

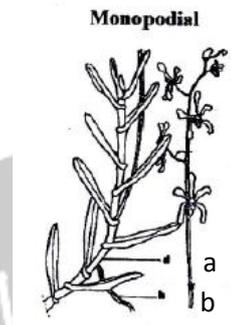
II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*)

Anggrek merupakan kelas Monocotyledoneae dan famili Orchidaceae, yang memiliki 900 genus dan lebih dari 25.000 spesies (La Croix, 2008). Pertumbuhan tanaman anggrek dipengaruhi oleh faktor primer yaitu: iklim berupa sinar matahari (intensitas penyinaran), kelembaban udara, dan temperatur udara. Selain itu terdapat faktor sekunder yaitu: medium pertumbuhan air, makanan, dan faktor tambahan seperti hama penyakit (Sutiyoso dan Sarwono, 2002).

Sebagian besar anggrek merupakan golongan epifit yang memiliki batang yang berbentuk *bulb*, sehingga disebut *pseudobulb* (batang semu) (Hew dan Yong, 2004). Batang semu berfungsi menyimpan air dan makanan untuk bertahan dalam keadaan kering (Bose dan Battcharjee, 1980). Menurut Darmono (2008), berdasarkan pertumbuhannya, batang anggrek dapat dibedakan menjadi tipe simpodial (pertumbuhan ujung batang terbatas) dan tipe monopodial (pertumbuhan batang tidak terbatas) (Gambar 1).

Anggrek merpati merupakan anggrek epifit yang penyebarannya luas, banyak ditemukan di pepohonan dan di pinggir jalan dengan bentuk unik, menyerupai merpati yang sedang terbang. Anggrek ini bercirikan berwarna putih dengan corak kuning dan memiliki aroma yang sangat khas. Anggrek merpati terkenal karena sifat pembungaannya yang singkat (Nita dkk., 2015)



Gambar 1. Pola pertumbuhan Batang Anggrek Merpati: a. Batang,
b. Akar
(Sumber: Yahman, 2009)

Berdasarkan hasil pengamatan Yulia (2009) terhadap ketahanan mekar bunga anggrek, anggrek merpati merupakan anggrek dengan ketahanan mekar bunga terpendek yaitu satu hari. Pembungaan anggrek merpati diinduksi saat terjadi penurunan suhu 4-7 °C setelah hujan, kemudian 7-12 hari setelah hujan muncul bunga (Nita dkk., 2015). Anggrek merpati tumbuh baik pada suhu 21-32 °C di siang hari dan 13-18 °C di malam hari (Agromedia, 2006). Temperatur yang dingin akan merangsang organ bunganya untuk mekar serentak (Seidenfadendan Wood, 1992).

Ciri-ciri umum anggrek merpati yaitu memiliki bunga berwarna putih, wangi, dan berkembang beberapa kali dalam setahun selama 1-2 hari (Utami, 2008). Anggrek merpati menebarkan aroma harum sewaktu bunganya mekar (Angraini, 2002), hingga kini masyarakat sekitarnya memanfaatkan sebatang tanaman hias (Segerbäck, 1992). Bunga anggrek merpati yang mengalami penyerbukan akan menyebabkan perhiasan bunganya,

lalu ovarium akan membesar dan membentuk buah ±2 bulan. Bunga mekar sempurna hanya bertahan selama 1 hari, lalu bunga akan kembali menguncup dan layu (Nita dkk., 2015).

B. Kandungan Kimia Batang Semu Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*)

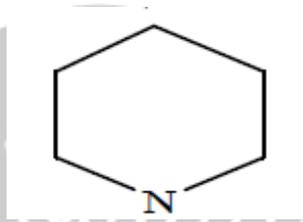
Anggrek merpati mengandung beberapa jenis fitokimia diantaranya saponin, terpenoid, alkaloid, gula reduksi, dan flavonoid. Senyawa alkaloid dan flavonoid berpotensi sebagai antimikroba (Sandrasgaran dkk., 2014).

