

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Morfologi dan Taksonomi Namnam

Namnam berupa tumbuhan berbentuk pohon dengan tinggi 5-12 m, ranting kecil, bulat, warna coklat merah, lentisel tersebar. Daun bulat telur memanjang, daun majemuk berbaris dua, tepi daun halus, warna permukaan atas hijau tua kilat, daun muda berwarna merah muda dan lemah. Bentuk anak daun memanjang. Daun dan buah namnam dapat dilihat pada Gambar 1. dibawah. Bunga dalam tandan rapat, menempel pada batang atau cabang yang besar berwarna putih atau merah muda pucat. Buah berbentuk polongan, elips miring sampai membentuk setengah lingkaran. Permukaan buah tidak rata (bergelombang), berwarna kuning coklat. Daging buah berwarna putih, rasa manis masam (Kusuma, 1993). Menurut Kusuma (1993), kedudukan taksonomi dari Namnam dapat dilihat di bawah ini.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Klas	: Magnoliopsida
Subklas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae (Leguminosae)
Genus	: <i>Cynometra</i>
Spesies	: <i>Cynometra cauliflora</i> L.



Gambar 1. Namnam (*Cynometra cauliflora* L) (a. Pohon namnam , b. Daun namnam , c. Buah namnam) (Sumber : Raghavendra dkk.,2013)

B. Kandungan Kimia Daun Namnam

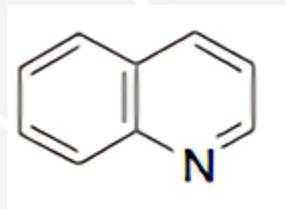
Namnam yang merupakan tanaman famili Leguminosae dilaporkan sebagai penghasil senyawa fenolik yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, anti-HIV, antibakteri, antifungal, dan antihepatotoksik (Kristanti dkk, 2006). Kandungan kimia dari daun namnam antara lain alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Aziz dkk., 2013).

1. Alkaloid

Alkaloid umumnya larut pada pelarut organik nonpolar, akan tetapi ada beberapa kelompok seperti pseudoalkaloid dan protoalkaloid yang larut pada pelarut polar seperti air. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik (Harborne, 1987). Alkaloid biasanya tak berwarna, bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar (Harborne, 1987). Pada umumnya, alkaloid larut dalam air jika berupa garam, misalnya dengan asam klorida dan asam sulfat, dan sukar larut dalam pelarut organik. Sebaliknya, bentuk basa atau

bebasnya mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air (Sirait, 2007).

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan. Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting dan kulit kayu dari tumbuh-tumbuhan. Kadar alkaloid dari tumbuhan dapat mencapai 10-15 %. Alkaloid kebanyakan bersifat racun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan (Harborne, 1984). Struktur alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.



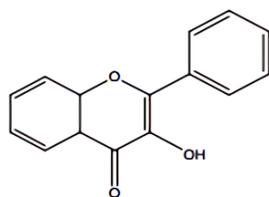
Gambar 2. Struktur Alkaloid (Sumber : Harborne, 1984)

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau. Flavonoid yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi adalah flavon dan flavenol dengan C- dan O-glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, flavenon C- dan C- glikosida (Harborne, 1998). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dengan dua cincin benzene (C_6) terikat pada satu rantai propane (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid

1,2-diarilpropan atau isofalvonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Elizabeth dkk., 2012).

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam terutama pada jaringan tumbuhan tinggi. Senyawa ini merupakan produk metabolit sekunder yang terjadi dari sel dan terakumulasi dari tubuh tumbuhan sebagai zat racun (Robinson, 1991). Menurut Markham (1988), flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil yang tak tersulih, atau suatu gula, sehingga flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan air. Flavonoid umumnya terikat pada gula sebagai glukosida dan aglikon flavonoid. Uji warna yang penting dalam larutan alkohol ialah direduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat. Diantara flavonoid hanya flavolan yang menghasilkan warna merah ceri kuat (Harborne, 1984). Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.

