

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Morfologi dan Taksonomi Kapulaga (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)

Kapulaga merupakan tanaman tahunan berupa perdu dengan tinggi 1,5 m, berbatang semu, buahnya berbentuk bulat, membentuk anakan berwarna hijau. Mempunyai daun tunggal yang tersebar, berbentuk lanset, ujung runcing dengan tepi rata. Pangkal daun berbentuk runcing dengan panjang 25-35 cm dan lebar 10-12 cm, pertulangan menyirip dan berwarna hijau (Maryani, 2003). Batang kapulaga disebut batang semu, karena terbungkus oleh pelepah daun yang berwarna hijau, bentuk batang bulat, tumbuh tegak, tingginya sekitar 1-3 m. Batang tumbuh dari rizome yang berada di bawah permukaan tanah, satu rumpun bisa mencapai 20-30 batang semu, batang tua akan mati dan diganti oleh batang muda yang tumbuh dari rizoma lain (Sumardi, 1998).

Kapulaga berbunga majemuk, berbentuk bonggol yang terletak di pangkal batang dengan panjang kelopak bunga 12,5 cm di kepala sari terbentuk elips dengan panjang 2 mm, tangkai putik tidak berbulu, dan berbentuk mangkok. Mahkota berbentuk tabung dengan panjang 12,5 mm, berwarna putih atau putih kekuningan. Mahkota berbuah kotak dengan biji kecil berwarna hitam (Maryani, 2003).

Buahnya berupa buah kotak, terdapat dalam tandan kecil-kecil dan pendek. Buah bulat memanjang, berlekuk, bersegi tiga, agak pipih, kadang-kadang berbulu, berwarna putih kekuningan atau kuning kelabu. Buah beruang 3, setiap ruang dipisahkan oleh selaput tipis setebal kertas. Tiap ruang berisi 5-7 biji kecil-

kecil, berwarna coklat atau hitam, beraroma harum yang khas. Dalam ruang biji-biji ini tersusun memanjang 2 baris, melekat satu sama lain (Sinaga, 2008). Buah tersusun rapat pada tandan, terdapat 5-8 buah pada setiap tandannya. Bentuk buah bulat dan beruang tiga, setiap buah mengandung 14-16 biji dan kulit buah berbulu halus. Panjang buah mencapai 10-16 mm (Sumardi, 1998).

Kapulaga di daerah Sumatra dikenal dengan nama roude cardemon (Aceh), kalpulaga (Melayu), pelage puwar (Minangkabau), di Jawa dikenal dengan nama palago (Sunda), kapulaga (Jawa), Kapulaga (Madura), dan kapolagha (Bali). Di Sulawesi dikenal dengan nama kapulaga (Makassar) dan gandimong (Bugis) (Maryani, 2003). Kedudukan taksonomi kapulaga menurut Backer dkk. (1968), sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Kelas : Liliopsida  
 Bangsa : Zingiberales  
 Suku : Zingiberaceae  
 Marga : *Amomum*  
 Jenis : *Amomum compactum* Soland. ex Maton

Tanaman kapulaga berasal dari pegunungan Malabar, pantai barat India. Tanaman ini laku di pasar dunia, sehingga banyak ditanam di Srilanka, Thailand dan Guatemala, sedangkan di Indonesia, kapulaga mulai dibudidayakan sejak tahun 1986. Tanaman kapulaga tergolong dalam herba dan membentuk rumpun, sosoknya seperti tumbuhan jahe dan dapat mencapai ketinggian 2 - 3 meter dan tumbuh di hutan-hutan yang masih lebat (Anonim, 2011). Kapulaga (*Amomum compactum* Soland. ex Maton) bersinonim dengan *Amomum cardamomum* Willd dan *Amomum kapulaga* Sprague (Sinaga, 2008).

|                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                       |                               |
| <p>Gambar 1. Tanaman Kapulaga<br/>Keterangan: 1. Daun, 2. Batang<br/>Kapulaga hidup subur di ketinggian 200 - 1.000 m dpl, suhu antara 20 – 30 °C (cenderung lebih baik ditanam di dataran tinggi) (Anonim, 2011).</p> | <p>Gambar 2. Buah Kapulaga yang masih berada pada tandan buah dan bunga.<br/>Keterangan : 1. Buah, 2. Bunga</p> |

## B. Kegunaan Kapulaga

Menurut Sinaga (2008), air rebusan seluruh bagian tanaman kapulaga digunakan untuk obat kuat bagi orang yang merasa lemas atau lemah akibat kecapaian. Juga berguna bagi orang yang berpenyakit encok atau rematik. Kadang-kadang juga digunakan sebagai afrodisiaka (untuk meningkatkan libido).