1. Alkaloid

Menurut Prabhakar dan Doble (2008), alkaloid (Gambar 2) adalah golongan senyawa organik terbanyak di alam yang bersifat basa yang tergantung pada pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa. Jika gugus fungsional yang berdekatan bersifat menarik elektron maka ketersediaan pasangan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan alkaloid dapat bersifat netral atau bahkan bersifat sedikit asam. Alkaloid merupakan golongan yang sebagian besar bersifat semi polar (Aniszewski, 2007).

Alkaloid di alam memiliki keaktifan biologis, seperti kuinin, morfin, dan stiknin. Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting dan kulit batang (Robinson, 1995). Senyawa bioaktif utama yang terkandung

dalam batang semu *Dendrobium crumenatum* diberi nama dendrobine (Khouri dkk., 2006).

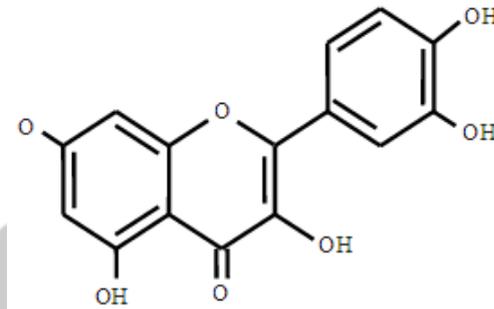


Gambar 2. Struktur umum senyawa alkaloid (Sumber: Robinson, 1995)

Uji alkaloid secara kualitatif dapat dilakukan dengan metode Mayer, Wagner dan Dragendorff. Hasil positif uji Mayer ditandai dengan endapan putih. Hasil positif uji Wagner ditandai dengan endapan coklat muda sampai kuning. Hasil positif uji Dragendorff ditandai dengan endapan merah. Endapan-endapan tersebut diperkirakan merupakan kompleks kalium-alkaloid (Marliana dkk., 2005).

2. Flavonoid

Golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik pada pigmen tumbuhan disebut flavonoid (Gambar 3) (Markham, 1988). Hasil positif uji flavonoid ditandai dengan perubahan warna pada tabung (Taher, 2011). Flavonoid mempunyai tingkat polaritas yang rendah (Andersen dan Markham, 2006). Kebanyakan flavonoid tubuh manusia sebagai antioksidan. Pigmen dominan pada genus *Dendrobium* yaitu kaempferol, kuersetin, miriketin, dan turunan methylated, namun satunya-satunya golongan yang pernah dilaporkan yang pernah ada pada *Dendrobium* yaitu kuersetin (Kuehnle dkk., 1997).



Gambar 3. Kerangka C₆-C₃-C₆ Flavonoid (Sumber: Cuppett dkk., 1954)

C. Proses Ekstraksi

Maserasi merupakan metode sederhana yang dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah *inert* yang tertutup rapat pada suhu kamar (25°C) (Mukhriani, 2014). Proses ini dihentikan saat tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman, dan pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode ini dipakai karena memiliki kelebihan yaitu dapat menghindari rusaknya senyawa termolabil (Mukhriani, 2014).

Selain itu, terdapat juga metode *ultrasound* yang merupakan alternatif lain dari metode maserasi dengan menggunakan sinyal dengan frekuensi tinggi yaitu 20kHz. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel sehingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil dari ekstraksi (Mukhriani, 2014). Metode ini tidak digunakan karena umumnya diterapkan untuk memfasilitasi ekstraksi metabolit intraseluler dari kultur sel tanaman (Sediawan dan Prasetya, 1997).

D. Jenis Pelarut

Metanol (CH_3OH) merupakan pelarut tidak berwarna (Fessenden dan Fessenden, 1997). Pelarut metanol dapat mengikat senyawa polar, nonpolar, maupun semipolar (Pane, 2013). Metanol memiliki kepolaran yang cukup tinggi yaitu 76,2 (air memiliki polaritas 100) (Smallwood, 1996).