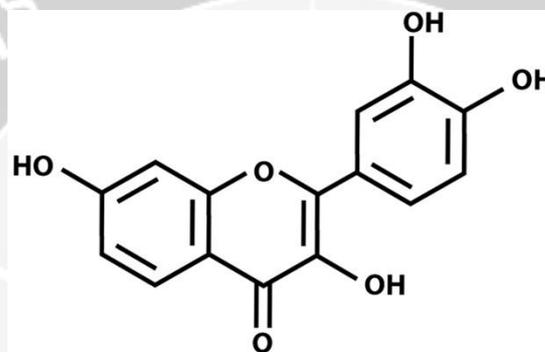


Gambar 3. Struktur flavonoid (Sumber : Harborne, 1984)

3. Terpen

Terpen adalah suatu senyawa yang tersusun atas isopren $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 (Harborne, 1987). Terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel

tumbuhan. Biasanya diekstraksi memakai petrolium eter, eter atau kloroform dan dapat dipisahkan secara kromatografi (Harborne,1987). Steroid adalah terpenoid yang kerangka dasarnya terbentuk dari sistem cincin siklopentana prehidrofenantrena. Steroid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak dimanfaatkan sebagai obat. (Djamal, 1988). Struktur terpen dapat dilihat pada Gambar 4.

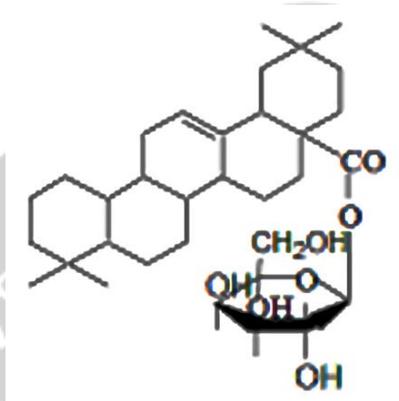


Gambar 4. Struktur terpen (Sumber : Harborne, 1987)

4. Saponin

Menurut Harborne (1984), saponin adalah glikosida triterpen dan sterol. Saponin merupakan senyawa bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa yang stabil dalam air. Menurut Robinson (1991) saponin adalah senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa. Busa terbentuk dikarenakan adanya kandungan glikosida yang memiliki kemampuan

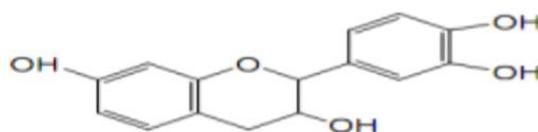
membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa (Sangi dkk, 2008). Struktur saponin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur saponin (Sumber : Robinson, 1991)

5. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan dan tersebar luas. Tanin memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat, dan mempunyai kemampuan menyamak kulit (Linggawati dkk., 2002). Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987). Struktur tanin dapat dilihat pada Gambar 6,



Gambar 6. Struktur Tanin (Sumber : Harborne, 1987).

6. Asam palmitat

Asam palmitat adalah asam lemak jenuh rantai panjang yang terdapat dalam bentuk trigliserida pada minyak nabati maupun minyak hewani disamping juga asam lemak lainnya. Minyak tersebut merupakan ester gliserol palmitat maupun ester gliserol lainnya, yang apabila disabunkan dengan suatu basa kuat, kemudian diikuti hidrolisis dengan suatu asam akan menghasilkan gliserol, asam palmitat disamping asam lemak lainnya. Asam palmitat dapat dipisahkan dari asam-asam lainnya secara destilasi fraksinasi metal ester asam lemak yang kemudian masing-masing asam lemak tersebut.

Diperkirakan kandungan palmitat dalam minyak kelapa 46% berat. Berikut ini dicantumkan beberapa sumber lain dari palmitat, diantaranya minyak sapi (46%), minyak avokat (70%) minyak kelapa (6%) juga terdapat dalam minyak wijen (45,5%), minyak jagung (30%), minyak kedelai (11-60%), minyak kemiri(10%), minyak kacang tanah (40-60%), minyak tengkawang(40%) (Ketaren, 1986). Asam palmitat memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu dengan menyerap nutrisi yang ada pada bakteri dan memiliki kapasitas untuk menghambat air dan menghalangi sistem enzim bakteri.

