

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Namnam (*Cynometra cauliflora*)

Tanaman namnam atau namnaman merupakan pohon dari suku polong-polongan asli Indonesia dan Asia Tenggara, pohonnya digunakan sebagai tanaman penghias halaman atau untuk dimanfaatkan buahnya (Agus dkk., 2010). Tanaman namnam memiliki tinggi antara 3-5 m, batang silindris, permukaan batang berbenjol dan berwarna coklat. Bentuk tajuk membulat, agak rapat, ranting berbentuk *zig-zag*. Daun majemuk berwarna hijau kemerahan sampai merah muda ketika masih muda dan berwarna hijau cerah sampai hijau gelap saat tua. Daun mengkilap pada permukaan atas, pada permukaan bawah berwarna putih kusam atau hijau kusam. Bentuk daun lonjong dengan panjang 5-10 cm dan lebar 3-5 cm, kedudukan anak daun berhadapan dengan pangkalnya yang miring (Agus dkk., 2010).

Bunga tanaman namnam berwarna putih kekuningan, bentuknya kecil, bergerombol dalam tandan, menempel pada batang pohon dan cabang yang besar. Bakal buah bertangkai sangat pendek dengan bakal biji berjumlah 1 atau kosong, berwarna merah. Bentuk buah mirip seperti kerang berbentuk elips miring sampai setengah lingkaran dengan panjang 9-10 cm, berdaging, kenampakan luarnya tidak rata dan berbenjol. Buah muda berwarna hijau kecoklatan dan saat tua akan menjadi kuning (Agus dkk., 2010). Daun tanaman namnam dapat dilihat pada Gambar 1 dan

Gambar 2. Penampakan bunga dan buah tanaman namnam dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Tanaman namnam ini sudah biasa digunakan sebagai pengobatan tradisional (Sukandar dan Amelia, 2013). Menurut Aziz dan Iqbal (2013), terdapat beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri pada daun namnam seperti flavonoid, saponin dan tanin yang mengganggu permeabilitas sel bakteri sehingga bakteri terhambat pertumbuhannya. Menurut Tjitrosoepomo (2016) dan Kusuma (1993), klasifikasi tanaman namnam adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Fabales
Suku	: Fabaceae (Leguminosae)
Sub Suku	: Caesalpinoideae
Marga	: Cynometra
Jenis	: <i>Cynometra cauliflora</i> , L.



Gambar 1. Penampakan daun muda segar namnam berwarna merah muda, daun berbentuk lonjong dengan panjang 5-10 cm dan lebar 3-5 cm (Sumber: Sukandar dan Amelia, 2013).



Gambar 2. Penampakan daun tua segar namnam berwarna hijau, berbentuk lonjong dengan panjang 5-10 cm dan lebar 3-5 cm (Sumber: Sukandar dan Amelia, 2013).



Gambar 3. Penampakan bunga segar namnam berwarna putih kekuningan, bentuknya kecil, bergerombol, menempel pada batang pohon dan cabang yang besar (Sumber: Hermanto dkk., 2013).



Gambar 4. Penampakan buah segar yang menempel pada batang pohon namnam. Buah seperti kerang, bentuk elips dengan panjang 9-10 cm (Sumber: Sukandar dan Amelia, 2013).

Telah dilaporkan sebelumnya menurut penelitian Sukandar dkk., (2013), kandungan fenolik sari buah namnam memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan kandungan fenolik sari lemon, tomat dan limau yaitu sebesar 996,03 mg/L (Heyne, 1987). Tanaman namnam memiliki kandungan senyawa golongan triterpenoid, flavonoid, saponin, tanin (Sukandar dkk., 2015) dan ekstraknya memiliki kandungan fenolik serta aktivitas antioksidan (Rabeta dan Nur, 2013).

Daun namnam juga mengandung senyawa antibakteri saponin yang bekerja dengan cara merusak membran sel. Flavonoid dapat menyebabkan dinding sel bakteri menjadi rusak sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat atau bahkan mati. Buah yang masak memiliki rasa asam manis segar, dapat dimakan langsung atau sebagai bahan rujak atau olahan campuran olahan sambal. Tanaman namnam sudah jarang dikonsumsi karena banyak orang yang belum mengetahui tentang tanaman ini. Perlu dicari alternatif lain untuk memanfaatkan tanaman namnam.