Etil asetat merupakan senyawa organik yang memiliki rumus kimia $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ (David dkk., 1983). Etil asetat merupakan pelarut yang memiliki kepolaran yaitu 23 (Smallwood, 1996) dan sering digunakan karena dapat menyari senyawa seperti flavonoid polihidroksi dan jenis-jenis fenol lainnya (David dkk., 1983).

Pelarut metanol dan etil asetat dipakai untuk ekstraksi senyawa organik, seperti yang dilakukan oleh Mamidala dan Paindla (2014), uji fitokimia pada tanaman anting-anting golongan senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif terdapat pada tanaman anting-anting. Menurut Pham dkk., (2015) metanol merupakan pelarut yang baik untuk mengekstrak senyawa saponin dan flavonoid. Etil asetat merupakan pelarut semipolar yang dapat mengekstraksi senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid dengan baik.

Pelarut Dimetil Sulfooksida (DMSO) dapat membantu melarutkan senyawa organik. Pelarut DMSO dapat melarutkan zat-zat seperti karbohidrat, polimer (poliakrilnitril, polisulfon, dan polietersulfon, polyetherimide, polyurethane), peptida, serta garam-garam anorganik dan gas. Selain itu, manfaat DMSO di bidang industri digunakan sebagai pelarut antibiotik, fungisida, hormon tanaman, dan herbisida (Fieser dan Fieser, 1967). Hampir

semua senyawa polar dan non polar bisa larut oleh DMSO (Assidqi dkk., 2012). Pelarut DMSO serta pelarut etil asetat belum pernah digunakan sebagai pelarut pada ekstraksi tanaman anggrek merpati, sedangkan metanol pernah digunakan pada anggrek merpati yang dilakukan oleh Sandrasagaran dkk. (2014).

E. Bakteri Uji

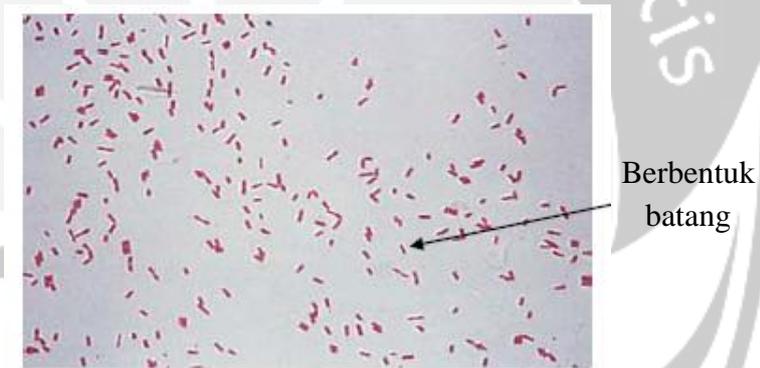
Bakteri adalah organisme bersel tunggal yang dapat berkembang biak dengan cara pembelahan sel. Bakteri dapat dibagi menjadi kelas-kelas berdasarkan bentuknya yaitu: kokus (bentuk bulat), vibrio (bakteri patogen), basil, kokobasil, dan spiroceta (Gibson, 1996). Ukuran diameter bakteri antara 0,5-1,0 μm (Pelczar dan Chan, 1981).

Bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok utama berdasarkan responnya terhadap pewarnaan Gram (Allen, 1995). Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan dan beberapa komponen khusus yang berupa asam-asam teikhoat dan teikhuronat serta polisakarida. Bakteri Gram negatif tersusun atas peptidoglikan dan beberapa komponen khusus berupa lipoprotein, selaput luar, dan lipopolisakarida (Jawetz dkk., 1996).

Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas 20% peptidoglikan, dan dinding Gram negatif hanya terdapat 1-2% peptidoglikan (Maunatin dan Khanifa, 2012). Bakteri Gram positif resisten terhadap penisilin, kurang resisten dengan streptomisin, dan terhadap lisozim, sedangkan bakteri Gram negatif

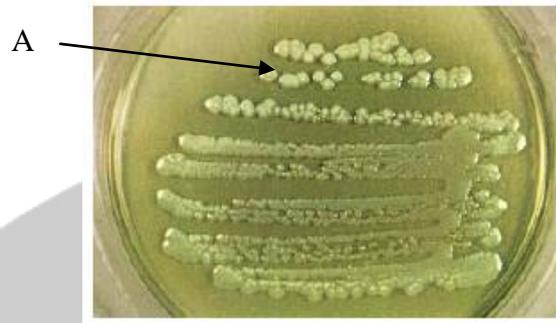
memiliki ciri-ciri resisten terhadap streptomisin dan kurang resisten terhadap penisilin kebalikan dari bakteri Gram positif (Alcamo, 1984).

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, aerob, bergerak dengan flagel (Rapi dkk., 2017), berbentuk batang (*rod*) (Gambar 4), memiliki koloni bakteri berwarna putih (Gambar 5), serta merupakan famili Pseudomonadaceae. Bakteri ini dapat ditemukan di tanah dan air. Selain itu, ukuran bakteri ini antara 0,5-0,8 μ m. Hampir seluruh galur dari *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri motil (Todar, 2012).



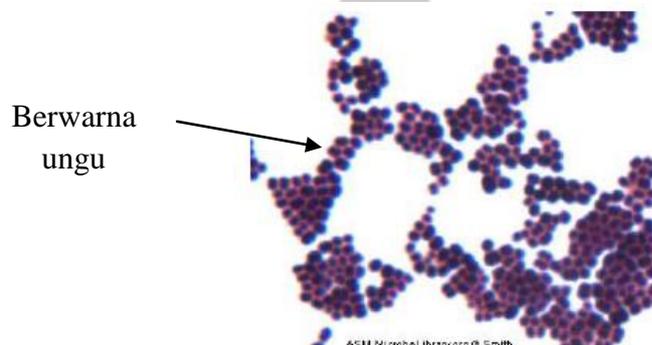
Gambar 4. Pewarnaan Gram bakteri *P. aeruginosa*
(Sumber: Todar, 2012)

P. aeruginosa merupakan bakteri yang dapat tumbuh walaupun memiliki nutrisi sedikit. Bakteri ini berbentuk koloni bakteri yang kecil dan kasar. Suhu optimal bakteri ini yaitu 37°C sampai 42°C. Bakteri ini resisten terhadap lingkungan dengan konsentrasi garam yang tinggi yaitu 30%, antiseptik lemah, dan beberapa antibiotik yang umum digunakan. Bakteri ini menyebabkan infeksi pada penderita kanker, luka bakar maupun fibrosis, sehingga menyebabkan kematian pada pasien sekitar 50% (Todar, 2012).



Gambar 5. Koloni bakteri *P. aeruginosa* (A) yang berwarna putih, menggunakan metode *streak plate* (Sumber: Todar, 2012)

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri Gram positif (Gambar 6) yang bersifat aerob atau anaerob fakultatif (Jawetz dkk., 2001), bentuk kokus, tidak membentuk spora, tidak motil (bergerak), berkelompok tidak teratur, koloni berwarna putih, suhu optimum yaitu 37°C. Koloni berbentuk bulat halus, berkilau, menonjol, tidak berpigmen, berwarna putih porselen, memiliki koagulasi negatif, dan tidak dapat memfermentasi manitol. Bakteri ini terdapat di kulit, bisul, luka, dan selaput lendir (Jawetz dkk., 2006). Bakteri *Staphylococcus epidermidis* memiliki tepi *entire* dan pada uji katalase bakteri ini positif dan dapat memfermentasi glukosa, sukrosa, maltosa, laktosa (Breed dkk., 1957).



