini mengandung nutrisi tinggi yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging atau tumbuhan, ataupun protein sederhana dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik lain yang diperoleh dari ekstrak daging atau ragi merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cair disebut *nutrient broth*, sedangkan yang ditambahkan agar disebut *nutrient agar* (Radji 2011).

## I. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan setiap proses baik fisika dan kimia yang ditujukan untuk membunuh relik yang paling tahan panas yaitu spora bakteri. Sterilisasi didesain khusus untuk dapat membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Target suatu media inaktivasi tergantung dari metode dan tipe mikroorganismenya, yaitu tergantung dari asam nukleat, protein, atau membran mikroorganisme tersebut (Pratiwi 2008).

Metode sterilisasi secara umum dibagi menjadi tiga yaitu; fisika, kimia dan mekanik (Filtrasi). Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan dan penyinaran. Prosesnya, media yang digunakan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121° C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180° C selama 2 jam, alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin. Metode sterilisasi yang kedua adalah sterilisasi secara kimia, metode ini digunakan pada alat dan bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan. Metode yang ketiga yaitu sterilisasi mekanik digunakan jika bahan mengalami perubahan terhadap panas dan tekanan, seperti *filter* (Suriawiria 2005).

## J. Tinjauan Bakteri

### 1. Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menurut NCBI (2011) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Regnum : Bakteri  
Phylum : Bakteria  
Classis : Gamma proteobacteria  
Ordo : Pseudomonadales  
Familia : Pseudomonadaceae  
Genus : Pseudomonas  
Species : *Pseudomonas aeruginosa*

## 2. Morfologi

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ . Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung (sheat), serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. *Pseudomonas aeruginosa* adalah aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media pembiakan, karena memiliki kebutuhan nutrisi yang sangat sederhana. Medium paling sederhana yang banyak digunakan terdiri dari asetat (untuk karbon) dan ammonium sulfat (untuk nitrogen). Metabolisme bersifat respiratorik tetapi dapat tumbuh tanpa  $\text{O}_2$  bila tersedia  $\text{NO}_3$  sebagai akseptor elektron (Evita 2006).

*Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu  $37\text{-}42^\circ \text{C}$ . pertumbuhannya pada suhu  $42^\circ \text{C}$  membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri ini oksidase positif, nonfermenter, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. *P. aeruginosa* menghasilkan satu atau lebih pigmen, yang dihasilkan dari asam amino aromatik seperti tirosin dan fenilalanin. Beberapa pigmen yang terbentuk yaitu; piosianin menghasilkan warna biru, pioverdine warna kuning, piorubin warna merah dan piomelanin pigmen berwarna coklat. Kebanyakan strain membentuk koloni halus bulat dengan warna fluoresensi kehijauan, yang merupakan kombinasi pioverdine dan piosianin (Evita 2006).

Pili (fimbriae) menjulur dari permukaan sel dan membantu pelekatan pada sel epitel inang. Lipopolisakarida yang terdapat dalam banyak imunitipe merupakan salah satu faktor virulensi dan juga melindungi sel dari pertahanan tubuh inang. Produk ekstraseluler yang dihasilkan berupa enzim-enzim, yaitu elastase, protease dan dua hemolisin, fosfolipase C yang tidak tahan panas dan rhamnolipid. *P. aeruginosa* resisten terhadap konsentrasi tinggi garam dan zat pewarna, antiseptik dan banyak antibiotik yang sering digunakan (Tanya & Daniel 2009).

### 3. Toksin

*Pseudomonas aeruginosa* bersifat patogen apabila masuk ke bagian yang fungsi pertahanannya abnormal, misalnya apabila selaput mukosa dan kulit robek karena kerusakan jaringan langsung, pada pemakaian kateter, atau bila terdapat netropenia, misalnya pada kemoterapi kanker. Faktor sifat yang memungkinkan organisme mengatasi pertahanan tubuh normal dan menimbulkan penyakit ialah : pili, yang melekat dan merusak membran basalis sel; polisakarida simpai, yang meningkatkan perlekatan pada jaringan tetapi tidak menekan fagositosis, suatu hemolisin yang memiliki aktivitas fosfolipasa; kolagenasa dan flagel untuk membantu pergerakan (Ahmed 2007).

Produksi enzim-enzim dan toksin-toksin yang merusak barrier tubuh dan sel-sel inang menentukan kemampuan *P. aeruginosa* menyerang jaringan. Endotoksin menyebabkan gejala sepsis dan syok septik. Eksotoksin A menghambat sintesis protein eukariotik dengan cara mengkatalis pemindahan sebagian ADP-ribosom dari NAD kepada EF-2, hasilnya adalah inaktivasi sintesis protein sehingga mengacaukan fungsi fisiologi sel normal. Enzim-enzim ekstraseluler, seperti elastase dan protease mempunyai efek hidrostoksik dan mempermudah invasi organisme ini dalam pembuluh darah (Tanya & Daniel 2009). *P.aeruginosa* dapat menimbulkan berbagai penyakit diantaranya yaitu; infeksi pada luka, luka bakar, infeksi saluran kemih, infeksi pada saluran nafas menyebabkan pneumonia, otitis eksterna ringan pada perenang dan infeksi mata (Sabdono 2012).

## K. Antibakteri

### 1. Mekanisme Antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat dibagi menjadi empat cara yaitu penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan fungsi membran sel, penghambatan sintesis protein dan penghambatan sintesis asam nukleat (Talaro 2008).



**1.1 Penghambatan terhadap sintesis dinding sel.** Dinding sel mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik di dalam dan diluar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara terus menerus mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel lemah dan menyebabkan pemecahan osmotik. Contohnya  $\beta$ -laktam, basitrasin dan vankomisin (Talaro 2008).

