

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Tanaman Pisang Klutuk

Pisang merupakan salah satu buah yang tumbuh subur di kawasan Indonesia. Tanaman ini tidak memiliki musim sehingga dapat berbuah sepanjang musim, memiliki jenis yang beraneka ragam dan tanaman ini mudah tumbuh. Salah satu jenis pisang yang tumbuh di Indonesia adalah pisang klutuk (Tambah, 2011).

Seperti jenis pisang yang lain pisang ini juga mengandung zat gizi yang relatif banyak, seperti karbohidrat, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin B dan vitamin C. Dibandingkan dengan jenis pisang yang lain, pisang klutuk kurang dimanfaatkan, karena bijinya yang banyak dan mengganggu proses pengunyahan di mulut, meskipun dari segi kemanisan lebih tinggi (Tambah, 2011). Tanaman pisang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat secara luas untuk memenuhi kebutuhan hidup, mulai dari buah, pelepah, hingga akar tanamannya.

Tanaman ini memiliki pelepah yang membentuk batang semu yang secara umum digunakan sebagai soda dalam pembuatan sabun dan dapat pula digunakan sebagai pupuk tanaman. Air yang terkandung pada batang semu tanaman ini juga memiliki dapat digunakan sebagai obat yang digunakan untuk penyembuhan penyakit misalnya pendarahan pada usus, amandel, disentri, penyubur rambut dan sebagai obat kumur. Metode pengobatan semacam ini telah digunakan sejak turun – temurun oleh

nenek moyang. Selain itu batang semu yang masih muda dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan (Cahyono, 2013).

Batang dari pohon pisang ini dapat digunakan sebagai bahan pangan di beberapa daerah di Indonesia. Selain itu batang pisang dapat dijadikan pakan ternak pada saat musim kering dan sebagai bahan baku pembuatan pupuk kompos (Munadjim, 1984). Secara ilmiah diketahui bahwa pelepah pisang memiliki kandungan antifungi dan antibiotik. Kandungan dari antifungi dan antibiotik ini telah diidentifikasi mengandung neurotransmitter, norepinefrin, serotonin dan dopamine. Batang pisang diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan dan beberapa aktivitas biologis seperti antidiabetes, antidiare, antitumor, antimutagenik, antihelminik dan antiulserogenik (Kumar dkk., 2012).

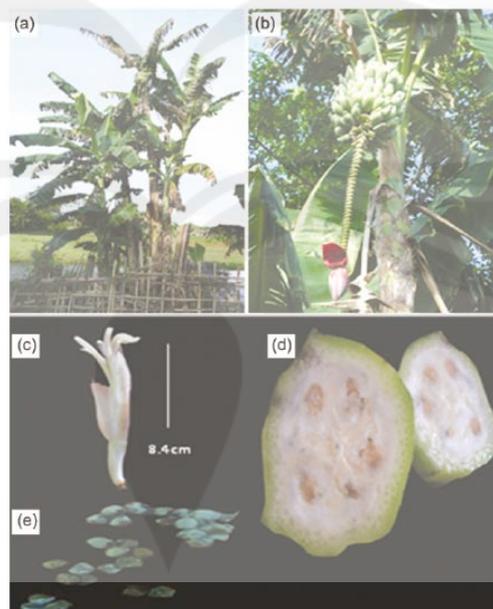
Pisang klutuk (*Musa balbisiana* Colla) (Gambar 1) merupakan tanaman yang termasuk ke dalam suku Musaceae dan dapat tumbuh di alam bebas. Tanaman yang termasuk ke dalam grup genom BB ini dikategorikan sebagai salah satu tanaman asli yang belum mengalami persilangan. Tanaman pisang ini memiliki genom AA (Borborah dkk., 2016).

Pisang klutuk dapat tumbuh tinggi dan panjang dari batang semuanya dapat mencapai tinggi 7,5 m, selubung daun dari tanaman ini merupakan pembentuk pelepah pisang, tunas biasanya tumbuh tak jauh dari tanaman induk umumnya tunas tumbuh sekitar 6–10 disekitar tanaman induk, tanaman yang telah dewasa umumnya memiliki tinggi

yang dapat mencapai 6,25 – 7, 20 m dan dengan diameter yang dapat mencapai 40,5. Pada bagian dasar tanaman ini memiliki warna hijau muda yang memiliki selubung yang berkilin, dan memiliki warna merah muda keungunan pada bagian luar, bagian luar yang licin dengan getah yang agak berair. Pelepah daun dapat tumbuh hingga sepanjang 71 cm. Buah bertumbuh melengkung ke arah pelepah (Borborah dkk., 2016).