B. Senyawa Metabolit Sekunder Daun Namnam

Daun namnam memiliki kandungan kimia yang berperan sebagai antibakteri berupa alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid (Aziz dan Iqbal, 2013). Menurut Ajizah (2004), tanin bekerja dengan cara mengerutkan dinding sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat. Saponin bekerja dengan cara merusak membran sitoplasma (Assani, 1994). Kandungan flavonoid menyebabkan permeabilitas dari dinding sel bakteri mengalami kerusakan (Sabir, 2005) karena basa pada

asam nukleat akan berikatan dengan flavonoid dan akan menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri (Mori dkk., 1987).

Berdasarkan penelitian Maharani dkk. (2016), fraksi etil asetat daun namnam mengandung senyawa aktif antibakteri yang dapat dilihat dari serapan ultraviolet yaitu pada panjang gelombang 206,93 nm (OH fenol), 268,40 nm (CH), 328,58 nm (C-OH siklik), 383,98 nm (C=C aromatik) dan 386,98 nm (CH aromatik). senyawa lain yang diduga terkandung dalam daun namnam dapat terlihat dari tiga puncak utama yaitu 2-isopropil-5- metilsikloheksil 2-hidroksipropanoat dengan waktu retensi 4, 82, Cuelure dengan waktu retensi 6, 87 dan 2-[(2-Hydroxycyclohexyl)oxy] cyclohexanecarboxylate dengan waktu retensi 7,64 (Maharani dkk., 2016).

Kandungan yang terdapat pada keseluruhan daun namnam baik itu daun muda atau daun tua adalah kandungan tanin, flavonoid dan saponin (Aziz dan Iqbal, 2013). Total flavonoid dengan pengestrak air yaitu sebesar 13,24-33,63 mg (Aziz dan Iqbal, 2013). Menurut Maharani dkk. (2016), mayoritas senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada daun namnam adalah flavonoid karena jenis flavonoid yang terkandung dalam daun namnam terbilang dalam jumlah yang banyak yaitu *Daticetin*, *Robinetin*, *Myricetin*, *Epigallocatechin* dan *7,8-dihidroksiflavon*. Total fenolik dan flavonoid yang terkandung ada daun namnam dapat dilihat pada Tabel 1, analisis fitokimia kualitatif daun namnam dapat dilihat pada

Tabel 2 dan analisis fitokimia kuantitatif yang terkandung ada daun namnam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Total Fenolik (mg GAE/g ekstrak) dan Total Flavonoid (mg GAE/g ekstrak) daun namnam dalam Pengekstrak Air

	Total Fenolik	Total Flavonoid
Daun muda	1831.47 ± 1.03	21.96 ± 0.3
Daun batang	639 ± 1.8	19.65 ± 0.05
Daun kayu	447.2 ± 1.99	13.24 ± 0.1
Daun tua	1180.47 ± 1.93	33.63 ± 0.25

(Sumber: Aziz dan Iqbal, 2013).

Tabel 2. Analisis Kualitatif Fitokimia daun namnam dalam Pengekstrak Air (Sumber: Aziz dan Iqbal, 2013).

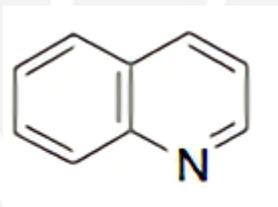
Senyawa	Daun batang	Daun tua	Daun kayu	Daun muda
Tanin	+	+	+	+
Phylobatannin	-	-	-	-
Saponin	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Terpenoid	+	+	-	+

Alkaloid berasal dari kata “alkaline” mengandung paling sedikit satu atom nitrogen basa dan membentuk cincin heterosiklik (Harborne, 1987; Saxena dkk., 2013). Alkaloid akan larut dalam air jika berupa garam dan sukar larut dalam pelarut organik, sebaliknya bentuk basanya akan mudah dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air (Sirait, 2007). Pengujian keberadaan alkaloid umumnya menggunakan tiga pereaksi yaitu Meyer dengan endapan putih untuk hasil positifnya, Wagner dengan terbentuk endapan coklat sebagai reaksi positifnya dan Dragendorf dengan endapan colat muda sampai kuning sebagai reaksi positifnya (Marliana dkk., 2005). Struktur alkaloid dapat dilihat pada Gambar 5.