Rimpang sering digunakan untuk menghilangkan bau mulut, untuk obat batuk, dan menurunkan panas (sebagai anti-piretikum). Rimpang yang dikeringkan, digiling, lalu direbus dapat menjadi minuman penghangat bagi orang yang kedinginan, terutama bagi yang tinggal di pegunungan, di daerah beriklim dingin atau di hutan yang sangat lembab. Minuman ini sekaligus dapat mengobati sakit panas dalam (Sinaga, 2008).

Menurut Haryanto (2006), khasiat kapulaga antara lain air rebusan batang digunakan sebagai obat menurunkan panas (demam). Buahnya dipergunakan untuk bahan penyedap dan penyegar makanan dan minuman. Buah kapulaga berkhasiat sebagai obat batuk, amandel, haid tidak teratur, mulas, tenggorokan gatal, radang lambung, demam, bau tubuh, bau mulut, sesak nafas, dan influenza.

Pemanfaatan kapulaga sebagai bahan aromatik, karminatif (mengurangi gas dalam perut atau mengurangi perut kembung), mengobati batuk, mulut berbau, dan gatal tenggorokan. Buah keringnya dipergunakan sebagai rempah-rempah, misalnya dalam bumbu kari dan bumbu kue. Minyak atsiri dari biji kapulaga digunakan sebagai penyedap kue-kue, gula-gula, parfum, dan obat-obatan. Ada juga yang dipakai sebagai bahan baku pemuatan *oil of cardamon* yang dijual lagi sebagai penyedap minuman botol dan makanan kaleng (Fachriyah dan Sumardi, 2007).

### C. Kandungan Kimia BuahKapulaga

Buah Kapulaga yang disuling mengandung minyak atsiri dengan komposisi yaitu sineol, terpineol, borneol. Kadar sineol dalam buah lebih kurang 12% (Sinaga, 2008). Biji kapulaga mengandung 3-7% minyak atsiri yang terdiri atas terpineol, terpinil asetat, sineol, alfa borneol, dan beta kamfer. Disamping itu biji juga mengandung lemak, protein, kalsium oksalat dan asam kersik. Penyulingan biji diperoleh minyak atsiri yang disebut *Oleum Cardamomi* yang digunakan sebagai stimulus dan pemberi aroma. Rimpang kapulaga

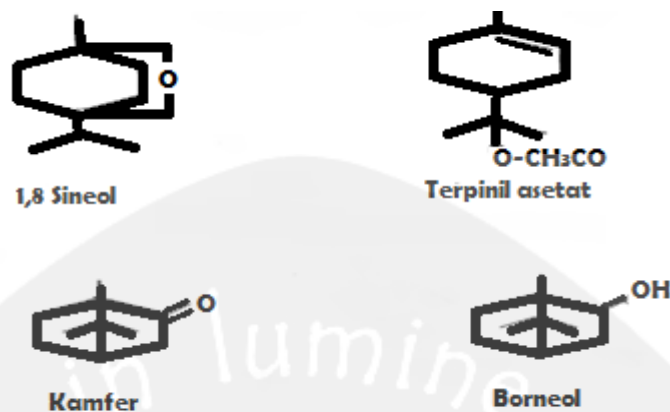
disamping mengandung minyak atsiri, juga mengandung saponin, flavonoida dan polifenol, (Sinaga, 2008).

Komponen-komponen dalam kapulaga termasuk dalam golongan fenol dan terpena (Santoso, 1988). Senyawa fenol aktif sebagai antibakteri dengan mekanisme membentuk kompleks dengan protein sel sehingga menghambat kerja enzim pada sel bakteri. Akibatnya struktur dinding sel akan mengalami denaturasi protein. Diketahui pula bahwa pada umumnya dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif sebagian besar tersusun atas protein (Guenther, 1987). Berikut adalah senyawa kimia yang umum menyusun buah kapulaga :

### **1. Terpenoida**

Terpenoida atau isoprenoid merupakan salah satu senyawa organik yang hanya tersebar di alam, yang terbentuk dari satuan isoprena ( $\text{CH}_3=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ ). Senyawa terpenoida merupakan senyawa hidrokarbon yang dibedakan berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, kelompok metil dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson, 1995)

Senyawa terpenoida yang mempunyai aktifitas antimikrobia antara lain borneol, sineol, pinene, kamfene dan kamfor (Conner, 1993). Senyawa terpenoida terbentuk dari metabolit sekunder dari tumbuhan melalui jalur piruvat, asetil koA, asam mevalonat. Terpenoida mempunyai rumus dasar  $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$  atau dengan unit isoprene-2 metil-2,3 butadiena (Harborne, 1996). Terpenoida merupakan senyawa utama pada tumbuhan yang menyusun minyak atsiri. Berikut adalah struktur kimia senyawa penyusun minyak atsiri dalam buah kapulaga:



Gambar 3. Struktur senyawa yang terdapat dalam Kapulaga (Sumber: Guenther, 1987).