Klasifikasi dari pisang klutuk menurut Borborah dkk. (2016) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Scitaminae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Musaceae
Marga	: <i>Musa</i>
Jenis	: <i>Musa balbisiana</i> Colla
Nama lokal	: Pisang batu, pisang klutuk.



Gambar 1. Pisang klutuk (*Musa balbisiana* Colla) (Keterangan: a. Pisang klutuk, b. Pisang klutuk jantan yang telah berbuah, c. bunga jantan, d. buah pisang yang belum matang, e. Biji pisang klutuk) (Sumber: Borborah dkk., 2016).

Menurut Munadjim (1984), tanaman pisang memiliki banyak kegunaan, hal ini dikarenakan tanaman pisang dapat digunakan secara keseluruhan mulai dari daun hingga akar tanaman tersebut. Umbi batang atau yang lebih sering dikenal dengan bonggol pisang dapat digunakan sebagai sumber karbohidrat. Umbi ini juga dapat dikeringkan menjadi abu. Abu yang dihasilkan ini mengandung soda yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan sabun dan pupuk.

B. Kandungan Kimia Batang Semu Pisang Klutuk

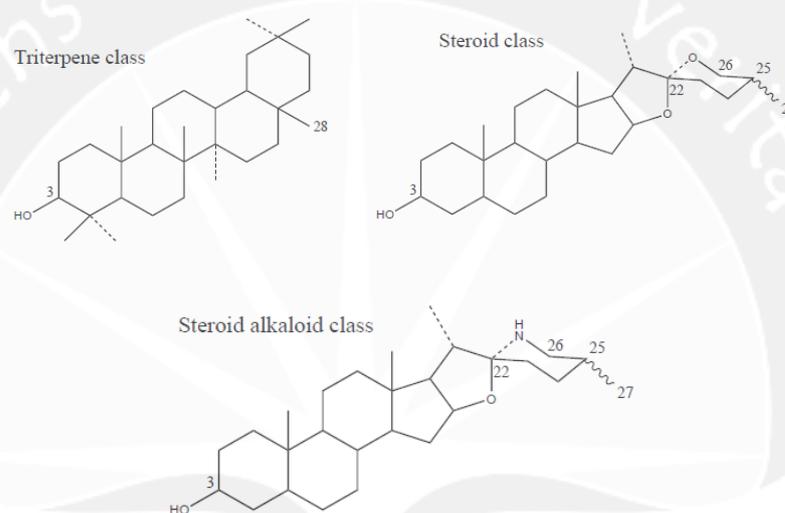
Penelitian yang telah dilakukan oleh Ningtyas (2012), bahwa ekstrak batang semu pisang klutuk mengandung beberapa jenis fitokimia diantaranya saponin, flavonoid dan tanin.

1. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpen dan sterol. Selain itu saponin umumnya terbagi atas beberapa kelas berdasarkan perbedaan struktur aglikonnya (Gambar 2). Saponin memiliki sifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa stabil ketika dilarutkan dengan air dan menghomolisis sel darah merah (Harborne, 1984). Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang diketahui memiliki aktivitas biologi yang bermanfaat, salah satunya sebagai antimikrobia (Prihatman, 2001).

Saponin paling tepat diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70–95% atau metanol. Ekstrak saponin akan lebih banyak

dihasilkan jika ekstraksi dengan menggunakan metanol dikarenakan saponin bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut dibandingkan dengan menggunakan pelarut selain metanol. Isolasi senyawa saponin dapat dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan lempeng silika gel dan eluen campuran kloroform, metanol dan air (Harborne, 1987).

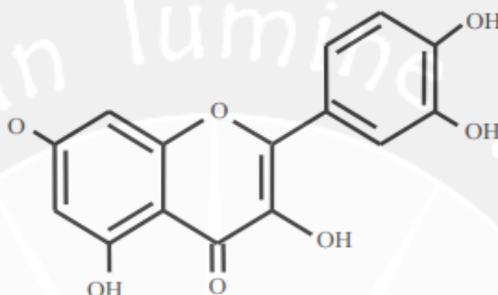


Gambar 2. Tipe rangka struktur saponin yang dapat ditemukan pada tiga kelas saponin yang berbeda berdasarkan struktur aglikonya (Sumber : Madlan, 2013).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang termasuk dalam golongan fenol yang terdapat di dalam semua tumbuhan yang memiliki pembuluh. Berdasarkan struktur yang dimilikinya flavonoid merupakan senyawa dari turunan senyawa flavon. Flavonoid memiliki atom karbon di dalam inti dasarnya yang tersusun pada konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Gambar 3).