Tabel 3. Analisis Kualitatif Fitokimia daun namnam dengan variasi pelarut

Senyawa	Jenis Pelarut				
	Metanol	n-heksan	Etil asetat	n-butanol	Air
Saponin	+	+	+	+	+
Steroid/triterpenoid	+	-	-	-	+
Tanin	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	-
Alkaloid	-	-	-	-	-
Kuinon	+	+	+	+	+

(Sumber: Sumarlin, 2016)



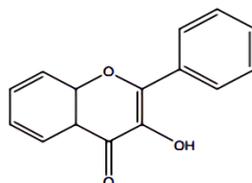
Gambar 5. Struktur Alkaloid (Sumber: Harborne, 1984)

Flavonoid merupakan salah satu senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi baik secara nonenzim ataupun secara enzimatik (Robinson, 1995). Flavonoid pada tumbuhan dapat dijumpai sebagai pigmen warna namun beberapa flavonoid juga tidak berwarna. Beberapa flavonoid seperti jenis fitoaleksin dapat digunakan sebagai antimikrobia dan antifungi sehingga menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid sering dipakai dalam pengobatan (Robinson, 1995).

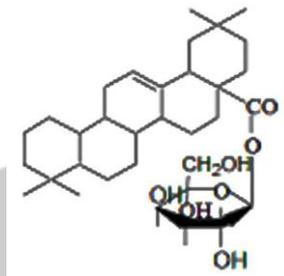
Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida yang merupakan senyawa turunan fenol, bersifat polar yang dapat larut dalam air (Ikalinus

dkk., 2015). Hasil reaksi positif dari uji flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi kuning, merah ceri atau oranye (Ikalinus dkk., 2015). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$ yang berarti kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus cincin benzena tersubstitusi (C_6) yang kemudian disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995). Kerangka tersebut dapat menghasilkan 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Elizabeth dkk., 2012). Struktur flavonoid pada Gambar 6.

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan apabila dikocok dalam air dapat berbusa oleh sebab itu diberi nama saponin karena memiliki sifat seperti sabun. Saponin dapat menyebabkan hemolisis darah merah pada konsentrasi rendah. Beberapa saponin juga bekerja sebagai antimikrobia (Robinson, 1995). Keberadaan gugus polar dan nonpolar pada saponin bersifat aktif sehingga dapat menimbulkan busa saat dikocok dalam air. Busa yang terbentuk dinamakan misel. Misel berupa gugus polar yang menghadap ke luar dan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam (Sangi dkk., 2008). Struktur saponin dapat dilihat pada Gambar 7.

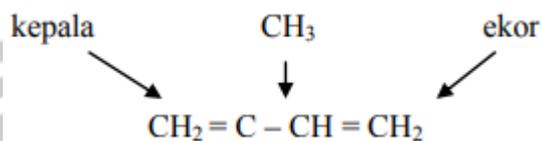


Gambar 6. Struktur Flavonoid (Sumber: Harborne, 1984)



Gambar 7. Struktur Saponin (Robinson, 1995)

Terpenoid merupakan senyawa yang terbentuk dari satuan isopropena (Robinson, 1995). Senyawa ini dapat dijumpai pada tumbuhan yang memiliki senyawa karbon (Saifudin, 2014; Robinson, 1995). Kerangka karbon terpenoid tersusun atas dua atau lebih satuan C_5 (Harborne, 1987). Senyawa ini larut dalam lemak dan biasa diekstraksi menggunakan eter atau kloroform (Harborne, 1987). Peran terpenoid pada tumbuhan adalah sebagai penghambat sel bakteri sehingga tumbuhan yang mengandung terpenoid sering kali dijadikan sebagai obat (Supari dkk., 2016; Harborne, 1987). Struktur terpenoid dapat dilihat pada Gambar 8.