C. Kegunaan Daun Namnam

Namnam merupakan tanaman yang digunakan orang sebagai penghias taman. Selain itu, buah namnam banyak digunakan untuk pembuatan asinan, rujak, ataupun campuran sambal karena memiliki rasa yang asam manis dan

segar. Kayu keras pada bagian tumbuhan ini biasanya digunakan sebagai bahan baku pembuatan mainan anak-anak (Ikram dkk., 2009). Daun namnam banyak digunakan oleh masyarakat dengan cara merebus daunnya. Air dari rebusan daun ini warnanya sebagaimana air teh, tidak pekat serta terasa sebagaimana air masak biasanya. Manfaat daun namnam bagi kesehatan antara lain menghentikan diare, mengobati penyakit kencing batu, penawar darah tinggi serta kencing manis dan dapat menurunkan berat badan (Yuswandi dkk., 2010).

D. Proses Ekstraksi

Ekstrak herbal didefinisikan sebagai senyawa atau campuran senyawa yang diperoleh dari tanaman segar atau kering, atau bagian tanaman, seperti daun, bunga, biji, akar serta kulit, dengan prosedur ekstraksi berbeda (Soni dkk, 2010). Menurut Novak dkk (2008) pada umumnya tanaman herbal mengandung zat fitokimia dengan sifat antioksidan, seperti vitamin C, vitamin E, betakaroten (diubah tubuh menjadi vitamin A), dan polifenol. Ekstraksi fitokimia bahan tanaman merupakan langkah penting sebelum dilakukan proses selanjutnya.

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tumbuhan. Adapun tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam suatu sampel. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dengan perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sinambela, 2012). Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas yaitu metode refluks, sokhletasi, digesti, infudasi dan dekok. Ekstraksi secara

dingin yaitu metode maserasi dan perkolasi (Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1980).

Pengambilan ekstrak daun namnam dapat digunakan dengan beberapa metode. Penelitian ini akan melakukan ekstraksi daun namnam dengan metode maserasi untuk mengeluarkan senyawa-senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri pada daun namnam (Atikah, 2013). Menurut Sinambela (2012), maserasi merupakan proses ekstraksi dengan penghancuran sampel menggunakan pelarut, perendaman beberapa hari dan dilakukan pengadukan, kemudian dilakukan penyaringan atau pengepresan sehingga diperoleh cairan.

Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu 27 °C. Dengan perendaman sampel, akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel karena perbedaan tekanan antara di dalam dan luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Sinambela, 2012). Keuntungan maserasi adalah lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan perkolasi dan tidak memerlukan pemanasan, sedangkan kekurangannya adalah waktu yang dibutuhkan lebih lama. Fitrat yang diperoleh dari proses tersebut diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga menghasilkan ekstrak pekat (Harborne, 1996).

Beberapa contoh penggunaan teknik maserasi dalam ekstraksi fitokimia sebagai antibakteri telah banyak dilakukan salah satunya adalah penelitian yang dilakukan Rostinawati (2010), aktivitas antibakteri ekstrak herba tespong

(*Oenanthe javanuca* D.C) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Penelitian lain yang menggunakan metode maserasi adalah Yuningsih (2007), menguji daya antibakteri ekstrak daun jawer kotok menggunakan maserasi dengan variasi pelarut heksana, air dan aseton.

E. Jenis Pelarut

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etil asetat sebagai pelarut untuk ekstraksi dan Dimetil sulfooksida (DMSO) sebagai pelarut ekstrak yang dihasilkan. Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan, tak berwarna tetapi memiliki aroma yang khas. Etil asetat merupakan pelarut polar menengah yang mudah menguap, tidak beracun dan tidak higroskopis (David dkk., 1983).

Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menyari senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid pilohidroksi dan fenol yang lain. Etil asetat dapat larut dalam air hingga kelarutan 8 % pada suhu kamar yaitu 27 °C. Kelarutannya meningkat pada suhu yang lebih tinggi dari 27 °C, namun senyawa ini tidak stabil dalam air mengandung basa atau asam. Etil asetat murni memiliki densitas 0,897 gram/cm³ dan titik didih 77,1 °C. Karena memiliki titik didih yang rendah, maka etil asetat mudah menguap (David dkk., 1983).

