

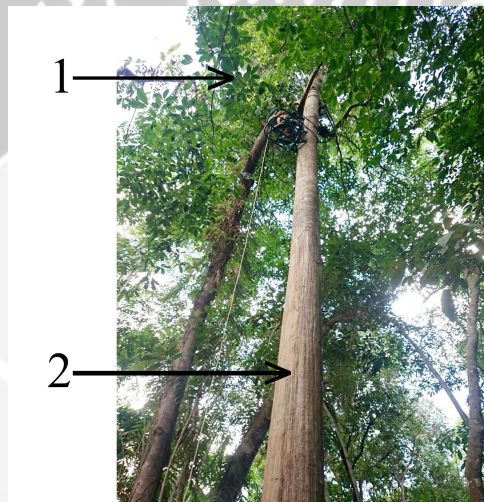
## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Deskripsi dan Taksonomi Tumbuhan Gaharu

Tanaman gaharu (*Aquilaria* spp.) yang memiliki nama lain seperti *agarwood*, *eaglewood* atau *aleowood* merupakan tanaman yang terkenal akan resin aromatikanya. Tanaman ini tersebar secara alami di beberapa negara seperti Cina (Hongkong, Hainan), Pakistan, Iran, India, Nepal, Bhutan, Bangladesh, Sri-Lanka, Kamboja, Vietnam, Laos, Thailand, Indonesia, Myanmar, Malaysia, Singapura dan Filipina (Kamonwannasit, 2013). Menurut Khalil dkk. (2013), spesies *Aquilaria* telah beradaptasi untuk hidup di berbagai habitat seperti habitat yang berbatu, berpasir atau berkapur, lereng kering, pegunungan dan tanah yang berada di dekat rawa. Spesies ini biasanya tumbuh pada ketinggian 0-850 meter dengan rata-rata suhu harian 20-22 °C.

Menurut Khalil dkk. (2013), tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis*) yang ditunjukkan pada Gambar 1 merupakan salah satu spesies dari 15 spesies lainnya yang banyak tersebar di Indonesia dan Malaysia. Namun, tanaman tersebut juga ditemukan di beberapa negara seperti Bangladesh, Bhutan, India, Iran, Myanmar, Filipina Singapura dan Thailand. Tanaman ini merupakan tanaman yang dapat tumbuh tinggi hingga 15-30 meter dengan diameter batang 1,5-2,5 meter dan memiliki bunga yang berwarna putih. Daun dari tanaman ini memiliki panjang 5-11 cm dan lebar 2-4 cm. Menurut Sitepu dkk. (2011), bunga dari tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis*)

bersifat hermaphrodit dengan panjang hingga 5 mm, memiliki aroma yang harum dan warna hijau kekuningan atau putih. Buah gaharu memiliki warna hijau, bentuk bulat telur dan permukaan yang kasar dengan bulu-bulu halus, panjang 3-4 cm dan lebar 2-2,5 cm. Penampakan dari daun, bunga dan buah dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis*) (1) daun, (2) batang (Sumber : dokumentasi pribadi).



Gambar 2. Sketsa daun, bunga dan buah tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis*) (1) ranting, (2) bunga, (3) penampang bunga, (4) buah, (5) penampang buah. (Sumber : Adelina, 2004).

Kedudukan taksonomi tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis*) menurut Susilo dkk. (2014) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Thymelaeaceae
Marga	: <i>Aquilaria</i>
Jenis	: <i>Aquilaria malaccensis</i> Lamk

## **B. Manfaat dan Kandungan Kimia Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis*)**

Sepuluh tahun sebelum suatu tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis*) dapat menghasilkan resin pada gubal gaharu, daun dari tanaman gaharu telah banyak digunakan sebagai bahan dari teh kesehatan di beberapa negara seperti Vietnam, Kamboja, dan Thailand (Kamonwannasit dkk., 2013). Hal ini berkaitan dengan penelitian Khalil dkk. (2013) yang menemukan beberapa senyawa bioaktif pada daun gaharu seperti alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin.