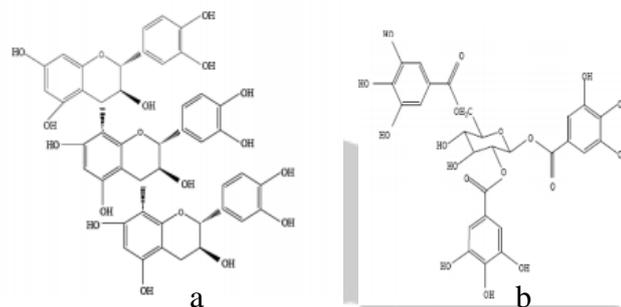


Gambar 8. Struktur terpenoid (Sumber: Harborne, 1987)

Steroid merupakan kerangka dasar dari terpenoid yang terbentuk dari sistem cincin siklopentana prehidrofenantrena (Djamal, 1998). Semua steroid tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksi pada C-3 yang sebagian besar adalah senyawa polar (Robinson, 1995). Pengenceran ekstrak metanol atau kloroform dalam air menyebabkan sterol berada dalam lapisan sterol dan terpenoid atau triterpen netral dan asam

mengendap (Robinson, 1995). Terbentuknya cincin kecokelatan atau keunguan padaperbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid dan warna biru kehijauan atau hijau menunjukkan adanya sterol (Marliana dan Saleh, 2011).

Tanin merupakan senyawa yang memiliki gugus fenol yang secara kimia terbagi menjadi dua golongan yaitu tanin yang terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Linggawati dkk., 2002; Desmiaty dkk., 2008). Tanin terkondensasi berkhasiat sebagai astringen, antimikrobia, antioksidan sedangkan tanin terhidrolisis merupakan campuran fenol sederhana yang dihubungkan ester dalam strukturnya (Altemimi dkk., 2017) lebih bersifat toksik karena komponen penyusunnya mudah dihidrolisis menjadi asam galat (Xuepin, 2003; Mills dan Bone, 2000). Yokozawa dkk. (2002) menyimpulkan bahwa tanin tertentu memiliki kemampuan antioksidan yang besar. Komponen zat penyusun tanin adalah senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal (Desmiaty dkk., 200). Tanin berperan biologis dalam pengendap protein dan pengkelat logam. Beberapa khasiat tanin antara lain adalah sebagai astringen, antibakteri, antidiare dan antioksidan alami (Hagerman, 2002). Struktur tanin dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Struktur kimia tanin terkondensasi (a), dan terhidrolisis (b)
(Sumber: Heinrich dkk., 2004).

C. Metode Ekstraksi Daun Namnam

Ekstraksi merupakan suatu proses untuk memisahkan suatu bahan dari suatu bahan campuran dengan pelarut yang sesuai (Mukhiarni, 2014). Hasil dari proses ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak dapat berupa sediaan kering, kental maupun cair (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi menggunakan pelarut yang diimbangi dengan pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar yaitu $25-27^{\circ}\text{C}$ (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Kekurangan dari metode ini adalah menghasilkan rendemen yang rendah dibawah 50% dan dapat mempercepat proses oksidasi senyawa antioksidan sehingga dapat mengurangi kemampuan senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas (Sholihah dkk., 2017). Maserasi memiliki keuntungan yaitu mencegah terurainya metabolit yang termolabil (Sumarlin dkk., 2016).

Prinsip dalam melakukan proses ekstraksi adalah *like dissolves like* atau kepolaran pelarut dan senyawa yang akan dilarutkan harus memiliki kepolaran yang sama (Suryani dkk., 2016). Menurut Maharani dkk., (2016), senyawa antibakteri flavonoid daun namnam sebesar 13,24 sampai 33,63mg CAE/g (Aziz dan Iqbal, 2013). Flavonoid merupakan senyawa polifenol, polar, larut dalam pelarut polar (Markham, 1988) pada tumbuhan yang terdistribusi dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula (Suryani dkk., 2016).

Metanol merupakan pelarut yang biasa dipilih untuk mengekstrak metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya dan untuk tujuan skrining. Metanol memiliki gugus polar (-OH) yang dapat juga menarik senyawa yang bersifat polar serta memiliki daya ekstraksi yang luas (Saifudin, 2012).