DMSO tidak berwarna, cairan berwarna jernih hingga kuning jerami dengan bau mirip bawang putih (Silverstein dan Webster, 1998). Larutan ini stabil dalam suhu kamar yaitu 27 °C. DMSO adalah pelarut polar baik untuk

bahan yang tak jenuh, yang mengandung nitrogen dan senyawa aromatik. DMSO larut dengan air, etanol, aseton, kloroform, dietil eter, benzena, kloroform (Silverstein dan Webster, 1998)

DMSO membantu melarutkan senyawa organik yang tidak memengaruhi substrat (Fieser dan Fieser, 1967). DMSO merupakan salah satu pelarut yang tidak beracun. Dimetil sulfoksida sering digunakan sebagai pelarut reaksi untuk zat aktif sintesis dan menunjukkan kelebihan dalam berbagai reaksi termasuk alkilasi, siklisasi, eterifikasi, esterifikasi dan substitusi. Dimetil sulfoksida larut berbagai zat organik seperti karbohidrat, polimer (poliakrilonitril, polisulfon dan polietersulfon, polyetherimide, polyurethane), peptida, serta banyak garam anorganik dan gas. Dalam manufaktur, DMSO digunakan sebagai pelarut industri untuk herbisida, fungisida, antibiotik, dan hormon tanaman (Fieser dan Fieser, 1967)

F. Antibakteri dan Antibiotik

Zat antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Menurut Fardiaz (1989), zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri), fungisidal, fungistatik atau menghambat germinasi spora bakteri. Menurut Frazier dan Westhoff (1988), kemampuan suatu zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu :

1. Konsentrasi zat antibakteri
2. Suhu lingkungan
3. Waktu penyimpanan,

4. Sifat-sifat bakteri, meliputi jenis, jumlah, umur, dan keadaan bakteri
5. Sifat-sifat fisik dan kimia termasuk kadar air dan pH senyawa di dalamnya

Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi, yang memiliki manfaat dalam mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Zat-zat kimia yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi pada manusia dan harus memiliki toksisitas selektif yang tinggi (Ganiswara, 1995).

Menurut Pelczar (1988) mengemukakan pengelompokan antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu :

- a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga menghilangkan kemampuan berkembang biak dan menimbulkan lisis. Contoh : penisilin dan sefalosporin.
- b. Mengganggu keutuhan membran sel, memengaruhi permeabilitas sehingga menimbulkan kebocoran dan kehilangan senyawa intraselular. Contoh : nistatin.
- c. Menghambat sintesis protein sel bakteri, contoh : tetrasiklin, kloramfenikol dan eritromisin.
- d. Menghambat metabolisme sel bakteri, contoh : sulfonamid.
- e. Menghambat sintesis asam nukleat, contoh : rifampisin dan golongan kuinolon.

Menurut Okmen dkk (2008), berdasarkan spektrum kerjanya, antibiotik terbagi atas :

- a. Spektrum sempit, bekerja terhadap beberapa jenis bakteri saja. Contoh : penisilin hanya bekerja terhadap bakteri Gram positif dan gentamisin hanya bekerja terhadap bakteri Gram negatif.
- b. Spektrum luas, bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik Gram negatif maupun Gram positif serta jamur. Contoh : tetrasiklin dan kloramfenikol.

Sifat antibiotik sebaiknya menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak inang, bersifat bakterisidal, tidak menyebabkan resistensi pada kuman, tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu yang lama, larut di dalam air serta stabil (Murray dkk., 1990). Menurut Suprianto (2008), klasifikasi kemampuan penghambatan suatu senyawa antibakteri dapat digolongkan berdasarkan zona hambat yang terbentuk pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Kemampuan Penghambatan Senyawa Antibakteri Berdasarkan Luas Zona Hambat

Luas Zona Hambat (cm ²)	Kemampuan Penghambatan
.... > 3,14	Sangat Kuat
0,785 – 3,14	Kuat
0,196 – 0,785	Sedang
.... < 0,196	Lemah

Pada penelitian ini antibiotik yang dipakai yaitu kloramfenikol. Kloramfenikol adalah salah satu jenis antibiotika turunan amfenikol yang secara alami diproduksi oleh *Streptomyces venezuelae* (Isnaeni, 2005). Kloramfenikol bekerja pada spektrum luas, efektif baik terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibakteri

bersifat stereospesifik karena hanya satu stereoisomer yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu D(-)-treo-isomer. Mekanisme kerja kloramfenikol melalui penghambatan terhadap biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, yaitu dengan menghambat pembentukan ikatan peptida (Arlikaningrun, 2006).