Minyak atsiri merupakan salah satu senyawa organik yang banyak ditemukan di alam dan berasal dari jaringan tumbuhan. Minyak atsiri merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang mudah menguap (*volatil*) dan bukan merupakan senyawa murni tetapi tersusun atas beberapa komponen yang mayoritas berasal dari golongan terpenoida (Guenther, 1987).

Minyak atsiri (*essensial oil*) didefinisikan sebagai suatu kelompok dari senyawa berbau (*odorus*), larut dalam alkohol, terdiri dari campuran eter, aldehida, keton, dan terpen (Nychas dan Tassou (2000) di dalam Parhusip, 2006). Minyak atsiri umumnya merupakan gabungan kelompok-kelompok senyawa volatil yang membentuk aroma spesifik dari spesies tanaman tertentu. Kelompok-kelompok senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri, diantaranya adalah: (a) hidrokarbon dengan formula kimia  $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ , sebagai senyawa terpen rendah seperti monoterpen, diterpen, dan seskiterpen, (b) turunan oksigenasi dari senyawa-senyawa terpen diatas, (c) senyawa-senyawa aromatik dengan struktur benzoid, dan/atau (d) senyawa-

senyawa yang mengandung nitrogen atau sulfur (Parhusip, 2006). Berikut adalah kandungan senyawa yang terdapat dalam minyak atsiri buah kapulaga.

Tabel 1. Komposisi Senyawa di dalam Minyak Atsiri Kapulaga.

| Komposisi                 | Persentase (%) |
|---------------------------|----------------|
| $\alpha$ -Pinene          | 1,5            |
| $\beta$ -Pinene           | 0,2            |
| Sabinene                  | 2,8            |
| Myrcene                   | 1,6            |
| $\alpha$ -Phellandrene    | 0,2            |
| Limonene                  | 11,6           |
| 1,8-sineol                | 36,3           |
| $\gamma$ -Terpinene       | 0,7            |
| $p$ -Cymene               | 0,1            |
| Terpinolene               | 0,5            |
| Linalool                  | 3              |
| Linalyl asetat            | 2,5            |
| Terpinen-4-ol             | 0,9            |
| $\alpha$ -Terpeneol       | 2,6            |
| $\alpha$ -Terpenyl asetat | 31,3           |
| Citronellol               | 2,6            |
| Nerol                     | 0,3            |
| Geraniol                  | 0,5            |
| Metil eugenol             | 0,5            |
| <i>trans</i> -Neolidol    | 2,7            |

(Sumber : Chempakam dan Sindhu, 2008)

## 2. Saponin

Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba dan saponin tertentu menjadi penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995).

Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan

bakteri, maka bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Ganiswara,1995). Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan Poeloengan dan Praptiwi (2010), buah manggis yang mengandung saponin mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

### 3. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, aseton, dan lain-lain. Flavonoid dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavanoid, gula yang terikat pada flavanoid mudah larut dalam air (Harborne,1996).

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur (Khunaifi,2010).Mekanisme kerja flavonoiddengan kecenderungan mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme (Ganiswara, 1995). Pada penelitian yang dilakukan Lathifah (2008), flavanoid pada blimbing wuluh berpotensi sebagai antibakteri pada *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### D. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ekstraksi

menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Suyitno, 1989).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1996). Berikut adalah metode yang umum digunakan menurut (Darwis, 2000) adalah:

1. Maserasi.

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan ( $29^{\circ}\text{C}$ ). Proses ini menguntungkan karena perendaman dalam waktu tertentu akan memecah dinding dan membran sel, sehingga senyawa metabolit dapat keluar.

2. Perkolasi.

Merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut.

3. Metode Soklet.

Menggunakan soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Cocok untuk senyawa yang tidak terpengaruh panas.

4. Destilasi Uap.

Proses destilasi lebih banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu yang cukup tinggi, yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan.