D. Gel

Gel merupakan sistem semipadat yang terdiri dari suspensi partikel-partikel atau makromolekul yang terlarut pada fase pendispersi yang dibatasi oleh sebuah jalinan jaringan tiga dimensi (Direktorat Jenderal POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Karakteristik umum gel yang diharapkan dalam sediaan topikal adalah struktur yang kontinu dan melengkapi sifat lain seperti bahan padat (Gibson, 2001), mudah dicuci, tidak berminyak, daya sebar baik, terasa ringan dan dapat bercampur dengan air (Ofner dan Klech, 2007).

Menurut Allen (2002), sistem gel yang baik penampilannya jernih namun ada juga yang tidak jernih karena mungkin secara molekuler, kandungan bahannya tidak terdispersi dengan baik. Gel akan berbentuk padat bila disimpan (aliran tiksotropik) dan apabila dikocok akan mencair (aliran pseudoplastik) (Lachman dkk., 1994). Beberapa keuntungan sediaan gel adalah konsentrasi bahan pembentuk massa gel hanya diperlukan dalam jumlah yang sedikit, teksturnya tidak lengket, serta viskositas tidak mudah mengalami perubahan pada variasi suhu penyimpanan (Marzuki dkk., 2011).

Basis dalam sediaan semipadat merupakan salah satu komponen dan faktor yang sangat penting karena sangat menentukan baik atau buruknya sediaan tersebut (Sulaiman & Kuswahyuning, 2008). Basis gel dibedakan menjadi basis gel hidrofilik dan basis gel hidrofobik. Basis gel hidrofilik memiliki daya sebar yang baik pada kulit, memiliki efek dingin, mudah dicuci dan tidak menyumbat pori. Contoh basis gel hidrofilik adalah karbopol 940 atau karbomer, pektin, sodium CMC dan HPMC. Dasar gel hidrofobik antara lain mineral oil/gel polietilen, petrolatum, plastibase, carbowax bases, aluminium stearat (Gupta dkk., 2010; Madam dan Singh, 2010).

Pengelompokkan pembentuk gel (*gelling agent*) dan sebagian contohnya adalah sebagai berikut (Buchan dkk., 2010; Gupta dkk., 2010) :

- a. Protein : Kolagen, Gelatin
- b. Polisakarida : Alginat, Starch, Guar gum, Pektin

- c. Polimer semisintetik : CMC, HPMC, HPC
- d. Polimer sintetik : Karbomer, Polyvinyl alcohol
- e. Bahan anorganik : Laponite

Karbopol 940 atau karbomer 940 merupakan polimer akrilik dan akan membentuk gel yang transparan dan bioadhesive. Karbopol saat disebar dalam air akan mengembang, membentuk polimer untuk membentuk dispersi koloid yang bertindak sebagai elektrolit anionik (Buchan dkk., 2010). Untuk pengembangan karbopol cukup menggunakan air pada suhu ruang kemudian karbopol dimasukkan dalam air lalu diaduk cepat hingga terbentuk masa gel. Menurut Buchan dkk. (2010), sifat karbopol yang viskositasnya berubah sesuai dengan pH pada mediumnya sering kali dimanfaatkan dalam pembuatan in situ gel contohnya untuk pengobatan komplikasi optalmik dalam sistinosis. Karbopol 940 dapat menghasilkan masa gel yang memiliki spesifikasi yang dibutuhkan sebagai hand sanitizer (Buchan dkk., 2010).

Karbopol 940 dengan rumus kimia $(C_3H_4O_2)_n$ memiliki viskositas antara 40.000-60.000 (cP) yang dapat diaplikasikan sebagai bahan pengental yang baik karena viskositasnya tinggi dan menghasilkan gel yang bening (Rowe dkk., 2009). Pembentukan gel pada karbopol 940 terjadi saat struktur polimer dari karbopol terikat sebagai ikatan silang dengan pelarut sehingga molekul pelarut akan terjebak didalamnya dan terbentuk struktur yang kaku (Martin, 2008).