Antibiotika ini mampu mengikat subunit ribosom 50-S sel bakteri target secara terpulihkan, akibatnya terjadi hambatan pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein. Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik, namun pada konsentrasi tinggi dapat bersifat bakterisidal terhadap bakteri-bakteri tertentu (Ganiswarna, 1995). Spektrum antibakteri kloramfenikol meliputi *D. pneumoniae*, *Str. pyogenes*, *Str. viridans*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Bacillus spp*, *Listeria*, *Bartonella*, *Bru-cella*, *P. multocida*, *C. diphtheriae*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia*, *Treponema* dan kebanyakan bakteri anaerob. Senyawa ini juga efektif terhadap kebanyakan galur *E. coli*, *K. pneumoniae*, dan *Pr. Mirabilis* (Ganiswara, 1995). Kloramfenikol efektif mengobati riketsia dan konjungtivitas akut yang disebabkan oleh mikroorganisme, termasuk *Pseudomonas* sp. kecuali *Pseudomonas aeruginosa*, senyawa ini juga efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh *Bacteroides fragilis* (infeksi kuman anaerob di bawah diafragma), *Haemophylus influenzae* (meningitis purulenta), *Streptococcus pneumoniae* (pneumoniae) (Arlikaningrun, 2006).

G. Jenis Bakteri Uji

Bakteri dibagi dalam 2 golongan yaitu Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap pewarnaan Gram. Perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif diperlihatkan dari perbedaan dinding sel. Dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur tebal dan kaku. Kekakuan pada dinding sel bakteri yang disebabkan lapisan peptidoglikan dan ketebalan peptidoglikan ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap lisis osmotik (Jawetz dkk, 2006).

Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lapisan peptidoglikan yang tipis, membran luar yang terdiri dari protein, lipoprotein, fosfolipid dan lipopolisakarida, daerah periplasma dan membran dalam. Bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau sedikit lapisan peptidoglikan pada dinding selnya. Selain itu dinding sel bakteri Gram negatif ini tidak mengandung asam terikat tetapi mengandung polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dari kimia (Jawetz dkk, 2006).

Penelitian ini menggunakan 2 golongan bakteri uji yaitu *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus epidermidis* yang merupakan bakteri Gram positif. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk ke dalam famili Pseudomonadaceae, bersifat Gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, dapat bergerak, aerob, umumnya mempunyai flagella polar tunggal dan tipe metabolismenya bersifat oksidatif. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh baik pada suhu di bawah 27 °C tapi dapat

pula tumbuh pada suhu 37 °C. Bakteri ini banyak ditemukan dalam air, tanah, tumbuhan, saluran usus manusia dan hewan. Hasil pengecatan Gram pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 7.

Pseudomonas aeruginosa tidak tahan terhadap kondisi panas dan keadaan kering karena struktur dinding sel bakteri ini yang mengandung lipid sehingga dengan perlakuan pemanasan dan pengeringan, bakteri jenis ini mudah untuk dicegah pertumbuhannya. Bakteri ini dapat memproduksi pigmen piosianin yang berwarna biru (Jawetz dkk., 2006). Penyebaran *Pseudomonas aeruginosa* dapat melalui aliran udara, air, tangan tercemar, penanganan alat-alat yang tidak steril di rumah sakit. Infeksi yang disebabkan bakteri ini seringkali sangat berat dan sulit diterapi karena keterbatasan kepekaan antibiotik dan perkembangan resistensi antibiotik yang sangat cepat. Hal tersebut merupakan masalah karena pola resistensi terhadap antibiotik menunjukkan peningkatan persentase resistensi pada *P. aeruginosa* terhadap tikarsilin serta cephalosporin yang biasanya digunakan sebagai antibiotik pilihan utama di rumah sakit (Aloush, 2006).