### **1. Alkaloid**

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Hampir semua senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas pada berbagai jenis tumbuhan (Lenny, 2006). Menurut Widodo (2007), sebagian alkaloid banyak terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan sebagian lainnya terdapat pada tumbuhan monokotil dan pteridofita. Menurut Hartati (2010), kebanyakan senyawa alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur pada kisaran 87-238 °C

atau mempunyai kisaran dekomposisi, namun alkaloid dapat juga berbentuk cair dan tidak memiliki warna. Pada umumnya senyawa alkaloid hanya larut dalam pelarut organik dan umumnya bersifat basa. Oleh karena kebasaan pada alkaloid menyebabkan senyawa ini mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Menurut Saifudin (2014), alkaloid memiliki sifat fisiko-kimia yang bersifat semi-polar.

Beberapa alkaloid dilaporkan memiliki sifat beracun, namun ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Beberapa alkaloid dapat digunakan sebagai antimalaria, analgesik, dan bakterisida (Lenny, 2006, Khalil dkk., 2013). Menurut Rijayanti (2014), mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut.

## **2. Triterpenoid**

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu skualena. Sebagian besar senyawa triterpenoid dapat dimanfaatkan sebagai obat seperti pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Selain itu, triterpenoid juga dapat bekerja sebagai antifungi, insektisida, antibakteri dan antivirus (Widiyati, 2005).

Menurut Rijayanti (2014), mekanisme kerja triterpenoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Menurut Harborne (1987), senyawa triterpenoid tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi dan bersifat optis aktif. Senyawa triterpenoid dapat dibagi menjadi empat golongan yaitu triterpen, saponin, steroid dan glikosida jantung. Menurut Saifudin (2014), kebanyakan golongan terpenoid bersifat non-polar sehingga dapat larut ke dalam pelarut non-polar dan semi-polar.

### **3. Flavonoid**

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang banyak tersebar pada tumbuh-tumbuhan di alam. Senyawa ini merupakan zat yang berwarna merah, ungu, biru dan kuning (Lenny, 2006). Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat atau campuran dari larutan tersebut dapat digunakan untuk mengesktrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Rijke, 2005).

Menurut Parubak (2013), senyawa flavonoid berpotensi sebagai senyawa antibiotik, antibakteri, dan antikanker. Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan. Oleh karena itu, senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme. Menurut Rijayanti (2014), mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam

nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.

#### **4. Saponin**

Menurut Harborne (1987) dan Simaremare (2014), saponin adalah glikosida triterpen dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Adanya ikatan glikosida pada saponin menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar. Menurut Rustaman dkk. (2000), saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang dapat menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Turunnya tegangan permukaan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan rusaknya permeabilitas membran sehingga akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Menurut Prihatman (2001), saponin merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi diantaranya bersifat sebagai antimikroba. Menurut Irwan dkk. (2007), senyawa saponin terdiri dari gugus gula (polar) dan aglikon (nonpolar).

#### **5. Tanin**

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong dalam senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dapat terbagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang

mudah terhidrolisis adalah polimer *gallic* atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi adalah polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

Menurut Septiana dan Asnani (2012), senyawa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang cenderung bersifat polar. Menurut penelitian Ngajow dkk. (2013), didapatkan bahwa senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu, tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini akan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

### C. Pelarut

Pelarut merupakan medium tempat suatu zat lain melarut, pelarut dikenal juga sebagai zat pendispersi yaitu tempat menyebarnya partikel-partikel zat terlarut (Sumardjo, 2009). Menurut Sudarmadji dkk. (1989), pelarut dapat dibedakan dalam dua golongan yang didasarkan pada konstanta dielektriknya yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar. Konstanta dielektrik adalah gaya tolak-menolak antara dua partikel yang bermuatan listrik dalam suatu molekul, semakin tinggi konstanta dielektrik yang dimiliki suatu pelarut maka semakin tinggi nilai kepolaran dari pelarut tersebut.

Menurut Miryanti dkk. (2011), pelarut yang digunakan untuk ekstraksi senyawa organik terbagi menjadi golongan pelarut yang memiliki densitas lebih rendah daripada air dan pelarut yang memiliki densitas lebih tinggi daripada air. Kebanyakan pelarut senyawa organik termasuk dalam pelarut golongan pertama seperti dietil eter, etil asetat, dan hidrokarbon. Beberapa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi diantaranya adalah metanol, etanol, etil asetat dan aseton. Menurut Houghton dan Rahman (1998), pada Tabel 1 terdapat beberapa pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi yang digolongkan berdasarkan sifat kepolarannya.