Seluruh jenis dari flavonoid saling berkaitan dikarenakan alur biosintesis yang berasal dari jalur sikimat dan alur asetat malonat. Senyawa ini umumnya terikat sebagai glikosida, baik O-glikosida maupun C-glikosida (Harborne, 1998).



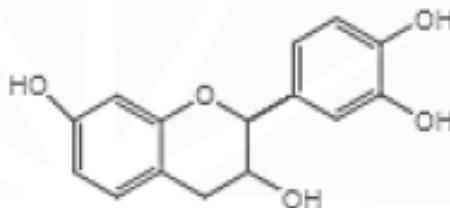
Gambar 3. Kerangka C₆ – C₃ – C₆ flavonoid (Sumber : Redha, 2010).

3. Tanin

Tanin termasuk senyawa polifenol alami yang mengandung gugus hidroksi fenolik dan karboksil dengan bobot molekul antara 300–5000 Dalton. Tanin memiliki sifat utama yaitu dapat berinteraksi dengan protein dan menghasilkan ikatan yang sangat kuat. Ikatan antara tanin dan protein sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Senyawa tanin terdiri atas katekin, leukoantosianin, dan asam hidroksi (asam galat, asam kafeat, dan klorogenat) serta ester dari asam–asam tersebut yaitu, 3–galoilepikatekin, 3–galoilgalokatekin, dan fenil kafeat. (Mangunwardoyo dkk., 2009). Struktur dari senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 4.

Menurut Juliantina dkk. (2009), tanin memiliki toksisitas yang dapat merusak membran sel bakteri. Sementara itu menurut Purwanti

(2007), senyawa tanin dapat menghambat sel bakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat fungsi dari selaput sel, dan menghambat sintesis nukleat. Menurut Ummah (2010), senyawa tanin dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel dari bakteri, inaktivasi enzim–enzim esensial dan destruksi atau inaktivasi fungsi dan materi genetik. Adanya kandungan tanin juga dapat menyebabkan penghambatan metabolisme sel, mengganggu sintesis dinding sel, dan protein yang mengganggu aktivitas enzim.



Gambar 4. Struktur senyawa tanin (Sumber: Robinson, 1995)
Keterangan: terdapat ikatan rangkap dua yang terkonjugasi pada polifenol dan memiliki gugus OH.

C. Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan istilah yang umum digunakan pada bidang ilmu farmasi yang meliputi separasi senyawa aktif yang didapat dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan menggunakan pelarut umum yang sering digunakan pada proses standar ekstraksi (Handa dkk., 2008). Menurut Fauzi (2012), ekstraksi merupakan suatu cara yang melibatkan perpindahan senyawa dari suatu padatan atau cairan ke cairan lain yang memiliki fungsi sebagai pelarut. Prinsip dasar dari ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan. Pemisahkan zat terlarut dari fase padatan maka fase

padat perlu dikontakkan dengan fase cair. Kontaknya kedua fase tersebut dapat menyebabkan kandungan zat dari fase padat dapat berdifusi ke fase cair sehingga terjadi pemisahan komponen dari zat padat.

Proses ekstraksi dapat melalui empat tahapan yaitu pembuatan serbuk, pembasahan, penyarian dan pemekatan. Jenis pelarut yang digunakan saat melakukan ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif yang diinginkan dan seminimal mungkin untuk zat yang tidak diinginkan (Departemen Kesehatan RI, 2000). Secara umum, ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode dengan ekstraksi bertingkat atau dengan ekstraksi tunggal (Harborne, 1987).

Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang akan digunakan akan memengaruhi hasil dari kandungan senyawa metabolit yang akan didapatkan. Pemilihan pelarut pada saat ekstraksi secara umum menggunakan prinsip *like dissolves like*, yang berarti senyawa non polar akan larut pada larutan nonpolar, begitu pula senyawa polar akan larut pada larutan yang bersifat polar (Siedel, 2008).