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri Gram positif, aerob atau anaerob fakultatif berbentuk bola atau kokus berkelompok tidak teratur, diameter 0,8 - 1,0 μ m tidak membentuk spora dan tidak bergerak, koloni berwarna putih bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 37 °C (Jawetz dkk, 2006). Koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* berbentuk bulat, berwarna abu-abu sampai putih dengan permukaan cembung, tidak menghasilkan pigmen, koagulasi-negatif dan tidak meragi manitol (Jawetz dkk, 2006).

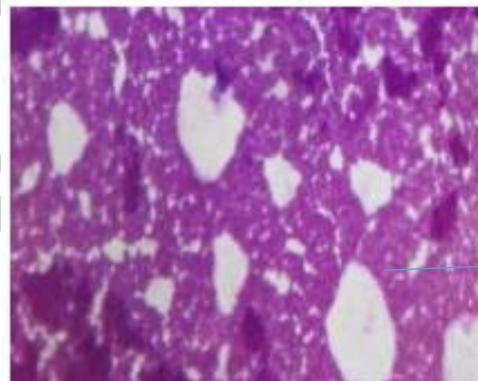
Staphylococcus epidermidis terdapat pada kulit, selaput lendir, bisul dan luka. *Staphylococcus epidermidis* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan (Jawetz dkk, 2006). Hasil pengecatan Gram pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dapat dilihat pada Gambar 8 di bawah.



Sel bakteri
*Pseudomonas
aeruginosa*

Gambar 7. Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa* (Sumber : Entjang, 2003)

Keterangan gambar : Sel bakteri berbentuk *irregular*, warna merah, berukuran 0,6 x 2 μm , sifat gram negatif.



Sel Bakteri
*Staphylococcus
epidermidis*

Gambar 8. Pewarnaan Gram *Staphylococcus epidermidis* (Sumber : Entjang, 2003)

Keterangan gambar : Bentuk bola/kokus, berwarna biru, ukuran 0,8-1,0 μm , sifat gram positif.

S. epidermidis jarang mengakibatkan infeksi yang signifikan sebelum adanya penggunaan implan kateter dan alat prostetik. Tetapi dengan peningkatan penggunaan implan kateter dan alat prostetik, *S. epidermidis*

menjadi patogen penting penyebab infeksi nosokomial. Pengobatan infeksi bakteri ini menjadi semakin sulit karena meningkatnya resistensi terhadap berbagai jenis antibakteri dan kemampuannya membentuk biofilm. Sekitar 75% isolat *S. epidermidis* telah mengalami resistensi terhadap nafcilin, oxacillin, methicillin, dan penicillin (Jawetz dkk., 2006). Tingginya angka resistensi ini akan menyulitkan dalam pengobatan infeksi dan menambah beban biaya pengobatan bagi pasien (Aloush, 2006).

H. Parameter Aktivitas Antibakteri

1. Luas Zona Hambat

Menurut Cappuccino dan Sherman (2011), metode yang umum digunakan untuk mengukur luas zona hambat adalah metode cakram. Prinsip metode cakram atau disebut metode Kirby-Bauer adalah meletakkan cakram di permukaan agar yang mengandung organisme yang diuji. Pada luasan yang telah diberi cakram antibakteri akan terdifusi sampai pada titik antibakteri tersebut tidak lagi menghambat pertumbuhan bakteri. Efektivitas antibakteri ditunjukkan oleh zona hambat. Zona hambat tampak sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antibakteri terdifusi. Diameter zona bening ini selanjutnya diukur untuk menghasilkan hasil eksperimen yang disebut satu antibiogram (Cappuccino dan Sherman, 2011).

2. Konsentrasi Hambat Minimum

Menurut Pratiwi (2008), metode uji dilusi cair/*broth dilution test* digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) merupakan konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri yang diuji. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

I. Deskripsi GCMS

GCMS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit (Adams, 1995).

Gas kromatografi merupakan salah satu teknik spektroskopi yang menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Gas kromatografi biasa digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terdapat pada campuran gas dan juga menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam fase gas (Adams, 1995).