Tabel 1. Golongan Pelarut Berdasarkan Sifat Kepolarannya

Polaritas	Pelarut
Non-polar	<i>Light petroleum</i>
	Heksan
	Sikloheksan
	Toluen
	Kloroform
Semi-polar	Diklorometan
	Dietil eter
	Etil asetat
	Aseton
	Etanol
Polar	Metanol
	Air
	<i>Aqueous water</i>
	<i>Aqueous alkali</i>

Sumber : Houghton dan Rahman (1998)

Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah pelarut metanol. Metanol merupakan bentuk paling sederhana dari alkohol yang digunakan sebagai pelarut di bidang industri. Metanol memiliki rumus kimia  $\text{CH}_3\text{OH}$  dan sering dikenal juga dengan nama lain seperti metil alkohol, metil



karbinol, metil hidrat, spiritus, atau *wood* alkohol. Di keadaan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan, tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar dan beracun dengan bau yang khas (Multiawati, 2013).

Pada Tabel 2 di atas dapat dilihat bahwa metanol masuk dalam golongan pelarut semi-polar. Menurut Smallwood (1996) dan Sadek (2002) metanol memiliki konstanta dielektrik sebesar 32,60 dengan titik didih sebesar 64 °C dan indeks polaritas sebesar 5,1 serta dapat terlarut sempurna dalam air. Menurut penelitian Hendra (2015) dan Khalil dkk. (2013), pelarut metanol dapat digunakan untuk melarutkan senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan tanin yang terkandung dalam ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*).

Pada penelitian ini, dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan pelarut yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak kental untuk mendapatkan ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. Menurut Smallwood (1996), DMSO adalah pelarut yang tidak memiliki warna dengan rumus kimia  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  yang memiliki indeks polaritas sebesar 7,2 dengan konstanta dielektrik 46,6. Menurut Reynolds (1996), DMSO dapat digunakan untuk melarutkan bahan organik maupun anorganik yang bersifat bakterisidal. Selain itu, DMSO juga bersifat aprotik yaitu dapat melarutkan hampir seluruh senyawa polar dan non-polar.

#### **D. Ekstraksi**

Menurut Harborne (1987), ekstraksi adalah proses penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman, hewan serta beberapa jenis

ikan termasuk biota laut. Tujuan dari ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik kandungan komponen kimia yang terkandung dalam bahan alam. Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Menurut Mukhriani (2014), salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Terdapat beberapa metode ekstraksi yang sering dilakukan yaitu ekstraksi secara panas (metode refluks dan penyulingan uap air) dan ekstraksi secara dingin (metode maserasi, perkolasi dan alat soxhlet) . Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi.

Menurut Mukhriani (2014), maserasi adalah cara ekstraksi sederhana untuk mengekstrak simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan pelarut. Prinsip dari metode maserasi adalah mengekstraksi komponen yang terkandung di dalam simplisia dan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut yang sesuai pada suhu kamar (20-25 °C) dan terlindungi dari cahaya matahari. Ketika cairan pelarut masuk ke dalam sel, isi sel akan larut ke dalam pelarut, keadaan tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan pelarut dengan konsentrasi

rendah (proses difusi). Peristiwa ini berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Metode maserasi memiliki beberapa kelebihan seperti, metodenya sederhana, alatnya sederhana, relatif murah dan kerusakan pada komponen kimia dapat dihindari karena tidak menggunakan panas pada prosesnya. Namun, metode maserasi juga memiliki beberapa kekurangan seperti, membutuhkan waktu yang relatif lebih lama dibandingkan metode ekstraksi lain, penggunaan pelarut yang relatif banyak dan proses ekstraksi yang kurang sempurna (Meloan, 1999).

#### **E. Jenis Bakteri Uji**

Menurut Campbell dkk. (2003), bakteri merupakan sel prokariotik uniseluler yang memiliki struktur sel yang sederhana dan berkembang biak secara aseksual dengan cara pembelahan sel. Menurut Pelczar dan Chan (1986), bakteri memiliki tiga bentuk dasar seperti bulat atau kokus, batang dan spiral. Umumnya bakteri memiliki ukuran diameter antara 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  dan panjang antara 1,5-2,5  $\mu\text{m}$ .

Bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan komposisi dan struktur dari dinding sel yaitu kelompok bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal dan kelompok bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis (Pratiwi, 2008). Hal ini juga didukung penelitian yang dilakukan Nurcahyanti dkk. (2011) yang menemukan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak polar dan non-polar biji selasih (*Ocimum sanctum*) terhadap pertumbuhan bakteri Gram

positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) lebih kuat dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*) dikarenakan adanya perbedaan sensitifitas antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif yang didasarkan pada perbedaan morfologi dinding selnya.