## 5. Pengempasan.

Metode ini lebih banyak digunakan dalam proses industri pada isolasi *Crude Palm Oil* (CPO) dari buah kelapa sawit dan isolasi katekin dari gambir.

Maserasi merupakan cara yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar (Khunaifi, 2010).

Menurut Harborne (1996), metode ekstraksi secara maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

## E. Sifat Pelarut

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektrik dapat dibedakan menjadi dua, yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar. Semakin tinggi konstanta dielektrikunya

maka pelarut semakin bersifat polar (Sudarmadji dkk., 1989). Besaran konstanta dielektrikum suatu pelarut dapat ditunjukkan pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Konstanta dielektrikum pelarut organik.

| Pelarut        | Konstanta dielektrikum (D) |
|----------------|----------------------------|
| n-heksana      | 1,89                       |
| Petroleum eter | 1,90                       |
| n-oktan        | 1,95                       |
| n-dekan        | 1,99                       |
| n-dodekan      | 2,01                       |
| n-toulen       | 2,38                       |
| Etil-asetat    | 6,08                       |
| Etanol         | 24,30                      |
| Metanol        | 33,60                      |
| Asam formiat   | 58,50                      |
| Air            | 80,40                      |

(Sumber : Sudarmadji dkk., 1989)

Pelarut organik yang umum digunakan untuk memproduksi konsentrat, ekstrak, absolut atau minyak atsiri dari bunga, daun, biji, akar, dan bagian lain dari tanaman adalah etil asetat, n-heksana, petroleum eter, benzen, toluen, etanol, isopropanol, aseton, dan air (Mukhopadhyay, 2002). Titik didih beberapa pelarut dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Titik Didih Pelarut.

| No | Pelarut      | Titik Didih ( $^{\circ}\text{C}$ ) |
|----|--------------|------------------------------------|
| 1  | Dietil Eter  | 34,6                               |
| 2  | Diklorometan | 40,8                               |
| 3  | Heksan       | 68,7                               |
| 4  | Aseton       | 56,2                               |
| 5  | Etil Asetat  | 77,1                               |
| 6  | Etanol       | 78,3                               |
| 7  | Air          | 100                                |

(Sumber: Mukhopadhyay, 2002)

Menurut Hukmah (2007), ada dua pertimbangan dalam memilih jenis pelarut yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak

berbahaya dan beracun. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil asetat, etanol, n-heksana, isopropil alkohol, dan metanol.

Penelitian ini menggunakan 3 variasi pelarut yaitu pelarut non-polar (n-Heksana), semi-polar(etil asetat) dan polar(etanol).Pemilihan pelarut ini berdasarkan sifat dari senyawa yang terdapat pada kapulaga yaitu minyak atsiri yang bersifat non-polar, dan senyawa fenol yang bersifat polar.Penggunaan tiga pelarut yang berbeda kepolaritasannya diharapkan akan diperoleh pelarut yang optimum dalam mengekstrak buah kapulaga.

N-Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ (isomer utama *n*-heksana memiliki rumus  $CH_3(CH_2)_4CH_3$ . N-Heksana merupakan jenis pelarut non-polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). N-Heksana dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak nilam yang dapat digunakan sebagai minyak atsiri (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus  $CH_3COOC_2H_5$ . Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Etil asetat adalah pelarut polar menengah atau semi-polar yang *volatil* (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis (Anonim, 2012 a).

Etil asetat yang juga dikenal dengan nama *acetic ether* adalah pelarut yang banyak digunakan pada industri cat, *thinner*, tinta, plastik, farmasi, dan industri kimia organik. Pada skala industri, etil asetat diproduksi dari reaksi esterifikasi antara asam asetat ( $CH_3COOH$ ) dan etanol ( $C_2H_5OH$ ) dengan bantuan katalis dalam suasana asam ( $H_2SO_4$ ) dan mengikuti reaksi berikut:



Etanol termasuk dalam alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua atom hidrogen yang terikat dengannya juga. Reaksi kimia yang dijalankan oleh etanol kebanyakan berikatan pada gugus hidroksilnya (Lei dkk., 2002). Etanol termasuk dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  dan rumus empiris  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ . Etanol merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil ( $\text{C}_2\text{H}_5$ ) (Lei dkk., 2002).

#### **F. Antibakteri**

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel (Brooks dkk., 2005). Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya senyawa antibakteri mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia, yaitu: bakteristatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis (pecah) sel. Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis (pecah) sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi

kekeruhan dalam medium pertumbuhan setelah penambahan antibakteri (Madigan dkk., 2000).