Gambar 6. Pewarnaan Gram *Staphylococcus epidermidis* (Sumber: Smith dan Hussey, 2005)

Pemilihan kedua jenis bakteri ini karena sekitar 75% isolat *Staphylococcusepidermidis* telah mengalami resistensi terhadap nafcilin, oxacillin, methicillin, dan penicillin (Jawetz dkk., 2010; Ryan dan Ray, 2010). Tingginya angka resistensi ini akan menyulitkan dalam pengobatan infeksi dan menambah beban biaya pengobatan bagi pasien (Aloush, 2006), sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan spesies yang paling banyak menyebabkan infeksi diantara spesies *Pseudomonas* yang lain (Ryan dan Ray, 2010). Bakteri ini masih menjadi bakteri Gram negatif tertinggi yang menyebabkan infeksi nosokomial dan meliputi 16% kasus pneumonia nosokomial, 12% infeksi traktus urinarius di rumah sakit, 8% infeksi luka operasi, dan 10% infeksi dalam aliran darah (Rossolini dan Mantengoli, 2005).

F. Antibakteri dan Antibiotik

Antibakteri merupakan senyawa kimia yang berfungsi dalam mengontrol pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Antibakteri ditemukan secara alamiah di alam, dapat pula disintesis, maupun gabungan dari keduanya. Senyawa antibakteri dibagi menjadi tiga berdasarkan keaktifannya membunuh maupun menghambat, antara lain bakteriosida, bakteriostatik, dan bakteriolitik (Perry dkk., 2002). Kemampuan suatu senyawa dalam membunuh bakteri yang disebut bakteriosida, yang berasal dari bahasa Latin *cida* yang berarti “memiliki kekuatan untuk membunuh”. Senyawa lain yang memiliki kemampuan bukan untuk membunuh, melainkan menghambat pertumbuhan bakteri yang disebut senyawa bakteriostatik. Senyawa yang terakhir memiliki

kemampuan memecah atau melisiskan sel bakteri yang disebut dengan bakteriolitik (Perry dkk., 2002).

Antibakteri dapat dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu menghambat metabolisme sel, sintesis dinding sel, mengganggu keutuhan membran, dan menghambat sintesis (Yuningsih, 2007). Antibakteri yang menghambat metabolisme sel dengan cara mengganggu atau menghambat metabolisme sel untuk menghasilkan asam folat dan asam paraaminobenzoat (PABA) yang dibutuhkan bakteri untuk kelangsungan hidupnya. Penghambatan dilakukan dengan cara penggabungan antibakteri dengan PABA sehingga terbentuk asam folat (Yuningsih, 2007).

Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel yaitu dengan menghambat sintesis peptidoglikan melalui suatu kompleks glikopeptida yang menyusun dinding sel, dengan cara menghambat sintesis dari awal pembentukan dinding sel. Antibakteri mengganggu keutuhan membran sel dengan bereaksi dengan fosfat dan fosfolipid dari membran sehingga kadar fosfornya menurun. Hal ini mengubah tegangan permukaan dan memengaruhi permeabilitas selektif (Yuningsih, 2007).

Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel dengan cara terikatnya antibakteri dengan ribosom 30S, sehingga menyebabkan kode mRNA salah baca sehingga menghalangi kompleks tRNA asam amino pada lokasi sintesis. Cara lainnya yaitu antibakteri berikatan dengan ribosom 50S yang menyebabkan terhambatnya pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim transferase (Yuningsih, 2007).

Manfaat dari senyawa antibakteri yaitu untuk membunuh bakteri yang hadir dalam tubuh manusia atau hewan. Bakteri setelah masuk ke dalam tubuh manusia, akan menggunakan tubuh sebagai inang dan akan berkembang biak, hal ini dapat menimbulkan penyakit dan infeksi. Antibakteri membunuh bakteri yang hadir dalam tubuh dan dapat juga menghilangkan penyakit. (Perry dkk., 2002).