Karbopol atau karbomer memiliki karakteristik higroskopis, berwarna putih dan biasa digunakan dalam bentuk cair maupun semipadat sebagai basis gel. Pemilihan karbopol sebagai basis gel karena sifatnya yang mudah terdispersi dalam air dan memberikan kekentalan pada gel (Rowe dkk., 2009). Karbopol berupa serbuk putih, sangat mudah terion, sedikit asam dan merupakan polimer sintetik asam akrilat (Rowe dkk., 2009). Karbopol stabil pada pH 7,7 dan biasa digunakan pada sediaan kosmetik sebagai pengental, *stabilizer* dan surfaktan (Rowe dkk., 2009).

Serbuk karbopol harus disimpan dalam wadah kedap udara dan cahaya agar terlindung dari kelembapan. Paparan suhu yang terlalu tinggi di atas suhu ruang atau di atas 25°C akan memengaruhi kestabilan dari karbopol. Karbopol memiliki sifat tidak toksik dan tidak akan memengaruhi aktivitas senyawa aktif yang dicampurkan ke dalamnya (Barry, 1983).

E. Deskripsi *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dengan dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan tebal dan kaku (Jawetz dkk., 2006), terdapat pada kulit, selaput lendir, hidung dan mulut (Miranti dkk., 2013).. *S. aureus* bersifat nonmotil, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, berdiameter 0,5-1,5µm, berwarna kuning keemasan, koloninya bulat cembung, mengkilat dan margin rata (Dewi, 2013). *S. aureus* memiliki suhu pertumbuhan optimum 37°C, memiliki reaksi positif dalam uji katalase, mampu memfermentasikan glukosa dan mampu

memfermentasikan manitol (Bergey dkk., 1957). Taksonomi *S.aureus* menurut *Global Biodiversity Information Facility* (2017) sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
Divisi : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Bangsa : Bacillales
Suku : Staphylococcaceae
Marga : *Staphylococcus*
Jenis : *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif patogen yang menginfeksi dengan cara memanfaatkan kerusakan mekanisme pertahanan sel inang. *P. aeruginosa* menyebabkan infeksi saluran pernapasan, infeksi jaringan lunak, infeksi saluran pencernaan serta infeksi sistemik lainnya terutama pada penderita luka bakar (Mayasari, 2005). Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang lebih tipis pada dinding selnya apabila dibandingkan dengan lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung polisakarida dan tidak mengandung asam terikat serta lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Jawetz dkk., 2006).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang berukuran sekitar 0,6 x 2µm (Mayasari, 2005), bersifat motil, berflagel, sifat metabolismenya bersifat oksidatif dan tumbuh pada suhu 27-37°C, bersifat aerobik obligat (Brooks dkk., 2010). Koloninya bulat dengan margin rata, katalase positif dan sering memproduksi pigmen hijau kebiruan yang disebut piosianin yang larut dalam agar namun ada juga beberapa galur yang tidak memproduksi piosianin (Brooks dkk.,

2010). Bakteri ini tidak mampu memfermentasi namun dapat mengoksidasi glukosa atau karbohidrat lain (Brooks dkk., 2010).

Bakteri ini banyak dijumpai dalam air, tanah, kulit, peralatan medis yang tidak steril serta seringkali menjadi masalah signifikan pada unit perawatan intensif di rumah sakit karena penyebarannya yang sangat cepat dan sulit diatasi. Infeksi oleh *P. aeruginosa* seringkali sulit diatasi karena masalah resistensi antibiotik yang sangat cepat dan banyak galur bakteri ini memproduksi eksotoksin A yang dapat memblok sintesis protein dengan membentuk jaringan nekrosis sehingga menyebabkan zat antibakteri sulit menghambat bakteri ini (Aloush, 2006). Liposakarida yang terdapat pada dinding sel *P. aeruginosa* berbentuk antigenik yang dapat merangsang respon imun untuk membentuk antibodi (Brooks dkk., 2005). Liposakarida ini bertanggung jawab pada sifat endotoksin dari bakteri ini. Liposakarida akan lepas dari dinding sel saat sel sedang berada pada suatu keadaan tertentu yang mengancam atau bersifat toksik bagi sel tersebut (Mahmmudi dkk., 2015).