Spektroskopi massa adalah suatu metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang muatannya diketahui dengan mengukur jari-jari orbit melingkarnya dalam medan magnetik seragam. Penggunaan kromatografi gas dapat dipadukan dengan spektroskopi massa. Paduan keduanya dapat menghasilkan

data yang lebih akurat dalam pengidentifikasian senyawa yang dilengkapi dengan struktur molekulnya (Vanden dan Kratz, 1963).

Kromatografi gas ini juga mirip dengan distilasi fraksional, karena kedua proses memisahkan komponen dari campuran terutama berdasarkan pada perbedaan titik didih (atau tekanan uap). Namun, distilasi fraksional biasanya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dari campuran pada skala besar, sedangkan GC dapat digunakan pada skala mikro (Adams, 1995).

Prinsip kerja Kromatografi Gas (GC) merupakan jenis kromatografi yang digunakan dalam kimia organik untuk pemisahan dan analisis. GC dapat digunakan untuk menguji kemurnian dari bahan tertentu, atau memisahkan berbagai komponen dari campuran. Dalam beberapa situasi, GC dapat membantu dalam mengidentifikasi sebuah senyawa kompleks (Vanden dan Kratz, 1963).

Dalam kromatografi gas, fase yang bergerak (atau "mobile phase") adalah sebuah operator gas, yang biasanya gas murni seperti helium atau yang tidak reaktif seperti gas nitrogen. *Stationary* atau fase diam merupakan tahap mikroskopis lapisan cair atau polimer yang mendukung gas murni, di dalam bagian dari sistem pipa-pipa kaca atau logam yang disebut kolom. Instrumen yang digunakan untuk melakukan kromatografi gas disebut gas *chromatograph* (atau "aerograph", "gas pemisah") (Vanden dan Kratz, 1963).

Umumnya spektrum massa diperoleh dengan mengubah senyawa suatu sampel menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan

berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan. Spektroskopi massa mampu menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilah ion tersebut menjadi spektrum yang sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan dan merekam kelimpahan relatif tiap jenis ion yang ada. Umumnya hanya ion positif yang dipelajari karena ion negatif yang dihasilkan dari sumber tumbukan umumnya sedikit (Vanden dan Kratz, 1963).

Saat GC dikombinasikan dengan MS, akan didapatkan sebuah metode analisis yang sangat bagus. Peneliti dapat menganalisis larutan organik, memasukkannya ke dalam instrumen, memisahkannya menjadi komponen tunggal dan langsung mengidentifikasi larutan tersebut. Selanjutnya, peneliti dapat menghitung analisis kuantitatif dari masing-masing komponen (Vanden dan Kratz, 1963). Pada metode analisis *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS) untuk perhitungan masing-masing metode dapat divisualisasikan ke dalam grafik dua dimensi adalah dengan membaca spektra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut (Vanden dan Kratz, 1963).

Pada spektra GC jika terdapat bahwa dari sampel mengandung banyak senyawa, yaitu terlihat dari banyaknya puncak (*peak*) dalam spektra GC tersebut. Berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa yang ada dalam sampel. Selanjutnya adalah dengan memasukkan senyawa yang diduga tersebut ke dalam instrumen spektroskopi massa. Hal ini dapat dilakukan karena salah satu kegunaan dari kromatografi gas adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa dari suatu

sampel. Setelah itu, didapat hasil dari spektra spektroskopi massa pada grafik yang berbeda (Vanden dan Kratz, 1963).

Informasi yang diperoleh dari kedua teknik ini yang digabung dalam instrumen GCMS adalah tak lain hasil dari masing-masing Kromatogram. Untuk kromatogram GC, informasi terpenting yang didapat adalah waktu retensi untuk tiap-tiap senyawa dalam sampel. Sedangkan untuk fragmen MS, bisa diperoleh informasi mengenai massa molekul relatif dari senyawa sampel tersebut (Adams, 1995).

J. Hipotesis

1. Ekstrak etil asetat daun namnam memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Stahylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Konsentrasi 80% menghasilkan luas zona hambat optimum untuk menghambat pertumbuhan *Stahylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang dimiliki oleh ekstrak etil asetat daun namnam adalah 40 mg/ml.