Antibiotik merupakan substansi kimia yang dihasilkan mikroorganisme, yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri hingga membunuh bakteri dan mikroorganisme lainnya. Antibiotik memiliki toksisitas selektif pada beberapa tipe sel hidup dan kurang toksik pada sel lainnya. Beberapa antibiotik memiliki efek terhadap bakteri terbatas sehingga disebut antibiotik *narrow spectrum*. Salah satunya yaitu penisilin yang biasanya efektif pada bakteri dengan sifat Gram positif, sedangkan antibiotik yang menghambat bakteri Gram positif dan negatif adalah antibiotik bersifat *broad spectrum*, seperti tetrasiklin dan ampisilin (Perry dkk., 2002). Menurut Suprianto (2008), klasifikasi penghambatan suatu senyawa antibakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

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

Luas Zona Hambat (cm²)	Kemampuan Menghambat
> 3,14	Sangat Kuat
0,785 – 3,14	Kuat
0,196 – 0,785	Sedang
< 0,196	Lemah

(Sumber: Suprianto, 2008)

Ampisilin merupakan antibiotik turunan penisilin yang tergolong dalam antibiotik β -laktam. Antibiotik jenis ini menghambat bakteri Gram positif

maupaun beberapa bakteri Gram negatif yang bertindak sebagai kompetitif inhibitor dari enzim transpeptidase, yang dibutuhkan bakteri untuk membuat dinding (Sharma dkk., 2013). Mekanisme kerja ampisilin yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida dengan menghambat kerja enzim transpeptidase. Kemudian karena sintesis dinding sel terganggu sehingga sel lisis (Siahaan, 2007).

Antimikroba yang berbahaya untuk parasit tetapi tidak untuk inang disebut toksisitas selektif (Prasetyo, 2009). Resistensi antibiotik dapat disebabkan:

1. Enzim inaktivator atau penghancur antimikrobia disintesis bakteri
 2. Adanya perubahan struktur sasaran obat
 3. Permeabilitas obat diubah bakteri
 4. Adanya perubahan enzim yang dikembangkan oleh bakteri
 5. Bakteri mengembangkan perubahan jalur metabolik yang dihambat obat
- (Utami, 2012)

G. Parameter Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri menggunakan dua macam parameter yaitu luas zona hambat dan konsentrasi hambat minimum.

1. Luas Zona Hambat

Metode yang digunakan yaitu metode sumuran yang dilakukan dengan cara membuat sumuran/melubangi agar, lalu ditambahkan senyawa yang

akan diujikan. Sumuran dibuat lalu diisi dengan senyawa uji yang akan digunakan. Setelah itu dilakukan inkubasi lalu zona bening yang terbentuk diamati (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Aktivitas antimikroba dapat ditentukan melalui konsentrasi senyawa terkecil yang menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai KHM. Metode ini ditentukan dengan menggunakan suatu senyawa yang diberikan pada bakteri uji yang telah ditumbuhkan pada medium cair, lalu tabung dibuat dengan seri pengenceran dan senyawa tertentu ditambahkan. Tabung diinkubasi lalu diurutkan berdasarkan pertumbuhan bakteri (berdasarkan kekeruhan), dan KHM adalah konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri (Madigan dkk., 2015).

Aktivitas antimikroba dapat pula ditentukan dengan menggunakan medium berupa agar. Sejumlah antimikroba yang telah ditentukan dimasukkan ke sumuran pada petri yang telah dinokulasi bakteri uji. Setelah itu, petri diinkubasi dan terjadi proses senyawa antimikroba yang terdapat pada sumuran akan berdifusi ke agar. Zona bening (zona inhibisi) akan membentuk diameter yang sesuai dengan jumlah antimikroba yang telah ditambahkan ke dalam sumuran, kelarutan dari senyawa antimikroba, efektivitas senyawa antimikroba, dan koefisien kemampuan difusi (Madigan dkk., 2015).

H. Hipotesis

1. Pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak lebih baik dengan aktivitas antibakteri batang semu anggrek merpati (*Dendrobium crumenatum*).
2. Konsentrasi hambat minium (KHM) ekstrak batang semu anggrek merpati (*D. crumenatum*) adalah 2,3% terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *S.epidermidis*.