Pelczar dan Chan (1998), menyatakan bahwa mekanisme kerja zat antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut:

#### 1. Merusak Dinding Sel

Pada umumnya bakteri memiliki suatu lapisan luar yang disebut dinding sel (peptidoglikan). Sintesis dinding sel ini melibatkan sejumlah langkah enzimatik yang banyak diantaranya dihalangi oleh antibakteri. Rusaknya dinding sel bakteri misalnya karena pemberian enzim lisosim atau hambatan pembentukannya oleh karena obat antibakteri, dapat menyebabkan sel bakteri lisis. Kerusakan dinding sel akan berakibat terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian sel karena dinding sel berfungsi sebagai pengatur pertukaran zat-zat dari luar dan ke dalam sel, serta memberi bentuk sel (Pelczar dan Chan, 1998). Menurut Murray dkk. (1998), beberapa antibiotik yang mampu bekerja menghambat atau merusak pembentukan dinding sel antara lain penisilin, bastrasin, vankomisin, dan teikoplasin.

#### 2. Mengubah Permeabilitas Membran sel.

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antarsel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan aktif dan mengendalikan susunan dalam

diri sel. Proses pengangkutan zat-zat yang diperlukan baik ke dalam maupun keluar sel dimungkinkan karena di dalam membran sel terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar (Pelczar dan Chan, 1998).

Dengan rusaknya dinding sel, bakteri secara otomatis akan berpengaruh pada membran sitoplasma, beberapa bahan antibakteri seperti fenol, kresol, detergen dan beberapa antibiotik dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, bahan-bahan ini akan menyerang dan merusak membran sel sehingga fungsi semi permeabilitas membran mengalami kerusakan. Kerusakan pada membran sel ini akan mengakibatkan terhambatnya sel atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1998).

Jenis antibiotik yang mengganggu permeabilitas membran sel adalah peptida nisin yang dihasilkan oleh beberapa galur *Lactococcus lactis*, *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), asam p-kumarat dan asam kafeat (Parhusip, 2006).

### 3. Kerusakan Sitoplasma.

Sitoplasma atau cairan sel terdiri atas 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, ion anorganik dan berbagai senyawa dengan bobot molekul rendah. Kehidupan suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Konsentrasi tinggi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi dan denaturasi komponen-komponen seluler yang vital (Pelczar dan Chan, 1998).

#### 4. Menghambat Kerja Enzim.

Didalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia misalnya logam-logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lainnya umumnya efektif sebagai bahan antibakteri pada konsentrasi relatif rendah. Logam-logam ini akan mengikat gugus enzim sulfhidril yang berakibat terhadap perubahan protein yang terbentuk. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1998).

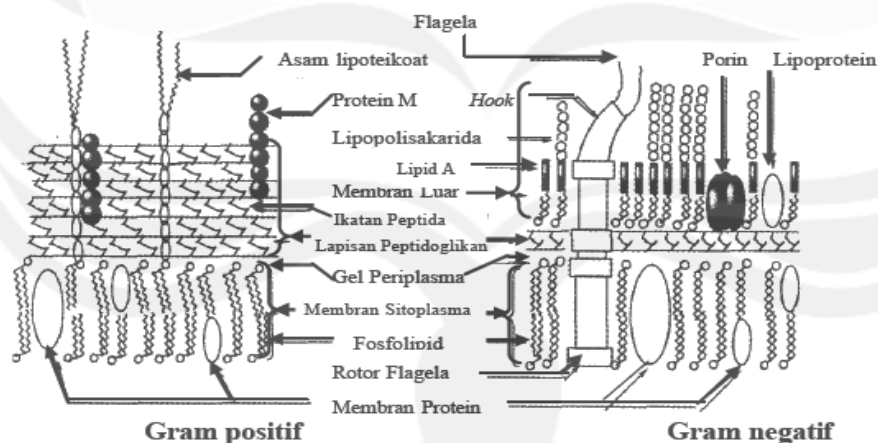
Beberapa senyawa yang mampu menghambat kerja enzim antar lain adalah nitrit dapat menghambat enzim fosfat dehidrogenase, sulfit akan menginaktifkan enzim yang memiliki ikatan disulfida, asam benzoat dapat menghambat aktivitas  $\alpha$ -ketoglutarat dehidrogenase dan suksinat dehidrogenase (Parhusip, 2006).