Pada bakteri Gram positif struktur dinding selnya lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Bakteri Gram negatif struktur dinding selnya relatif lebih kompleks, berlapis dua yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein dan lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan (Pelczar dan Chan, 1986). Pada penelitian ini digunakan dua jenis bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* yang mewakili kelompok bakteri Gram positif dan *Pseudomonas aeruginosa* yang mewakili kelompok bakteri Gram negatif.

#### 1. *Staphylococcus aureus*

Menurut Jawetz dkk. (1995), Dewi (2013), dan Supartono (2006), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat/kokus yang menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram dan memiliki diameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, tidak bergerak, dapat memfermentasi karbohidrat, dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan bersifat katalase positif. Bakteri ini tumbuh optimum pada suhu 37 °C, namun dapat membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni *Staphylococcus aureus*

berwarna abu-abu hingga kuning tua dan koagulase positif. Pada umumnya bakteri ini ditemukan pada manusia di bagian saluran pernafasan atas seperti hidung, saluran cerna seperti tenggorokan dan kulit.

*Staphylococcus aureus* adalah spesies *Staphylococcus* yang paling mematikan dikarenakan toksin (hemosilin, leukosidin, eksfoliatif dan toksin sindrom syok toksik) dan enzim (katalase, koagulase, dan enterotoksin) yang dihasilkannya dapat menjadi medium perusak pada jaringan kulit dan dapat berkembang menjadi tempat terjadinya infeksi (Nurkusuma, 2009). Menurut Jawetz dkk. (1995), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang sering menyebabkan terjadinya infeksi nosokomial seperti infeksi pada kulit. Hal ini dikarenakan bakteri ini memiliki dinding sel yang sebagian besar terdiri dari peptidoglikan, peptidoglikan ini memiliki aktifitas seperti endotoksin yang dapat merusak sel inang.

Menurut Rijayanti (2014), *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan kasus infeksi nosokomial sebesar 70 %. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi pada kulit dan jaringan lunak secara invasif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lisa (2007) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama bulan Agustus 2005 sampai dengan Februari 2006 menunjukkan bahwa sebesar 74,1 % isolat *Staphylococcus aureus* mengalami resistensi multiobat seperti penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan klindamisin.

## 2. *Pseudomonas aeruginosa*

Menurut Hidayati (2010), Jawetz, dkk. (1995), dan Breed, dkk. (1957), *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang dengan ukuran  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ , bergerak dengan flagel, dan bersifat aerob, oksidase positif, dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit, bersifat katalase positif, dan bersifat nonfermenter tetapi ada beberapa yang dapat mengoksidasi glukosa. Bakteri ini dapat tumbuh optimal pada suhu  $42^\circ\text{C}$  dan mudah tumbuh pada berbagai medium pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana. Bakteri ini banyak menginfeksi penderita di rumah sakit dengan predisposisi tertentu, banyak faktor penentu patogenitas dari bakteri ini diantaranya yang berhubungan dengan struktur sel seperti pili (*fimbriae*) dan bahan yang dikeluarkan seperti eksotoksin A yang menyebabkan nekrosis jaringan dan protease.

Menurut Dzen dkk. (2003), *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang multiresisten terhadap berbagai golongan antibiotik. Luka yang terjadi pada kulit jika tidak ditangani dengan benar sering menimbulkan infeksi. Hal ini dapat terjadi karena adanya *Pseudomonas aeruginosa*. Menurut Hidayati (2010), *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri ini sering memperbanyak diri pada manusia dan menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan inang abnormal. Oleh karena itu, bakteri ini disebut juga sebagai patogen oportunistik yaitu bakteri yang memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Berdasarkan penelitian

yang dilakukan Lisa (2007) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya selama bulan Agustus 2005 sampai dengan Februari 2006 menunjukkan bahwa sebesar 95,9 % isolat *Pseudomonas aeruginosa* mengalami resisten multiobat seperti amikasin, ampicilin, dan amoksisilin.

#### **F. Antibakteri**

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Tujuan penghambatan pertumbuhan bakteri adalah untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh bakteri (Sulistyo, 1971). Menurut Pelczar dan Chan (1986), mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat terjadi melalui perusakan dinding sel dengan cara menghambat proses pembentukannya atau mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga akan menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein.