Maserasi merupakan salah satu metode sederhana yang paling banyak digunakan untuk melakukan proses ekstraksi. Cara ini sesuai dan dapat digunakan untuk skala kecil maupun skala besar (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan tanaman yang sebelumnya telah dibuat menjadi serbuk kemudian ditambahkan dengan

pelarut yang akan digunakan. Campuran antara serbuk sampel dan pelarut kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat dan ditempatkan pada suhu kamar (37 °C) (Mukhriani, 2014).

Proses ekstraksi dapat dihentikan ketika kesetimbangan telah terjadi antara konsentrasi senyawa di dalam pelarut dengan konsentrasi pada sel tanaman. Pelarut kemudian dapat dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari proses ekstraksi dengan metode maserasi ini ialah memakan waktu yang lama, pelarut yang digunakan cukup banyak dan kemungkinan untuk kehilangan beberapa senyawa cukup tinggi. Selain itu, beberapa senyawa yang kemungkinan terkandung bisa saja sulit diekstraksi pada suhu kamar (37 °C). Keuntungan yang didapatkan dengan menggunakan ekstraksi dengan metode ini ialah dapat menghindari kerusakan senyawa yang memiliki sifat termolabil (tidak tahan terhadap suhu tinggi) (Mukhriani, 2014).

D. Jenis Pelarut

Jenis dan mutu pelarut yang dapat digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan, memiliki titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan tidak mudah terbakar. Pelarut yang memiliki sifat polar dapat mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut yang bersifat semi polar dapat mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon

dan glikosida. Pelarut nonpolar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

Metanol (CH_3OH) atau yang sering juga disebut dengan metil alkohol merupakan pelarut yang tidak memiliki warna. Menurut sejarahnya, metanol disebut sebagai alkohol kayu (Fessenden dan Fessenden, 1997). Etil asetat merupakan senyawa organik yang memiliki rumus kimia $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ (David dkk., 1983).

Etil asetat merupakan ester dari senyawa etanol dan asam asetat. Etil asetat memiliki wujud fisik cairan, tak berwarna akan tetapi memiliki aroma yang khas. Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mudah menguap, bersifat tidak toksik dan tidak higroskopis (David dkk., 1983).

Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut dikarenakan etil asetat dapat menyari senyawa seperti flavonoid pilohidroksi dan beberapa jenis fenol lainnya. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 30% dan dapat larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu 27°C . Kelarutan senyawa ini dapat meningkat pada suhu yang lebih tinggi, akan tetapi senyawa ini tidak stabil pada air yang mengandung asam atau basa (David dkk., 1983).

Pada penelitian ini pelarut yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak kental ialah dimetil sulfooksida (DMSO) yang merupakan larutan bening hingga berwarna kuning jerami dengan bau seperti bawang putih. Suhu stabil larutan ini pada suhu 27°C . DMSO merupakan pelarut polar yang baik untuk bahan yang tak jenuh, mengandung nitrogen dan senyawa

aromatik. DMSO dapat larut dalam air, etanol, aseton, kloroform, dietil eter, benzena, dan kloroform (Silverstein dan Webster, 1998).

Pelarut DMSO dapat membantu melarutkan senyawa organik dan tidak memengaruhi substrat. Pelarut DMSO sering digunakan sebagai pelarut reaksi untuk zat aktif sintetis dan dapat menunjukkan kelebihan dalam berbagai reaksi seperti alkilasi, siklisasi, eterifikasi, esterifikasi, dan substitusi. Pelarut DMSO dapat melarutkan berbagai zat seperti karbohidrat, polimer (poliakrilnitril, polisulfon dan polietersulfon, polyetherimide, polyurethane), peptida, serta banyak garam anorganik dan gas. Dalam bidang industri, DMSO digunakan sebagai pelarut herbisida, fungisida, antibiotik, dan hormon tanaman (Fieser dan Fieser, 1967).

E. Antibakteri dan Antibiotik

Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan bagi manusia. Zat mikrobial harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya zat tersebut harus bersifat toksik bagi bakteri merugikan tetapi tidak membahayakan bagi inang (hospes) (Ganiswara, 1995). Aktivitas senyawa antibakteri diklasifikasikan ke dalam tiga golongan yang berbeda yaitu bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (lisis sel) berdasarkan efek yang ditimbulkan menggunakan cara visual dan uji pertumbuhan turbidimetrik (Madigan dkk., 2015).