Beberapa galur dari *P. aeruginosa* dinyatakan resisten terhadap berbagai antibiotik seperti *Piperacillin* atau *Tazobactam*, *Ceftazidime*, *Imipenem*, *Meropenem*, *Aztreonam*, *Amikacin*, dan *Tobramycin* (Ozer dkk., 2008). Menurut penelitian Ozer dkk. (2008) terhadap beberapa galur *P. aeruginosa* semuanya mengandung enzim metallo-beta-laktamase dimana enzim ini dapat menghidrolisis *sefalosporin* dan *carbapenem* yang menyebabkan bakteri ini kebal terhadap antibiotik. Kerentanan terhadap

antibiotik lain adalah 35% terhadap *Ciprofloxacin*, 10% terhadap *Ceftazidime*, 32% terhadap *Amikacin*, *Piperacillin* dan *Chloramphenicol*, 37% *Erythromycin*, *Nalidixic acid* dan *Cefotaxime*, 50% terhadap *Gentamicin* (Mahmmudi dkk., 2015).

Menurut Breed dkk. (1957), klasifikasi *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Pengecatan Gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri menjadi dua yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif. Reagen yang digunakan dalam pewarnaan ini ada 4 jenis yaitu Kristal violet, iodin, alkohol dan safranin. Hasil yang didapatkan dari pewarnaan Gram akan ditentukan dari komposisi dinding sel pada bakteri. Bakteri Gram positif akan mempertahankan kompleks pewarna primer berwarna ungu dari Kristal Violet sampai akhir prosedur pewarnaan (Purwoko, 2007). Sedangkan bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna ungu dari Kristal Violet dengan pembilasan Gram C tetapi terwarnai oleh perwarna tandingan Gram D berupa zat warna Safranin yang dapat terserap pada dinding sel sehingga saat dilihat dibawah mikroskop akan memperlihatkan warna merah (Sardiani dkk., 2015).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi sumuran hampir sama prinsipnya dengan difusi cakram. Inokulum diinokulasikan ke atas medium agar padat kemudian ekstrak atau senyawa antimikroba pada konsentrasi tertentu akan berdifusi membentuk zona bening dalam agar untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang diinokulasikan. Metode sumuran menggunakan perforator untuk melubangi medium agar sebagai tempat untuk meletakkan senyawa antimikroba yang hendak diuji (Misna dan Diana, 2016). Metode sumuran akan lebih menampakkan hasil yang nyata terhadap hasil zona beningnya (Greenwood, 1995) karena senyawa antimikroba beraktivitas tidak hanya pada permukaan atas medium tetapi sampai ke bagian dasar medium (Listari, 2009).

Senyawa antibakteri dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri yang berupa bahan kimia alami maupun sintesis (Madigan dkk., 2012). Kemampuan suatu zat dalam penghambatan pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, waktu inkubasi, konsentrasi zat antibakteri, sifat-sifat bakteri uji, kandungan senyawa antibakteri dan pH senyawa (Frazier dan Westhoff, 1988). Sifat antibakteri yang diharapkan adalah dapat menghambat bakteri tanpa menyebabkan resistensi, bersifat bakterisidal, larut dalam air dan tidak menimbulkan efek samping dalam jangka waktu dekat maupun dalam jangka waktu panjang (Murray dkk., 1990). Kemampuan penghambatan bakteri oleh suatu zat antibakteri dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Klasifikasi Kemampuan Daya Hambat Senyawa Antibakteri

Luas Zona Hambat (cm ²)	Klasifikasi
> 3,14	Sangat Kuat
0,785-3,14	Kuat
0,196-0,785	Sedang
<0,196	Lemah

(Sumber: Suprianto, 2008)

G. Hipotesis

1. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun namnam akan menghasilkan zona hambat yang lebih luas terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dan termasuk klasifikasi ekstrak dengan kemampuan daya hambat yang kuat yaitu dengan membentuk luas zona hambat seluas 0,785-3,14 cm².
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun namnam dalam sediaan *gel* akan memiliki zona hambat yang lebih luas terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dan termasuk klasifikasi ekstrak dengan kemampuan daya hambat yang kuat yaitu dengan membentuk luas zona hambat seluas 0,785-3,14 cm².