#### 5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat Dan Protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan amat penting dalam sel. Beberapa bahan antibakteri dalam bentuk antibiotik, misalnya kloramfenikol, tetrasilin, pirumisin mampu menghambat sintesis protein. Sedangkan, sintesis asam nukleat dapat dihambat oleh senyawa antibiotik misalnya mitosimin. Apabila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1998).

### G. Jenis Bakteri Uji

Bakteri dapat digolongkan menjadi 2 kelompok yaitu Gram positif dan negatif, jika dilihat pada perbedaan struktur dinding sel. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar berupa lipopolisakarida yang terdiri atas membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis terletak pada periplasma (di antara lapisan luar dan membran sitoplasmik) (Volk dan Wheeler, 1993). Pada bakteri Gram positif dinding sel mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asam teikuronat yang bermuatan negatif. Pada bakteri Gram negatif, pada lapisan di luar dinding sel ada yang mengandung 5-10% peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida dan lipoprotein (Madigan dkk., 2000).



Gambar 4. Struktur dinding sel bakteri Gram positif dan negatif.  
(Sumber : Moat dkk., 2002).

Dinding sel bakteri Gram positif berlapis tunggal yang terdiri dari lipida sebesar 1-4 %, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mengandung tiga polimer yang terletak di luar lapisan peptidoglikan: lipoprotein, porin matriks dan

lipopolisakarida. Lipopolisakarida dinding sel Gram negatif terdiri atas suatu lipid kompleks yang disebut lipid A. Lipid A atas suatu rantai satuan disakarida glukosamin yang dihubungkan dengan ikatan pirofosfat, tempat melekat sejumlah asam lemak berantai panjang (Madigan dkk., 2000).

Kapulaga diketahui memiliki kemampuan dalam mengobati penyakit pada tenggorokan, seperti batuk, amandel, tenggorokan gatal dan juga penyakit pada perut, seperti perut mulas (Haryanto, 2006; Maryani dan Kristiana, 2004). Pada penelitian ini digunakan 2 bakteri yaitu *Escherichia coli* sebagai perwakilan bakteri Gram negatif yang sering terdapat pada saluran pencernaan terutama usus dan *Streptococcus pyogenes* sebagai perwakilan dari bakteri Gram positif yang sering menginfeksi tenggorokan.

#### 1. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah salah satu jenis bakteri Gram negatif. Pada umumnya bakteri ini hidup di dalam tinja dan bisa menyebabkan diare, muntaber dan masalah pencernaan lainnya. *Escherichia coli* hidup di kolon (usus besar) manusia, berfungsi membantu membusukkan sisa pencernaan juga menghasilkan vitamin B12 dan vitamin K yang penting dalam proses pembekuan darah (Volk dan Wheeler, 1993).

*Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek lurus (kokobasil), dengan ukuran  $1,1-1,5 \mu\text{m} \times 2,0-6,0 \mu\text{m}$ . *Escherichia coli* tidak memiliki kapsul dan spora. Bersifat anaerob fakultatif, tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana (Pelczar dan Chan, 1998). Kedudukan taksonomi *Escherichia coli* menurut NCBI (2010), sebagai berikut :

Kerajaan : Bacteria  
 Filum : Proteobacteria  
 Kelas : Gammaproteobacteria  
 Bangsa : Enterobacteriales  
 Suku : Enterobacteriaceae  
 Marga : *Escherichia*  
 Jenis : *Escherichia coli*

*Escherichia coli* memproduksi enterotoksin yang tahan panas dapat menyebabkan diare yang ringan, sedangkan enterotoksin yang tidak tahan panas dapat menyebabkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus, dan menghambat reabsorpsi natrium (Jawetz dkk., 1991). Pada penelitian yang dilakukan oleh Yuriadi (2003), *Escherichia coli* resisten terhadap penisilin dan tetrasiklin.