**1.2 Penghambatan fungsi membran sel.** Sitoplasma berfungsi sebagai barrier permeabilitas selektif, transport aktif, dan mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integrasi membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz *et al.* 2001). Antibakteri berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membran bakteri pecah dan terjadi kematian pada bakteri. Contohnya trimetropin dan sulfonamid (Talaro 2008).

**1.3 Penghambatan sintesis protein.** Pada umumnya obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom mRNA. Mekanisme kerjanya antara lain dengan menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptide. Dalam hal ini antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia, karena ukuran dan struktur ribosomnya berbeda. Contohnya kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin (Jawetz *et al.* 2001).

**1.4 Penghambatan sintesis asam nukleat.** Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Antibakteri berikatan sangat kuat pada enzim DNA dependent dan RNA polymerase bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi pada antibakteri ini dapat terjadi akibat perubahan pada RNA polymerase akibat

mutasi kromosom yang sangat sering terjadi. Contohnya kuinolon dan nitrofurantoin (Jawetz *et al.* 2001; Kemenkes 2011).

## 2. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen anti mikroba dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan badan serta jaringan, dan kepekaan suatu mikroorganisme terhadap agen tersebut. Penentuan kepekaan untuk uji antibakteri dilakukan dengan dua metode pokok, yaitu metode difusi dan metode dilusi (Jawetz *et al.* 2001).

Metode difusi merupakan metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Penetapannya dilakukan dengan prinsip mengukur luas hambatan pertumbuhan mikroba uji yang disebabkan oleh zat baku standar dalam bentuk kertas cakram dan zat yang diuji. Metode yang kedua yaitu metode dilusi, metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair dan padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Pada tahap akhir, antimikroba dilarutkan dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu dilusi car (broth dilution) dan dilusi padat (solid dilution) (Jawetz *et al.* 2001; Pratiwi 2008).

Keuntungan metode dilusi adalah dapat digunakan untuk menentukan nilai *minimal inhibitory concentration*, memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri, mudah digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba pada bakteri yang pertumbuhannya lambat dan memerlukan perlakuan khusus (Jiang 2011). Selain itu kelebihan lain dari metode dilusi adalah hanya memerlukan senyawa antimikroba dengan volume yang sangat sedikit. Sehingga sampel yang jumlahnya sedikit dapat menggunakan metode dilusi (Sarker *et al.* 2007).

## L. Landasan Teori

Kana merah (*Canna coccinea* Mill.) merupakan tumbuhan budidaya dan hampir seluruh bagian tanaman kana merah diteliti dapat digunakan untuk kebutuhan pengobatan. Khasiat dari daun kana merah antara lain adalah sebagai antidiare, antimalaria, antioksidan, hepatoprotektif, antifungi, antibakteri (Mishra *et al.* 2011). Ekstrak etanol daun kana merah terbukti memiliki khasiat sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan zona hambat sebesar 15,63 mm pada konsentrasi 100 mg/ml (Askadila 2015).

Bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) merupakan tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat sakit perut, hemostatik, antipiretik dan penghitam rambut serta pencegah rambut rontok (Dalimarta 2003). Ekstrak etanol dari bonggol pisang juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan zona hambat sebesar 18,96 mm pada konsentrasi 100 mg/ml (Ayu 2013).

Daun kana merah mengandung metabolit sekunder sebagai antibakteri yaitu alkaloid, steroid, dan tanin. Metabolit sekunder sebagai antibakteri yang dimiliki bonggol pisang kepok antara lain flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Masing-masing metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme yang berbeda-beda dalam mematikan sel bakteri.

Flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada didalam sel (Ngajow *et al.* 2013). Alkaloid merupakan senyawa basa, sehingga alkaloid dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri (Sari *et al.* 2010). Steroid bekerja dengan merusak membran sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi dari membran sel berubah sehingga menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007). Tanin bekerja dengan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna akibatnya sel bakteri dapat mengalami lisis yang berimbas pada kematian sel (Sari *et al.* 2009). Saponin bekerja dengan

menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas sel dan mengakibatkan senyawa intra sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

Terdapat tiga efek dari kombinasi kandungan kimia obat herbal yaitu efek komplementer, efek sinergis dan efek kontraindikasi (Kirana & Tan 2007). Efek komplementer merupakan suatu efek yang muncul karena adanya efek saling mendukung antara satu zat dengan zat lain dengan mekanisme yang berbeda (Pramono 2006). Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan (Pramono 2006). Kombinasi antara daun kana merah dan bonggol pisang kepok diharapkan dapat memberikan efek sinergis.

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil. berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$  (Evita 2006). Bakteri ini tidak menghasilkan spora dan tidak dapat memfermentasikan karbohidrat. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat patogen apabila masuk ke bagian yang fungsi pertahanannya abnormal. (Tanya & Daniel 2009).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode dilusi. Metode dilusi adalah metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau media padat. Metode ini, digunakan untuk menentukan kadar hambat dan kadar bunuh minimal yaitu kadar obat terendah yang masih dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri (Jawetz *et al.* 2001). Prinsip dari metode dilusi ini adalah menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat dengan menggunakan 12 tabung dengan interval pengenceran 2 kali kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (Pratiwi 2008).

### **M. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan diatas, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun kana merah (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Kombinasi dari ekstrak etanol daun kana merah (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dari pada ekstrak tunggal.
3. Dapat ditentukan perbandingan yang paling efektif dari ekstrak etanol daun kana merah (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.