Senyawa antibakteri yang termasuk ke dalam bakteriostatik menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat proses biokimia

penting seperti sintesis protein dan terikat lemah pada bakteri. Jika senyawa antibakteri dihilangkan maka bakteri akan dapat bertumbuh kembali. Banyak golongan antibiotik yang termasuk ke dalam kategori ini (Madigan dkk., 2015).

Senyawa antibakteri golongan bakteriosidal terikat kuat ke bakteri target yang dituju dan dapat membunuh sel bakteri. Akan tetapi sel dari bakteri tidak mengalami lisis, dan jumlah sel total, yang biasanya ditunjukkan dari kekeruhan kultur bakteri, tetap konstan. Formaldehid merupakan salah satu contoh dari senyawa antibakteri yang termasuk golongan bakteriosidal (Madigan dkk., 2015).

Senyawa antibakteri golongan bakteriolitik membunuh sel bakteri dengan melisiskan sel bakteri dan melepaskan kandungan sitoplasmik dari bakteri tersebut. Lisis yang disebabkan antibakteri bakteriolitik menurunkan baik jumlah sel yang ada dan jumlah total sel bakteri keseluruhan. Contoh dari senyawa bakteriolitik ini ialah senyawa yang akan merusak membran sitoplasma dari suatu bakteri (Madigan dkk., 2015).

Antibakteri yang digunakan pada penelitian adalah ampisilin. Ampisilin merupakan antibiotik β -laktam yang telah digunakan sejak lama untuk mengatasi masalah infeksi sejak 1961. Ampisilin merupakan antibiotik dengan spektrum luas. Ampisilin mampu menembus bakteri Gram positif dan beberapa bakteri Gram negatif (Ashnagar dan Naseri, 2007).

Antibiotik β -laktam merupakan jenis antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel. Jenis antibiotik yang termasuk ke dalam jenis ini ialah penisilin (penisilin, ampisilin, oxasilin), sefalosporin (cefazolin, cefoxitin, ceftriaxone, cefepime) dan carbapenems (imipenem). Antibiotik jenis ini memiliki derivat alami dan semi sintetis yang membentuk cincin karbonil laktam yang memiliki molekul azetidion. Antibiotik jenis ini dapat menghambat bakteri aerobik dan anaerobik, bakteri Gram positif dan Gram negatif. Target dari antibiotik ini ialah mengikat protein dari bakteri. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel dan pembelahan sel bakteri (Kohanski dkk., 2010).

F. Jenis Bakteri Uji

Bakteri merupakan sel prokariotik dan uniseluler. Bakteri memiliki ciri yang berbentuk kokus, batang atau spiral. Bakteri memiliki ukuran diameter antara 0,5–1,0 μm dan panjang 1,5–2,5 μm . Reproduksi dilakukan dengan aseksual dengan pembelahan biner. Beberapa spesies/genus dapat tumbuh pada suhu 0 °C, ada pula yang tumbuh baik pada sumber air panas yang suhunya 90 °C atau bahkan lebih. Sebagian besar dari bakteri ini tumbuh pada berbagai suhu di antara kedua suhu ekstrim ini. Bakteri dapat menyebabkan berbagai perubahan kimiawi substansi pada pertumbuhannya dan dapat menguraikan berbagai substansi (Pelczar dan Chan, 1981).

Bakteri terbagi ke dalam dua kelompok utama berdasarkan responnya terhadap pewarnaan Gram (Allen, 1995). Perbedaan antara

bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif terletak pada susunan kimia dinding selnya. Pada bakteri Gram positif dinding selnya tersusun dari peptidoglikan dan beberapa komponen khusus yang berupa asam – asam teikhoat dan teikhuronat serta polisakarida. Dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas peptidoglikan dan beberapa komponen khusus yang berupa lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida (Jawetz dkk., 1996).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, memiliki bentuk batang (rod) (Gambar 5), memiliki koloni bakteri berwarna putih (Gambar 6) dan termasuk ke dalam famili Pseudomonadaceae. *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang secara umum dapat ditemukan pada tanah dan air. *P. aeruginosa* memiliki ukuran antara 0,5 – 0,8 μm . Hampir seluruh galur dari bakteri ini merupakan bakteri motil (Todar, 2012).