## 2. *Streptococcus pyogenes*

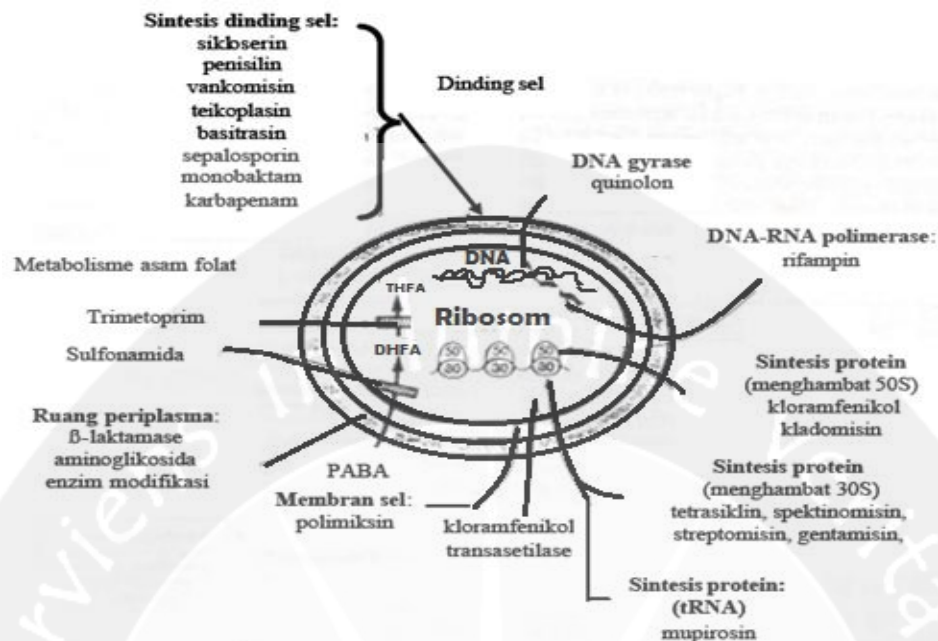
*Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri Gram positif, non-motil, tidak berspora, berbentuk kokus yang membentuk rantai, berdiameter 0,6-1,0 mikrometer dan anaerob fakultatif. Bakteri ini melakukan metabolisme secara fermentasi. *Streptococcus pyogenes* digolongkan ke dalam bakteri hemolitik- $\beta$ , sehingga membentuk zona terang bila ditumbuhkan dalam medium agar darah (Cunningham, 2000). Kedudukan taksonomi *Streptococcus pyogenes* menurut Anonim (2007), sebagai berikut;

Kerajaan : Bacteria  
 Filum : Firmicutes  
 Kelas : Bacili  
 Bangsa : Lactobacilales  
 Suku : Streptococcaceae  
 Marga : *Streptococcus*  
 Spesies : *Streptococcus pyogenes*

*Streptococcus pyogenes* merupakan kelompok bakteri Gram positif dan penyebab terjadinya infeksi bernanah, radang tenggorokan, impetigo (infeksi kulit), dan jaringan lunak (selulit, dan *necrotizing fasciitis*), serta beberapa penyakit sistemik. *Streptococcus pyogenes* adalah patogen yang hanya menginfeksi manusia. Untuk menjadi patogen *Streptococcus pyogenes* dilengkapi dengan faktor virulensi, baik berupa molekul permukaan maupun yang disekresikan. Faktor virulensi yang disekresikan mempunyai fungsi penting karena berinteraksi dengan komponen inang untuk menyebabkan infeksi dan penyakit pada manusia. Faktor virulensi tersebut mencakup sejumlah protease, DNase, superantigen, dan aktivator plasminogen (Retnoningrum, 2009). Pada penelitian yang dilakukan Yuriadi (2003), *Streptococcus pyogenes* resisten terhadap antibiotik penisilin.

#### **H. Antibiotik**

Antibiotik merupakan senyawa organik yang dihasilkan oleh beberapa spesies organisme dan bersifat toksik terhadap spesies organisme lain. Sifat toksik senyawa-senyawa yang terbentuk mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (efek bakteriostatik) dan ada yang langsung membunuh bakteri (efek bakterisid) yang kontak dengan antibiotik tersebut (Sumardjo, 2009).



Gambar 5. Mekanisme Kerja Antibiotik pada Sel Bakteri  
(Sumber : Murray dkk., 1998).

Ampisilin adalah anggota kelompok penisilin yang tahan asam termasuk tahan asam lambung. Kelompok penisilin ini memiliki gugus *phenoxyl* yang terikat oleh gugus alkyl dari rantai alkilnya. Kemampuan membunuh bakteri ini karena penisilin menghambat perkembangan dinding sel bakteri dengan jalan menjadikan *in-aktif*, dengan demikian tidak memungkinkan terhubungnya kedua lapis linear serabut *peptidoglycan* yang terdapat di kedua lapis dinding sel sebelah dalam (Yuriadi, 2003). Menurut Brander dan Pugh (1982) di dalam Yuriadi (2003), ampisilin efektif melawan bakteri seperti *Streptococcus*, *Staphylococcus fecalis*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Brucella* dan *Pasteurella*. Dosis parental yang dianjurkan adalah 2-7 mg/kg bb per hari, selama 3-6 hari.