Menurut Madigan dkk. (2000), berdasarkan pada sifat toksisitas selektif senyawa antibakteri, terdapat 3 macam efek terhadap pertumbuhan bakteri, yaitu :

1. Bakteriostatik
2. Bakteriosidal
3. Bakteriolitik

## G. Antibiotik

Antibiotik adalah suatu bahan kimia yang dikeluarkan oleh jasad renik atau hasil sintesis atau semisintesis yang memiliki struktur yang sama dan senyawa ini dapat menghambat atau membunuh jasad renik lainnya. Berdasarkan kegiatannya, antibiotik dapat digolongkan menjadi dua golongan yaitu antibiotik spektrum luas (*Broad Spectrum*) yang merupakan antibiotik yang dapat mematikan kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, dan protozoa. Golongan selanjutnya adalah antibiotik spektrum sempit (*Narrow Spectrum*) yang merupakan antibiotik yang hanya aktif terhadap beberapa jenis bakteri tertentu (Wasitaningrum, 2009).

Pada penelitian ini antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif adalah ampisilin. Menurut Roeshadi (2005), ampisilin adalah antibiotik yang termasuk dalam golongan penisilin. Ampisilin merupakan penisilin semisintetik yang stabil terhadap asam atau amidase tetapi tidak tahan terhadap enzim  $\beta$ -laktamase. Ampisilin memiliki aktivitas antibakteri terhadap kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif dan merupakan antibiotik golongan *Broad Spectrum*. Menurut Siahaan (2007), mekanisme kerja dari antibiotik ampisilin adalah menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida sehingga bakteri tidak dapat mengatasi perbedaan tekanan osmosis di luar dan di dalam sel yang kemudian akan menyebabkan bakteri mengalami lisis dan mati.



## H. Parameter Aktivitas Antibakteri

Menurut Tortora dkk. (2007) terdapat beberapa cara untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari suatu larutan uji, yaitu :

### 1. Metode Penyebaran (*Diffusion Method*)

- a. Metode kertas cakram, metode ini dilakukan dengan meletakkan cakram kertas yang telah direndam pada larutan uji di atas medium agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dan kemudian diinkubasi. Pertumbuhan bakteri diamati dengan melihat ada tidaknya zona hambat di sekeliling cakram.
- b. Metode silinder, metode ini dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di permukaan medium agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Masing-masing silinder diisi dengan larutan uji dan kemudian diinkubasi. Pertumbuhan bakteri diamati dengan melihat ada tidaknya zona hambat di sekeliling silinder.
- c. Metode sumur, metode ini dilakukan dengan cara membuat sumur pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Pertumbuhan bakteri diamati dengan melihatnya ada tidaknya zona hambat di sekeliling sumur.

### 2. Metode Pengenceran

- a. Metode pengenceran dalam tabung, metode ini dilakukan dengan melakukan pengenceran isolat mikroba dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung steril. Pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan

dari tabung reaksi ke tabung-tabung berisi medium steril yang kemudian diinkubasi dan diamati penghambatan pertumbuhannya.

- b. Metode pengenceran agar, metode ini dilakukan dengan melakukan pengenceran isolat mikroba dan dimasukkan ke dalam agar dengan konsentrasi bahan uji yang berbeda yang kemudian diinkubasi dan diamati penghambatan pertumbuhannya.

Pada penelitian ini terdapat dua parameter yang diamati dalam menentukan aktivitas antibakteri yaitu luas zona hambat dan konsentrasi hambat minimum (KHM). Parameter luas zona hambat diamati dengan menggunakan metode sumuran dimana menurut Prayoga (2013), metode sumuran menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar jika dibandingkan dengan metode kertas cakram. Hal ini dapat terjadi karena pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, sehingga akan menghasilkan kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri yang lebih besar.