Gambar 5. Pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Keterangan : memiliki bentuk rod dan Gram negatif (Sumber: Todar, 2012).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang dapat tumbuh dengan nutrisi yang sedikit. Suhu yang optimal untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 37 °C dan dapat tumbuh hingga suhu 42 °C. Bakteri ini memiliki

toleransi yang tinggi terhadap keadaan sekitarnya, termasuk perubahan suhu lingkungannya. Bakteri ini resisten terhadap lingkungan dengan konsentrasi garam yang tinggi, antiseptik lemah dan beberapa antibiotik yang umum digunakan. Bakteri ini memiliki bentuk koloni bakteri yang kecil dan kasar. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi yang cukup serius pada pasien yang menderita kanker, fibrosis sistik dan luka bakar. Infeksi yang disebabkan dapat menyebabkan kematian pada pasien sekitar 50 % (Todar, 2012).

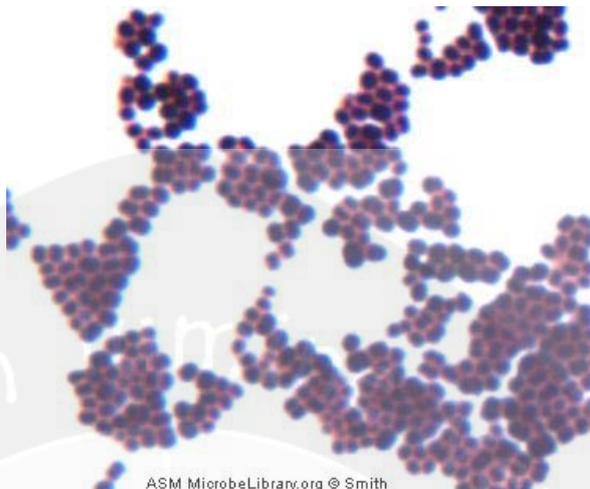


Gambar 6. Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
Keterangan: koloni berwarna putih, didapatkan dengan metode *streak plate*
(Sumber gambar : Todar, 2012).

Genus *Staphylococcus* merupakan bakteri patogen yang terdapat pada manusia dan hewan. Infeksi yang disebabkan bakteri ini umumnya terjadi pada bagian kulit dan luka. *Staphylococcus* termasuk ke dalam bakteri Gram positif. Bakteri ini tidak membentuk spora tetapi tahan terhadap lingkungan yang kering dan dapat tersebar bersama debu yang terdapat pada udara sekitar dan pada permukaan benda (Madigan dkk., 2003).

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri Gram positif bersifat anaerob fakultatif berbentuk bola atau kokus, berkelompok tidak teratur, memiliki diameter 0,8–1,0 μm , tidak membentuk spora, tidak bergerak (motil), memiliki koloni berwarna putih, suhu optimum pertumbuhan bakteri ini pada suhu 37 °C. Koloni bakteri ini berbentuk bulat halus, menonjol, berkilau, tidak menghasilkan pigmen warna, berwarna putih porselen, memiliki koagulasi negatif dan tidak dapat memfermentasi manitol. Bakteri ini terdapat pada kulit, selaput lendir, bisul dan luka. Bateria ini dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya dalam berkembang dan memperbanyak diri pada jaringan terutama yang terinfeksi (Jawetz dkk., 2006).

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri Gram–positif (Gambar 7) dan merupakan bakteri nonmotil. Koloni bakteri ini memiliki bentuk bulat halus, dan berwarna putih pucat. Bakteri ini dapat memfermentasi glukosa, fruktosa, maltosa, sukrosa, trehalos dan gliserol. Katalase positif, bakteri ini memiliki suhu tumbuh optimum pada 37 °C , memiliki toleransi yang tinggi terhadap garam, cenderung lebih parasitis dibandingkan dengan patogenik yang berarti dapat tumbuh dengan mudah dimana saja, bersifat koagulasi negatif, pada kondisi anaerobik dapat memfermentasi glukosa akan tetapi tidak dapat memfermentasi manitol. Bakteri ini awalnya diisolasi dari luka jahit atau dari luka lainnya yang terdapat di kulit, umumnya bakteri ini terdapat pada kulit dan membran lendir pada manusia dan hewan (Breed dkk., 1957).



Gambar 7. Pewarnaan Gram *Staphylococcus epidermidis*
Keterangan gambar: perwarnaan Gram *S. epidermidis* berwarna akhir ungu (Sumber: Smith dan Hussey, 2005).

G. Parameter Aktivitas Antibakteri

Terdapat 2 parameter yang digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri yang digunakan pada umumnya yaitu Luas zona hambat dan konsentrasi hambat minimum.

1. Luas Zona Hambat

Metode yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri ialah metode sumuran, yaitu metode yang dilakukan dengan membuat sumuran/melubangi agar lalu ditambahkan dengan senyawa yang akan diujikan. Metode sumuran ini dilakukan dengan membuat lubang pada agar yang telah memadat dan telah diinokulasi dengan menggunakan bakteri uji. Jumlah dan posisi dari sumuran disesuaikan dengan tujuan dari penelitian, setelah sumuran dibuat lalu sumuran diisi dengan menggunakan senyawa uji yang digunakan. Setelah diinkubasi lalu zona bening yang terbentuk diamati (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

2. Konsentrasi Hambat Minimum

Aktivitas antimikrobia didapatkan dengan menentukan konsentrasi terkecil dari suatu senyawa (agen) yang dapat menghambat pertumbuhan suatu bakteri, yang dikenal dengan konsentrasi hambat minimum (KHM). Agar dapat menentukan KHM, suatu senyawa diberikan pada bakteri uji yang telah ditumbuhkan pada medium cair, tabung dibuat dengan seri pengenceran lalu ditambahkan senyawa tertentu. Setelah inkubasi, tabung lalu diurutkan berdasarkan pertumbuhan bakteri (berdasarkan kekeruhan), dan KHM merupakan konsentrasi terendah dari suatu senyawa yang dapat benar-benar menghambat pertumbuhan bakteri pada uji yang telah dilakukan (Madigan dkk., 2015).

Aktivitas antimikrobia juga dapat ditentukan dengan menggunakan medium agar. Sejumlah antimikrobia yang telah ditentukan dimasukkan ke dalam sumuran, pada agar petri yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Selama proses inkubasi berlangsung, senyawa antimikrobia yang terdapat pada sumuran akan berdifusi ke agar. Zona bening (zona inhibisi) membentuk diameter yang sesuai dengan jumlah antimikrobia yang ditambahkan ke sumuran, kelarutan dari senyawa antimikrobia, koefisien kemampuan difusi, dan efektivitas dari senyawa antimikrobia (Madigan dkk., 2015).

H. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis atau KLT merupakan salah satu teknik separasi yang umum digunakan oleh para peneliti. Sampel atau cuplikan yang akan dipisahkan akan terdistribusi menjadi 2 fase yaitu fase gerak dan fase diam sehingga akan terdistribusi menjadi komponen – komponen tunggal (Stoenoiu dkk., 2006). Secara umum KLT banyak digunakan untuk analisis fitokimia tumbuhan. Penciri yang digunakan umumnya ialah kromatogram. Kromatogram yang umumnya dihasilkan berupa gambar yang merupakan pola yang menunjukkan senyawa yang terdapat di dalam suatu tumbuhan (Puspita, 2009).

Fase gerak merupakan medium pengangkut yang ditotolkan pada plat KLT guna untuk memisahkan komponen – komponen sampel yang secara umum terdiri atas satu atau beberapa campuran pelarut. Pelarut yang digunakan sebagai fase gerak merupakan pelarut bertingkat mutu analitik dan jika diperlukan sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran larutan yang sesederhana mungkin (Nyiredy, 2002).

Menurut Stahl (1985), eluen atau fase gerak yang digunakan dalam KLT terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu untuk pemisah senyawa hidrofil dan senyawa lipofil. Eluen yang digunakan untuk pemisahan senyawa hidrofil mencakup air, metanol, asam asetat, etanol, isopropanol, aseton, *n*-propanol, *tert*-butanol, dan fenol. Eluen pemisahan senyawa lipofil

mencakup etil asetat, eter, kloroform, benzene, toluena, sikloheksana dan petroleum eter.

Terdapat beberapa faktor yang menunjang teknik KLT diantaranya:

1. Fase diam

Ukuran dari partikel penunjang dalam fase diam memiliki peran yang penting, semakin kecil dan seragam partikel maka akan meningkatkan daya pemisahan, fase diam yang umumnya digunakan pada metode KLT ialah silika gel. Hal ini dikarenakan silika memiliki kemampuan untuk memisahkan yang sangat baik (Nyireddy, 2002).

2. Penotolan cuplikan

Penotolan cuplikan dapat dilakukan secara manual ataupun otomatis dengan menggunakan alat bantu. Agar didapatkan resolusi yang optimum maka penotolan sampel haruslah sekecil mungkin agar didapatkan hasil yang baik (Koll dkk., 2003).

3. Fase gerak

Pemilihan fase gerak dalam teknik KLT merupakan salah satu hal yang penting dan harus diperhatikan. Fase gerak dipilih berdasarkan absorben yang digunakan pada fase diam dan struktur kimia yang akan dipisahkan. Selain itu, komposisi yang digunakan dalam fase gerak harus sesederhana mungkin (Koll dkk., 2003).

Fase gerak merupakan pelarut yang digunakan untuk memisahkan komponen pada proses KLT yang terdiri dari satu atau beberapa

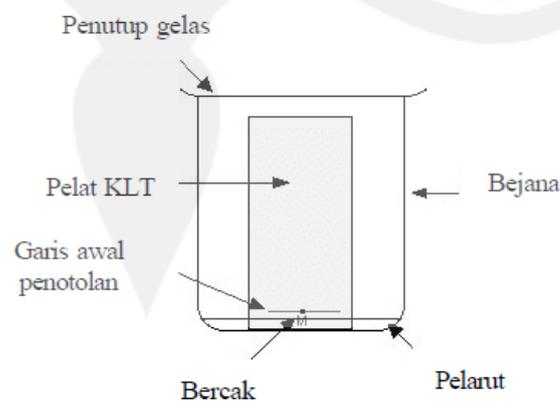
pelarut. Fase gerak dapat memisahkan komponen pada fase diam dikarenakan adanya gaya kapiler. Pelarut yang umumnya digunakan sebagai fase gerak ialah pelarut bertingkat mutu analitik dan apabila diperlukan sistem pelarut multikomponen ini harus berupa campuran larutan yang sesederhana mungkin (Nyiredi, 2002).

4. Bejana kromatografi

Terdapat berbagai macam jenis bejana kromatografi yang dapat digunakan, penggunaan bejana dalam proses KLT umumnya disesuaikan dengan metode yang akan digunakan (Koll dkk., 2003)

5. Skrining

Dalam pengendalian mutu obat, skrining sangat diperlukan untuk memunculkan komponen yang telah dipisahkan dan memberikan hasil spesifik dari analisis. Skrining dapat dilakukan dengan pencelupan ataupun penyemprotan suatu reagen (Koll dkk., 2003). Pada Gambar 8 menunjukkan posisi dari totolan sampel, posisi lempeng dalam bejana serta ketinggian eluen dalam bejana :



Gambar 8. Bejana kromatografi yang berisi pelat KLT dan fase gerak (larutan pengembang) (Sumber: Puspita, 2009).

I. Fitokimia

Menurut Astawan dan Kasih (2008), senyawa fitokimia (fito = tumbuhan) merupakan zat kimia alami yang terdapat di dalam tanaman yang memberikan rasa, aroma, ataupun warna khas pada tanaman tersebut. Beberapa kegunaan dari senyawa fitokimia adalah antikanker, antimikroba, antioksidan, antitrombotik, meningkatkan kekebalan tubuh, antiinflamasi, mengatur tekanan darah, menurunkan kolesterol, serta mengatur gula darah. Secara umum senyawa fitokimia terdiri atas delapan kelas utama yaitu :

1. Terpenoid atau Isoprenoid
2. Polifenol
3. Glukosinat
4. Fitosterol
5. Kapsaisin
6. Klorofil
7. Betalain, Betanin dan Betain
8. Pektin

Kandungan yang terdapat pada suatu tumbuhan dapat diketahui dengan pengujian fitokimia. Uji fitokimia merupakan suatu pemeriksaan golongan senyawa kimia yang terdapat pada simplisia tumbuhan. Uji tersebut digunakan untuk membuktikan ada atau tidaknya kandungan senyawa tertentu dalam suatu tumbuhan agar dapat dikaitkan dengan aktivitas

biologinya sehingga dapat membantu langkah – langkah farmakologi (Farnsworth, 1966).

J. Hipotesis

1. Pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak terbaik untuk aktivitas antibakteri batang semu pisang klutuk.
2. Ekstrak metanol dan etil asetat batang semu pisang klutuk mengandung flavonoid, saponin dan tanin.
3. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak batang semu pisang klutuk adalah 3,125 % terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*.