Mekanisme kerja ampisilin dapat dilihat pada gugus amino yang membantu ampisilin menembus membran terluar dari bakteri. Aktivitas

antibakteri ampicilin dapat dilihat dari kemampuannya menghambat enzim transpeptidase. Enzim ini sangat dibutuhkan dalam biosintesis dinding sel, sehingga apabila enzim ini terhambat maka dinding sel tidak terbentuk sempurna dan sel akan menjadi lisis. Oleh karena itu, ampicilin mempunyai aktivitas antibakteri bakteriolitik (Volk dan Wheeler, 1993).

Streptomisin dihasilkan oleh *Streptomyces griseus*, suatu bakteri tanah yang diisolasi oleh Walkman dan rekan-rekannya, yang melaporkan mengenai aktivitas antibiotik pada tahun 1944. Streptomisin menjadi antibiotik utama untuk kemoterapi tuberkolosis, namun resistensi berkembang sangat cepat terhadap antibiotik ini (Pleczar dan Chan, 1998).

Mekanisme kerja streptomisin dalam menghambat bakteri yaitu dengan berikatan pada salah satu protein dalam subunit ribosom 30S. Pengikatan protein tersebut menyebabkan pembacaan yang salah pada mRNA dan mencegah ribosom setelah terikat pada asam amino pertama membentuk protein. Hasilnya mRNA terikat hanya pada ribosom tunggal pada tempat permulaannya dan ribosom tersebut tidak dapat bergerak (Volk & Wheeler, 1993).

Penelitian yang dilakukan Yuriadi (2003), mengenai resistensi dan sensitivitas bakteri pada Kuda penderita pneumonia terhadap antibiotik. Pada penelitian terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus* sp. menunjukkan sifat resisten dan juga sensitif terhadap streptomisin dan ampicilin. Dari hasil penelitian ini ampicilin dan streptomisin masih bisa digunakan sebagai antibiotik pada *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*.

## **I. Parameter Penentuan Aktivitas Antibakteri**

### **1. Penentuan Zona Hambat**

Pengujian daya antibakteri terhadap spesies bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu menggunakan metode dilusi dan metode difusi (Jutono dkk., 1980). Metode difusi agar (*agar diffusion method*) pada prinsipnya mikrobial uji diinokulasikan pada medium agar dalam cawan petri kemudian kertas saring maupun sumuran yang mengandung zat antibakteri diletakkan pada medium agar. Setelah diinkubasi, garis tengah diameter hambatan jernih (zona jernih) yang mengelilingi kertas saring maupun sumuran merupakan ukuran kekuatan hambatan zat antibakteri terhadap bakteri yang diuji (Madigan dkk., 2000).

Ekstrak yang dimasukkan ke dalam sumur atau lubang akan berdifusi masuk ke dalam agar selama masa inkubasi. Bila memiliki sifat antimikroba, ekstrak ini akan menimbulkan gradien konsentrasi di dalam agar dan membentuk penghambatan yang akan terlihat sebagai zona bening (Fadhilla, 2010). Semakin jauh jarak masuk ke dalam agar, maka konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji juga akan semakin berkurang. Berkurangnya konsentrasi berarti kekuatan ekstrak berkurang dan hanya beberapa bakteri yang dapat terhambat. Hal inilah yang menimbulkan gradien konsentrasi pada tingkat-tingkat konsentrasi tertentu (Davidson dan Parish, 1993).

### **2. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum**

MIC (Minimum Inhibitory Concentration) adalah konsentrasi terendah dari suatu senyawa antibakteri dimana antibakteri tersebut masih memiliki

kemampuan menghambat bakteri dalam periode inkubasi tertentu (Davidson dan Parish, 1993). Penentuan nilai KHM dilakukan pada ekstrak buah kapulaga optimum yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. Pengukuran konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan melakukan pengenceran serial ekstrak buah kapulaga dengan konsentrasi 0,625; 1,25; 2,5; 5;10%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kusumangtyas (2008), ekstrak daun sirih mampu menghambat *Trichophyton mentagrophytes* dengan nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 5%.

#### **J. Hipotesis**

1. Ekstrak segar buah kapulaga memiliki kemampuan terbaik dalam menghambat *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*.
2. Pelarut etil asetat adalah pelarut yang paling tinggi aktivitasnya dalam menghambat *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimal ekstrak buah kapulaga (*Amomum compactum* Soland ex Maton) paling baik sebesar 5%.