Menurut Mulyadi dkk. (2013), KHM atau *minimum inhibitory concentration* (MIC) adalah konsentrasi terendah dari suatu antibiotik atau antimikrobia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Nilai KHM berlawanan dengan sensitifitas dari bakteri yang diuji. Semakin rendah nilai KHM dari sebuah antibiotik, maka sensitifitas bakteri uji akan semakin besar. Menurut Tristiyanto (2009), penentuan KHM dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cair dan padat. Cara cair dapat menggunakan medium cair yang telah ditambahkan larutan antibakteri dengan pengenceran tertentu yang

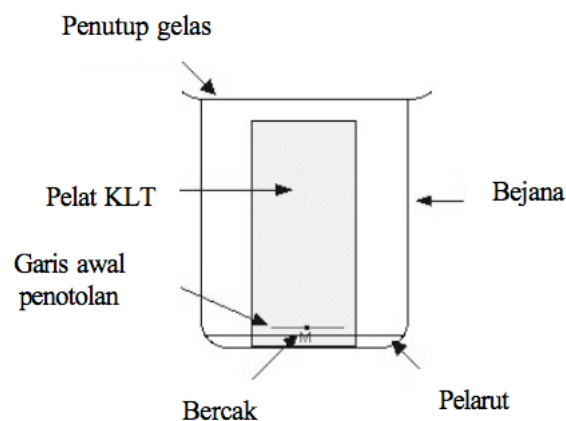
kemudian diinokulasi biakan bakteri uji dengan jumlah yang sama. Parameter pada cara cair didasarkan pada kejernihan atau kekeruhan yang terdapat pada tabung. Cara padat yang dapat dilakukan dengan menggunakan medium padat yang telah dicampur dengan larutan antibakteri dengan berbagai konsentrasi yang kemudian biakan bakteri uji diinokulasikan dengan jumlah yang sama. Parameter cara padat didasarkan pada jumlah bakteri yang tumbuh pada medium.

### **I. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Pada penelitian ini, teknik pemisahan yang digunakan adalah KLT. Menurut Rubiyanto (2017), kromatografi lapis tipis merupakan teknik kromatografi yang didasarkan pada prinsip adsorpsi yaitu proses penyerapan suatu fluida, cairan maupun gas oleh suatu padatan atau cairan (adsorben) yang akhirnya akan membentuk suatu lapisan tipis pada permukaan adsorben. Pada KLT, elusi merupakan proses perpindahan analit pada fase diam oleh fase gerak. Fase gerak yang berperan sebagai pelarut akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh pengembangan secara menaik (*ascending*) atau pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). Pemilihan pelarut yang digunakan pada KLT didasarkan pada prinsip *like dissolves like*. Namun, cara yang paling sering digunakan dapat mengacu pada literatur yang sudah ada.

Menurut Puspita (2009), KLT banyak digunakan untuk menganalisis fitokimia tumbuhan. Hasil analisis KLT berupa gambar puncak yang

merupakan pola yang menunjukkan senyawa yang terkandung di dalam suatu tumbuhan.



Gambar 3. Bagian dari proses Kromatografi Lapis Tipis (Sumber : Puspita, 2009)

Menurut Nyireddy (2002), dan Koll dkk. (2003), dalam teknik KLT terdapat beberapa faktor yang dapat menunjang agar didapatkan hasil yang baik antara lain sebagai berikut :

1. Fase diam : semakin kecil dan seragam ukuran partikel fase diam maka akan semakin tinggi daya pemisahan pada fase diam. Fase diam yang paling umum digunakan pada KLT adalah silika gel. Silika gel mempunyai kekuatan pemisahan yang sangat baik.
2. Fase gerak : fase gerak dapat dipilih berdasarkan adsorben yang digunakan pada fase diam dan struktur yang akan dipisahkan. Menurut Stahl (1985), fase gerak yang digunakan dapat terbagi menjadi dua golongan yaitu golongan hidrofil dan lipofil. Senyawa hidrofil dipisahkan menggunakan fase gerak air, metanol, asam asetat, etanol, isopropanol, aseton, *n*-propanol, *tert*-butanol, fenol dan *n*-butanol. Senyawa lipofil dipisahkan

menggunakan fase gerak etil asetat, eter, kloroform, benzena, toluena, sikloheksana, dan petroleum eter.

3. Penotolan cuplikan : penting untuk dilakukan sekecil mungkin pada plat silika.
4. Bejana kromatografi : digunakan bejana kromatografi yang sesuai dengan ukuran plat dan volume fase gerak.
5. Derivatisasi : dilakukan untuk memunculkan komponen yang telah dipisahkan yang dilakukan dengan pencelupan atau penyemprotan menggunakan suatu reagen.

#### **J. Hipotesis**

1. Ekstrak metanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) memberikan diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 1,1 cm dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 1 cm.
2. Konsentrasi efektif ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 30 %.
3. Hasil uji fitokimia ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) menghasilkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin.