

II. TINJAUAN PUSTAKA

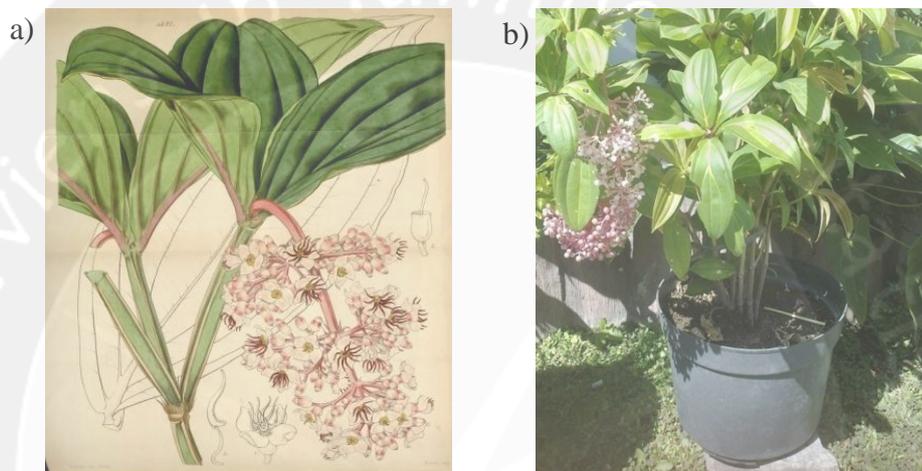
A. Deskripsi dan Taksonomi Tanaman Parijoto

Tanaman dari genus *Medinilla* memiliki karakteristik khas berupa daun dan bunga yang indah, sehingga diakui sebagai salah satu genus tanaman hutan tercantik yang ada di dunia (Maria dkk., 2012). Nama genus *Medinilla* tersebut pertama kali diberikan oleh Gaudichaud dalam *Botany of Freycinet's Voyage* sebagai bentuk penghormatan kepada Gubernur *Marianna Island* di Spanyol pada tahun 1820 yang bernama Don José de Medinilla y Pineda (Hooker, 1847). Salah satu spesies penting dari 418 spesies yang termasuk dalam genus *Medinilla* adalah *Medinilla speciosa* (Maria dkk., 2012). Sesuai dengan namanya, tanaman yang berasal dari Jawa ini memiliki bunga indah yang bentuknya berdempol dengan warna merah muda lembut (Hooker, 1847). Menurut Kementerian Negara Riset dan Teknologi (2015), hirarki taksonomi *Medinilla speciosa* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Melastomataceae
Marga	: <i>Medinilla</i>
Jenis	: <i>Medinilla speciosa</i> Blume

Sebagaimana yang diperlihatkan pada Gambar 1, *Medinilla speciosa* merupakan tanaman semak yang tumbuh tegak dan bercabang. Tanaman tersebut memiliki batang bersayap dan dapat bertumbuh hingga setinggi 4 kaki. Daunnya lebar, kokoh, berbentuk oval, atau oval jorong, permukaannya agak

bergelombang, umumnya berpangkal tumpul dan ujung runcing, serta terletak renggang berhadapan. Daun tersebut umumnya memiliki lima atau tujuh tulang daun yang tepinya tampak berwarna merah pada permukaan daun bagian bawah. Umumnya, ditemukan juga serabut akar yang tumbuh pada nodus tanaman ini (Hooker, 1847).



Gambar 1. a. Sketsa *Medinilla speciosa* (Sumber: Hooker, 1847)
b. Tanaman *Medinilla speciosa* (Sumber: Dokumentasi pribadi, 2015)

Medinilla speciosa memiliki tangkai bunga (*pedicels*) yang pendek dengan bunga berbentuk malai (*panicle*) yang bercabang dari suatu pokok malai. Malai berwarna merah tersebut sangat rapat hingga membentuk sebuah *thyrsus* panjang yang menjuntai ke bawah. Kaliks terdiri dari 5 sepala berlekatan dan korola terdiri dari 4 sampai 5 petala berlepasan berbentuk oval berujung runcing dan berwarna merah muda lembut. *Androecium* terdiri dari 8 sampai 10 stamen yang berbentuk melengkung, sedangkan stilus berbentuk melengkung dan lebih pendek daripada stamen (Hooker, 1847).

Tanaman dari genus *Medinilla* tersebut tumbuh di tempat hangat yang terkena sinar matahari. Tanaman tersebut berbunga pada akhir musim gugur

atau pada musim panas. Tanaman *Medinilla* umum digunakan sebagai tanaman hias ornamental di Romania (Maria dkk., 2012). Di Filipina, *Medinilla* umumnya ditemukan di hutan hujan tropis pegunungan tinggi, yaitu hutan yang berada pada ketinggian lebih dari 1500 m di atas permukaan laut (Ecosystem Research and Development Bureau, 2012). *Medinilla speciosa* juga ditemukan tumbuh di Gunung Kinabalu di pulau Kalimantan, Sabah, Malaysia pada ketinggian sekitar 1700 m di atas permukaan laut (Hikosaka dkk., 2002).

Di Indonesia, *Medinilla speciosa* atau yang dikenal dengan nama lokal parijoto, dapat ditemukan di hutan yang terletak di pegunungan, salah satunya di Pegunungan Muria tepatnya di desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Masyarakat sekitar Pegunungan Muria percaya bahwa dengan mengonsumsi buah parijoto, ibu hamil akan mendapatkan bayi yang berparas tampan atau cantik (Widjanarko, 2013). Selain di Pegunungan Muria, buah parijoto juga dapat ditemukan di area hutan Gunung Merapi, Yogyakarta. Masyarakat sekitar Gunung Merapi juga percaya bahwa buah parijoto dapat meningkatkan kesuburan dan menjaga kesehatan ibu hamil (Anggana, 2011).

B. Kegunaan dan Fitokimia Tanaman Parijoto

Menurut Kementerian Negara Riset dan Teknologi Republik Indonesia (2015), buah dan daun parijoto dapat digunakan sebagai antibakteri, obat sariawan, dan anti radang. Buah dan daun tersebut dapat digunakan baik dalam keadaan segar maupun dalam keadaan telah dikeringkan. Sebagai obat

sariawan, buah parijoto yang telah ditumbuk halus, umumnya dilarutkan dalam air matang dan diminum atau digunakan untuk berkumur. Air rebusan daun parijoto juga dapat digunakan untuk mengobati diare.

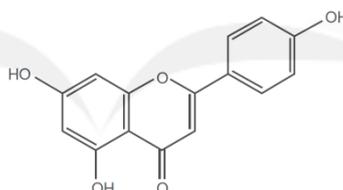
Buah parijoto mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida. Senyawa tersebut teridentifikasi dalam uji penapisan fitokimia yang dilakukan baik pada ekstrak metanol maupun ekstrak etil asetat buah parijoto. Namun demikian, baik ekstrak metanol maupun ekstrak etil asetat buah parijoto tersebut menunjukkan hasil negatif terhadap uji terpenoid dan alkaloid. Di sisi lain, ekstrak n-heksana buah parijoto terbukti hanya menunjukkan hasil positif pada uji terpenoid (Niswah, 2014). Organ daun parijoto juga mengandung saponin, kardenolin, dan tanin (Kementerian Negara Riset dan Teknologi, 2015).

1. Flavonoid

Flavonoid berasal dari Bahasa Latin *flavus* yang berarti kuning karena senyawa tersebut seringkali terdapat sebagai pigmen berwarna kuning. Flavonoid merupakan polifenol berkarbon 15 (Gambar 2) yang tersusun atas 2 cincin benzena yang saling terikat oleh rantai berkarbon 3 ($C_6-C_3-C_6$). Senyawa tersebut dapat ditemukan baik dalam keadaan bebas, maupun sebagai glikosida pada hampir semua lumut, paku, gimnosperma, dan angiosperma (Pengelly, 2004) dan terdapat setidaknya 6000 senyawa berbeda yang telah ditemukan sebagai modifikasi dari flavonoid. Pada takson Plantae, tanaman dari suku yang berbeda akan memiliki pola karakteristik flavonoid dan konjugasi yang berbeda. Senyawa-senyawa

tersebut memainkan peran biokimia dan fisiologis yang penting pada berbagai tipe sel dan organ pada biji, akar, bagian hijau, atau buah (Grotewold, 2006).

Flavonoid merupakan senyawa larut air. Flavonoid mengandung sistem aromatik terkonjugasi, sedemikian hingga dapat menunjukkan pita absorpsi pada spektrum sinar tampak yang teramati sebagai warna orange, merah, lembayung, kuning muda, atau kuning pucat, sedangkan pada spektrum UV teramati sebagai warna orange, pink, lembayung, biru, hijau, atau coklat (Harborne, 1998). Senyawa yang banyak ditemukan dalam teh hijau tersebut menunjukkan efek penghambatan terhadap berbagai bakteri seperti *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Shigella*, dan beberapa virus (Omojate dkk., 2014).



Gambar 2. Struktur kimia senyawa flavonoid apigenin
(Sumber: Pengelly, 2004)

2. Tanin

Tanin merupakan salah satu golongan polifenol dengan berat molekul tinggi yang umum ditemukan pada kulit kayu, daun, batang, dan buah. Tanin tergolong sebagai senyawa tak terkristalisasi yang terlarut dalam air dan memiliki kemampuan untuk mempresipitasi protein, sehingga kerap digunakan untuk industri penyamakan kulit. Aktivitas antimikrobia yang dimiliki tanin terjadi karena tanin mengandung gugus hidroksil fenolat

yang dapat membuatnya membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein, sehingga dapat menghambat kerja enzim mikrobia (Pengelly, 2004). Selain itu, efek antimikrobia yang dimiliki tanin juga dipengaruhi oleh kemampuannya untuk mengaktivasi adhesi mikrobia, enzim, protein transport membran sel, dan penyerapan mineral (Sher, 2009).

Tanin dibagi menjadi dua golongan utama yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan turunan dari senyawa asam fenolat sederhana, utamanya asam galat, yang dihubungkan dengan gula oleh jembatan oksigen, sehingga apabila terhidrolisis akan menghasilkan asam galat dan gula (galotanin) atau asam elagat dan gula (elagitanin). Tanin terkondensasi atau phlobotannin adalah polimer flavan-3-ols (katekin) dan flavan-3,4-diol (leukoantosianin) yang jika dihidrolisis, tanin tersebut akan terkondensasi membentuk residu merah tak larut atau phlobaphene. Kedua golongan tanin tersebut larut dalam air dan alkohol (Pengelly, 2004).

3. Glikosida

Glikosida adalah suatu golongan senyawa yang dikarakterisasi oleh adanya suatu bagian gula yang menempel pada satu atau lebih bagian non-gula oleh suatu ikatan khusus. Bagian glikosida berupa gula selanjutnya disebut sebagai glikon, sedangkan bagian non-gula glikosida disebut sebagai aglikon (Pengelly, 2004). Aglikon tersebut umumnya berupa alkohol, gliserol, atau senyawa fenol. Ikatan yang menghubungkan keduanya dapat berupa jembatan O-glikosida, N-glikosida, C-glikosida, atau berupa S-

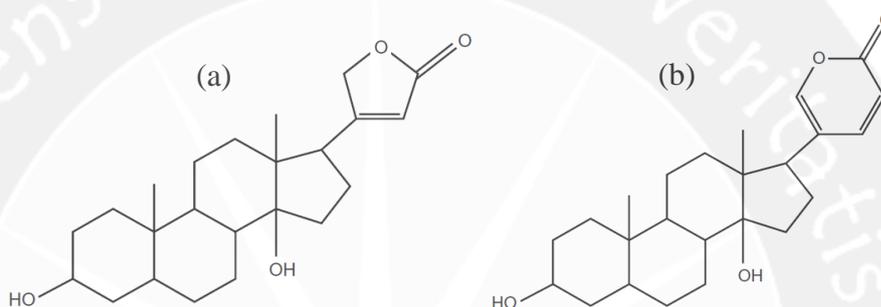
glikosida. Hampir semua glikosida dikelompokkan sebagai senyawa *prodrugs*, karena umumnya bersifat inaktif sampai senyawa tersebut dihidrolisis di usus besar dengan bantuan bakteri tertentu untuk melepaskan aglikon yang merupakan senyawa aktif sebenarnya dari bagian glikon yang terikat padanya (Pengelly, 2004).

Glikosida terdistribusi pada berbagai organ tumbuhan seperti biji, akar bawah tanah, tunas, bunga, dan daun. Beberapa diantaranya bersifat toksik, terutama pada glikosida sianogen dan glikosida jantung (Pengelly, 2004). Berbagai jenis glikosida memiliki kelarutan yang berbeda-beda dalam air. Beberapa diantaranya juga larut dalam eter dan alkohol (Singh, 2002). Kebanyakan glikosida bersifat larut dalam air dan pelarut organik, meskipun aglikonnya cenderung tidak larut dalam air (Pengelly, 2004).

Menurut Singh (2002), glikosida dapat diklasifikasikan menjadi beberapa jenis, yaitu glikosida jantung, glikosida pahit, glikosida kalsinogen, glikosida antrakuinon, glikosida flavonol, glikosida saponin, glikosida kalkon, dan glikosida fenolat. Zearah dkk. (2013) juga telah membuktikan bahwa senyawa glikosida yang diekstrak dari buah *Citrus laurantiifolia* memiliki aktivitas bakterisidal terhadap dua jenis bakteri Gram positif berupa *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus aureus*, serta dua jenis bakteri Gram negatif berupa *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Menurut Singh (2002), glikosida jantung memiliki konstituen aktif yang bekerja secara terkhusus pada jantung. Senyawa glikosida golongan ini

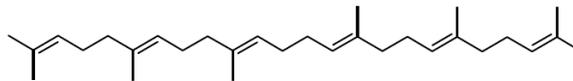
dapat dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu bufadienolida dan kardenolida (Gambar 3). Kardenolida merupakan glikosida yang memiliki cincin lakton yang berikatan dengan posisi β pada C_{17} . Residu gula berikatan secara glikosidik dengan gugus hidroksil C_3 pada aglikon steroid. Aglikon tersebut memiliki nukleus steroid tetrasiklik dengan gugus hidroksil pada C_3 dan C_{14} (Pengelly, 2004).



Gambar 3. Struktur senyawa glikosida jantung (a) kardenolida dan (b) bufadienolida (Sumber: Pengelly, 2004)

4. Terpenoid dan Steroid

Terpenoid tersusun atas unit isoprena (C_5H_8), senyawa berkarbon lima yang mengandung dua ikatan tak jenuh dan berdasarkan jumlah unit isoprenanya, terpenoid dibagi menjadi beberapa golongan yaitu terpen, monoterpenoid, sesquiterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, tetraterpenoid, dan politerpenoid (Pengelly, 2004). Secara terkhusus, triterpenoid diturunkan dari suatu prekursor C_{30} yang disebut *squalene* (Gambar 4). Bentuk lain yang juga merupakan turunan dari *squalene* adalah steroid (Cseke, 2006). Steroid memiliki kerangka cincin yang tersusun atas 27 atom karbon. Oleh karena itu, steroid tidak dapat dipecah menjadi unit isoprena, sehingga steroid dipisahkan sebagai senyawa yang berbeda dari triterpenoid yang disebut nortriterpen (Pengelly, 2004).



Gambar 4. Struktur kimia squalene (Sumber: Cseke, 2006)

Terpenoid atau terpen merupakan salah satu dari golongan senyawa aktif terpenting yang umum ditemukan pada tanaman dengan lebih dari 20.000 struktur yang telah diketahui. Semua struktur terpenoid tersusun dari unit isoprena (lima karbon) yang mengandung dua ikatan rangkap. Terpenoid disintesis dari asetat via jalur asam mevalonat (Pengelly, 2004). Terdapat berbagai jenis terpenoid yang berperan sebagai bentuk pertahanan diri tanaman terhadap mikrobia dan herbivora, atau sebagai molekul sinyal untuk menarik serangga polinator. Sebagai konsekuensinya, banyak terpenoid dinyatakan memiliki aktivitas farmakologis yang menarik dalam dunia pengobatan dan bioteknologi (Ashour dkk., 2010).

Secara kimiawi, terpenoid umumnya terdapat sebagai senyawa larut lemak yang ditemukan di sitoplasma sel tumbuhan. Terpenoid umumnya ditemukan dalam minyak esensial, resin, atau oleoresin tanaman. Minyak esensial terkadang ditemukan dalam sel glandular khusus pada permukaan daun, sedangkan karotenoid secara terkhusus berasosiasi dengan kloroplas pada daun dan kromoplas pada petala (Harborne, 1998). Salah satu peran terpenoid dalam bidang pengobatan adalah kompetensinya sebagai antimikrobia terhadap berbagai jenis bakteri seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*,

Staphylococcus epidermidis, *Bacillus subtilis*, dan *Streptococcus pyogenes* (Leandro dkk., 2012).

5. Saponin

Saponin termasuk dalam golongan glikosida (turunan gula) yang banyak ditemukan di tubuh tanaman yang dicirikan dengan kemampuannya membentuk larutan koloid dalam air berupa busa. Glikosida golongan ini memiliki aglikon berupa struktur triterpenoid atau steroid (Walsh, 2003). Kombinasi dari aglikon lipofilik di salah satu ujung molekul dan gula hidrofilik di ujung yang lain mengakibatkan saponin memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan muka, menghasilkan karakteristik seperti efek sabun atau detergen pada membran dan kulit (Pengelly, 2004).

Aktivitas biologis saponin dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti tipe nukleus, jumlah gula pada rantai samping, dan tipe gugus fungsionalnya (Osborn, 2003). Oleh karena itu, saponin dari sumber tanaman yang berbeda atau yang diekstrak dengan prosedur yang berbeda akan menghasilkan aktivitas biologis yang berbeda (Sen dkk., 1998). Saponin dapat meningkatkan permeabilitas biomembran, sehingga dapat bersifat sebagai sitotoksik, haemolitik, dan antivirus (Kreis dan Mueller-Uri, 2010). Saponin juga memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Hassan dkk., 2010).

6. Alkaloid

Istilah alkaloid pertama kali digunakan pada tahun 1819 oleh W. Meißner, seorang apoteker dari Halle, karena senyawa tersebut

menunjukkan sifat seperti alkali (Anizewski, 2007). Alkaloid merupakan senyawa organik yang bersifat basa karena mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Masing-masing atom nitrogen tersebut berikatan dengan beberapa atom karbon dalam suatu sistem cincin heterosiklik. Kebanyakan alkaloid diturunkan dari asam amino, sedangkan sebagian kecil diantaranya diturunkan dari unit isoprena (Pengelly, 2004).

Alkaloid dapat ditemukan dalam 15-30% tanaman berbunga, utamanya pada tanaman dari famili Fabaceae, Liliaceae, Ranunculaceae, Apocynaceae, Solanaceae, dan Papaveraceae. Hingga tahun 1996 telah ditemukan sedikitnya 10.000 alkaloid berbeda pada lebih dari 300 famili tanaman yang berbeda. Senyawa alkaloid tersebut dapat ditemukan pada akar, rimpang, daun, kulit batang, buah, atau biji (Pengelly, 2004).

Hampir semua jenis alkaloid yang pernah ditemukan tidak berwarna, kecuali sanguinarin (merah) dan kelidonin (kuning). Sebagian besar alkaloid larut dalam pelarut organik seperti kloroform, eter, dan alkohol kecuali efedrin dan kolkinin. Garam alkaloid umumnya larut dalam air dan alkohol. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang kerap digunakan terkait aktivitas farmakologisnya sebagai analgesik, bronkodilator, antimikrobia, dan antileukimia (Pengelly, 2004).

Menurut Anizewski (2007), berdasarkan bentuk dan asalnya alkaloid umumnya diklasifikasikan ke dalam tiga golongan utama, yaitu alkaloid sejati, protoalkaloid, dan pseudoalkaloid. Alkaloid sejati dan protoalkaloid diturunkan dari asam amino. Perbedaannya, atom nitrogen

pada alkaloid sejati merupakan bagian dari cincin heterosiklikn (contohnya usambarensin), sedangkan atom N pada protoalkaloid bukan merupakan bagian dari cincin heterosiklik (contohnya mescalin). Berbeda dengan alkaloid sejati dan protoalkaloid, pseudoalkaloid tidak diturunkan dari asam amino secara langsung. Umumnya, pseudoalkaloid merupakan turunan isoprena yang menerima atom N dari proses transaminasi suatu asam amino, contohnya pinidin.

C. Ekstraksi

Simplisia merupakan produk hasil pertanian tumbuhan obat yang telah melalui proses pasca panen dan preparasi sederhana. Produk tersebut dapat berupa bentuk produk farmasi yang siap dipakai atau diproses selanjutnya seperti diserbukkan untuk diminum, dicacah dan digodog sebagai infus, atau dijadikan sediaan farmasi lain seperti ekstrak, fraksi, atau isolat murni. Kandungan kimia yang terkandung dalam simplisia hasil pertanian atau pengumpulan tumbuhan liar (*wild crop*) memiliki kandungan kimia yang tidak dapat dipastikan selalu konstan. Hal tersebut terjadi karena adanya variabel lain yang ikut memengaruhi komposisi kimia dalam simplisia seperti variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, umur panen, cara pemanenan, proses pasca panen, dan preparasi akhir. Salah satu bentuk bahan atau produk kefarmasian yang umum dihasilkan dari proses pengolahan simplisia adalah ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Dalam hal ini, ekstraksi dilakukan untuk memisahkan senyawa aktif simplisia dari berbagai substansi yang tidak diperlukan. Prinsip ekstraksi adalah dengan melarutkan senyawa (*solute*) dalam pelarut (*solvent*) untuk selanjutnya dipisahkan berdasarkan prinsip *like dissolves like* dengan memperhatikan polaritasnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Secara umum, metode ekstraksi dapat digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut, metode destilasi uap, dan metode ekstraksi lainnya (ekstraksi berkesinambungan, superkritikal karbondioksida, ekstraksi ultrasonik, dan ekstraksi energi listrik). Selanjutnya, metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dibagi kembali menjadi dua golongan yaitu cara dingin yang dilakukan pada suhu ruang (25°C) dan cara panas yang dilakukan pada perlakuan suhu tertentu. Metode ekstraksi menggunakan pelarut cara dingin meliputi metode maserasi dan perkolasi, sedangkan metode ekstraksi menggunakan pelarut cara panas meliputi metode refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok. Metode destilasi uap juga dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu metode destilasi uap saja serta metode destilasi uap dan air (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Pemilihan metode ekstraksi yang sesuai sangat menentukan keberhasilan dan efisiensi ekstraksi yang dilakukan, sehingga diperlukan pertimbangan yang tepat untuk memilih metode ekstraksi. Salah satu parameter

yang harus diperhatikan adalah konstituen kimia yang terkandung dalam simplisia yang meliputi karakteristik kepolaran dan sifat termolabil senyawa aktif dalam simplisia. Selain itu, waktu ekstraksi juga menjadi parameter yang krusial, karena dengan waktu yang terlalu singkat ekstraksi belum terjadi dengan sempurna, sedangkan jika waktu ekstraksi terlalu berlebih dapat menimbulkan resiko ikut terekstraknya konstituen lain yang sebenarnya tidak diinginkan (Handa, 2008).

Salah satu metode ekstraksi dengan pelarut cara dingin yang umum digunakan adalah metode maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang (25°C). Prinsip metode maserasi dalam proses ekstraksi adalah metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik dilakukan dengan pengadukan yang kontinu. Selain itu, dikenal juga istilah remaserasi yang berarti pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Menggunakan metode ini, serbuk simplisia beserta pelarutnya dimasukkan dalam wadah tertutup, lalu dibiarkan pada suhu ruang (25°C) minimal selama 3 hari (Handa, 2008), sehingga walaupun metode ini merupakan jenis metode yang sederhana dan mudah dilakukan, namun pengerjaannya cukup lama (Meloan, 1999).

D. Pelarut

Berdasarkan nilai konstanta dielektriknya, pelarut organik dapat dibedakan menjadi dua golongan yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar. Konstanta dielektrik atau permitivitas merupakan rasio antara perpindahan partikel elektrik dalam suatu medium dengan kekuatan medan listriknya (Lide, 2005). Konstanta dielektrik dapat memberi gambaran kasar mengenai polaritas suatu pelarut karena semakin tinggi konstanta dielektrik suatu pelarut, polaritas senyawa tersebut juga semakin besar (Jacob dan de la Torre, 2015). Niswah (2014) dan Wachidah (2013) dalam penelitiannya telah membuktikan bahwa pelarut polar seperti etil asetat dan metanol efektif untuk menarik senyawa aktif berupa flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida dari buah parijoto.

Metanol atau yang secara umum dikenal dengan istilah alkohol kayu atau metil alkohol merupakan turunan alkohol yang paling sederhana. Metanol merupakan pelarut polar yang memiliki konstanta dielektrik sebesar 32,60 Debye. Metanol memiliki karakteristik fisik berwujud cair tak berwarna, bersifat volatil, mudah terbakar, dan memiliki bau yang khas. Pada tekanan atmosfer normal (760 mmHg), metanol menguap pada suhu 64°C (Smallwood, 1996). Metanol memiliki indeks polaritas 5,1 dan dapat terlarut sempurna dalam air (Sadek, 2002).

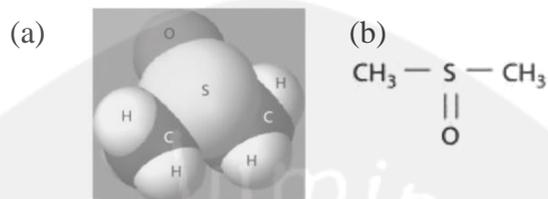
Etil asetat merupakan senyawa organik berupa ester dari etanol dan asam asetat yang memiliki rumus molekul $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$. Karakteristik pelarut ini adalah wujudnya yang cair tak berwarna dengan aroma yang khas (Mulyati, 2009). Etil asetat tergolong sebagai pelarut volatil polar menengah dengan

konstanta dielektrik 6,02 Debye dan titik didih 77°C (Smallwood, 1996). Etil asetat umum digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri seperti flavonoid polihidroksi dan senyawa fenol lainnya (Mulyati, 2009). Etil Asetat memiliki indeks polaritas 4,4 (Sadek, 2002).

Dimethyl sulfoxide (DMSO) yang juga dikenal dengan nama *methylsulfinylmethane* atau *sulfinyl-bis-methane* tersusun dari atom sulfur pada pusatnya, sedangkan dua buah gugus metil, atom oksigen, dan sebuah pasangan elektron bebas terletak pada sudutnya (Gambar 5). Konstanta dielektrik DMSO sangat tinggi, yaitu mencapai nilai 47. Hal ini mengakibatkan DMSO menjadi pelarut universal yang unik (Jacob dan de la Torre, 2015). DMSO adalah salah satu pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Gaylord Chemical Company, 2007). DMSO larut dalam air dan berbagai cairan organik lainnya, seperti alkohol, ester, keton, pelarut terklorinasi, dan hidrokarbon aromatik (Jacob dan de la Torre, 2015).

Berbeda dengan air, DMSO merupakan pelarut aprotik dipolar, yaitu pelarut yang bukan berperan sebagai pendonor proton melainkan lebih cenderung menerima proton. DMSO juga merupakan senyawa amfifilik, senyawa yang memiliki karakteristik baik hidrofilik maupun hidrofobik. Oleh karena itu, DMSO juga dikenal sebagai surfaktan (*surface-active molecules*) yang dapat berperan sebagai *interface* antara air dan minyak. Namun, tidak seperti surfaktan lainnya, DMSO bersifat netral. DMSO tidak bersifat asam

atau basa karena pelarut tersebut tergolong sebagai pelarut aprotik (Jacob dan de la Torre, 2015).



Gambar 5. a. Struktur 3 Dimensi DMSO (Sumber: Jacob dan de la Torre, 2015)
b. Formula 2 Dimensi DMSO (Sumber: Jacob dan de la Torre, 2015)

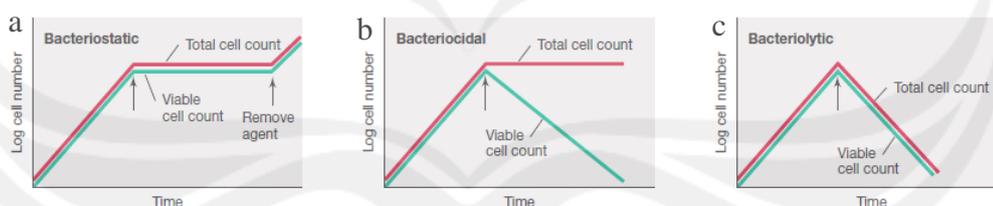
Sebagai pelarut netral yang juga berperan sebagai surfaktan, DMSO banyak digunakan sebagai pelarut ekstrak pada berbagai penelitian terkait uji antimikrobia ekstrak tanaman. Onyegbule dkk. (2011) telah menggunakan DMSO sebagai pelarut ekstrak etil asetat *Napoleoneae imperialis* dan sebagai kontrol negatif dalam prosedur uji luas zona hambatnya terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, Abale dkk. (2014) juga telah menggunakan DMSO sebagai pelarut ekstrak heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol daun *Cassia tora* dan kontrol negatif dalam pengujian luas zona hambatnya terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Bacillus subtilis*. DMSO juga telah digunakan sebagai pelarut ekstrak heksan, etil asetat dan metanol buah parijoto serta sebagai kontrol negatif dalam pengujian antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah dilakukan oleh Niswah (2014).

E. Antibakteri

Kontrol terhadap pertumbuhan mikrobia dapat dilakukan menggunakan kontrol fisik, mekanik, maupun kimiawi. Istilah antimikrobia secara umum dikenal sebagai senyawa baik alami maupun sintetis yang dapat

membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Antimikrobia tersebut meliputi antibakteri, antivirus, dan antifungi (Madigan dkk., 2015).

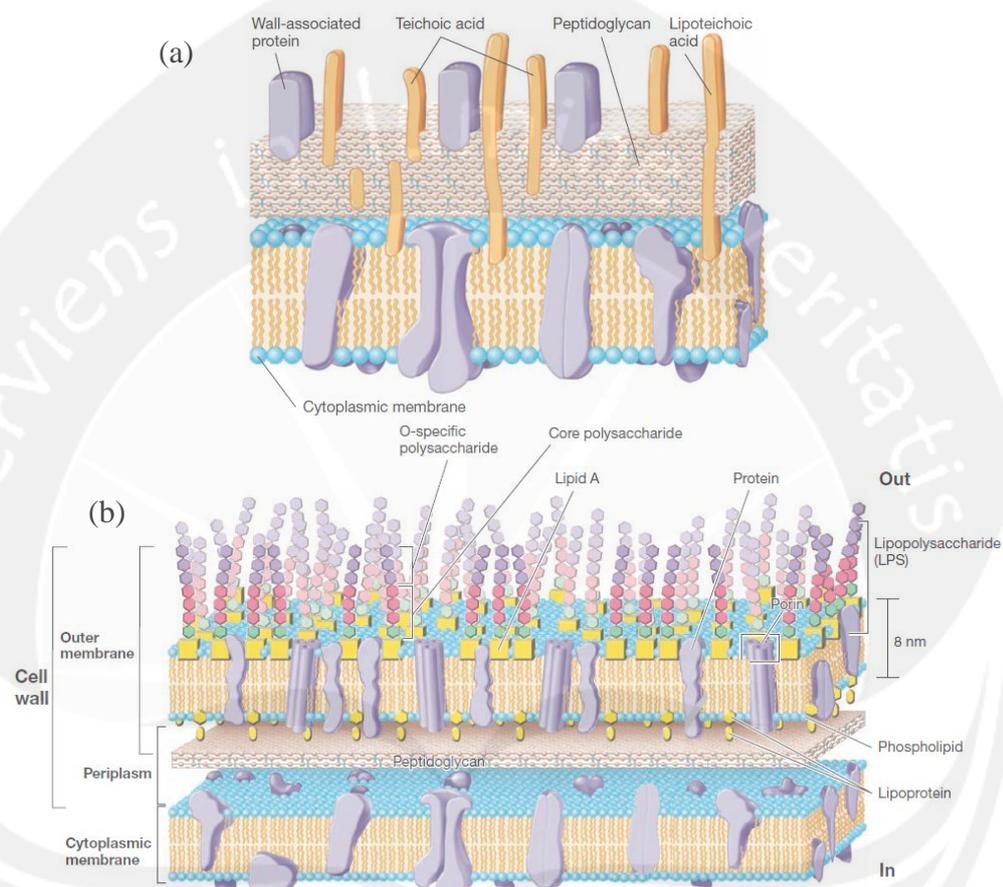
Berdasarkan efeknya terhadap pertumbuhan bakteri, antibakteri dapat dibedakan menjadi tiga golongan yaitu bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Gambar 6). Bakteriostatik merupakan antibakteri yang dapat menghambat proses biokimia penting seperti sintesis protein karena senyawa tersebut dapat berikatan lemah dengan target seluler, sehingga apabila senyawa tersebut dihilangkan pertumbuhan bakteri dapat berlanjut kembali. Berbeda dengan bakteriostatik, bakteriosidal dapat berikatan kuat dengan target seluler sehingga dapat membunuh bakteri tersebut tanpa melisis sel bakteri targetnya. Di sisi lain, bakteriolitik memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri dengan cara melisis selnya sehingga isi sitoplasmanya keluar dari sel (Madigan dkk., 2015).



Gambar 6. Efek bakteriostatik (a), bakteriosidal (b), dan bakteriolitik (c) antibakteri terhadap bakteri target (Sumber: Madigan dkk., 2015)

Menurut Madigan dkk. (2015), kerentanan mikrobia terhadap antibiotik sangat beragam. Sebagai contoh, bakteri Gram positif lebih rentan terhadap suatu antibiotik tertentu daripada bakteri Gram negatif. Hal tersebut terjadi karena adanya struktur lipopolisakarida (LPS) yang dimiliki bakteri Gram negatif (Gambar 7). Antibiotik yang hanya dapat mengontrol pertumbuhan golongan bakteri tertentu saja disebut sebagai antibiotik spektrum

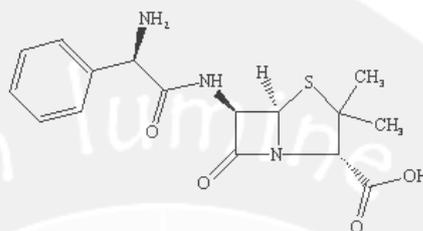
sempit (*narrow spectrum antibiotics*), sedangkan yang dapat bekerja universal terhadap berbagai jenis mikrobia disebut sebagai antibiotik spektrum luas (*broad spectrum antibiotics*).



Gambar 7. Struktur dinding sel bakteri (a) Gram positif dan (b) Gram negatif (Madigan dkk., 2015)

Ampicillin (Gambar 8) merupakan antibiotik golongan *aminopenicilin* yang dibuat secara semisintetik dengan cara memodifikasi rantai samping penisilin alami. *Ampicillin* tergolong antibiotik dengan spektrum luas karena memiliki aktivitas antibakteri, baik Gram positif maupun Gram negatif (Khardori, 2006). Antibiotik ampicillin termasuk golongan antibiotik β -laktam dengan kerja menghambat enzim transpeptidase yang sangat dibutuhkan dalam biosintesis dinding sel, sehingga apabila enzim ini terhambat maka dinding sel

tidak terbentuk sempurna dan sel akan mengalami lisis. Oleh karena itu, *ampicillin* mempunyai aktivitas antibakteri bakteriolitik (Volk dan Wheeler, 1988).



Gambar 8. Struktur Kimia Antibiotik *Ampicillin* (Sumber: Ringoringo dkk., 2008)

Menurut Arora dan Bhardwaj (1997), secara alami berbagai ekstrak tanaman umumnya juga memperlihatkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Kemampuan tersebut terjadi karena adanya berbagai senyawa metabolit sekunder dalam tanaman yang dapat berperan sebagai antibakteri. Secara umum, aktivitas antibakteri berbagai ekstrak tanaman tersebut dapat dikelompokkan menjadi 5 golongan, yaitu kuat, sedang, cukup, lemah, dan tidak aktif (Tabel 1).

Tabel 1. Klasifikasi aktivitas antibakteri ekstrak tanaman obat (Arora dan Bhardwaj, 1997)

Diameter Zona Hambat (mm)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak
>20	Kuat
16-20	Sedang
10-15	Cukup
6-9	Lemah
<6	Tidak Aktif

F. Bakteri Uji

Escherichia coli merupakan bakteri yang umum ditemukan terdapat di kolon atau usus besar manusia atau vertebrata lainnya. Bakteri tersebut dapat

mengakibatkan infeksi saluran kemih dan diare. Sel *Escherichia coli* berbentuk *rods* dengan ukuran diameter 1,1-1,5 μm dan panjang 2-6. Beberapa galur motil dan memiliki flagela, sedangkan yang lain tidak. *Escherichia coli* tidak membentuk spora dan merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri tersebut dapat hidup pada suhu 10-45°C, namun optimum pada suhu 30-37°C (Garrity dkk., 2009 a).

Koloni *Escherichia coli* pada agar umumnya berwarna putih atau putih kekuningan dengan bentuk tepi *entire* hingga *undulate* dan permukaannya tampak basah. Jika ditumbuhkan di agar tegak, bentuk pertumbuhan yang teramati adalah *spreading*. Pertumbuhan *Escherichia coli* pada medium cair akan mengakibatkan medium tampak lebih keruh dengan endapan keabu-abuan. *Escherichia coli* merupakan bakteri aerob atau fakultatif anaerob (Garrity dkk., 2009 a).

Pada medium susu, *Escherichia coli* memproduksi asam dan gas, dapat atau tidak dapat membentuk dadih, tidak dapat menghidrolisis pati, dan tidak terjadi peptonisasi. *Escherichia coli* memiliki kemampuan membentuk indol, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan katalase positif. Selain itu, mampu membentuk asam dan gas pada medium glukosa, fruktosa, laktosa, dan maltosa, sedangkan sukrosa dan rafinosa dapat atau tidak dapat terfermentasi (Garrity dkk., 2009 a).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,8 sampai 1 mikron dan bersifat non-motil. Bakteri tersebut dapat hidup di suhu 10-45°C, namun hidup optimal di suhu 37°C.

Beberapa galur tidak hanya memproduksi eksotoksin, namun juga enterotoksin. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang secara umum dapat ditemukan hidup di membran mukus saluran pernapasan dan folikel rambut pada kulit. Bakteri tersebut dapat mengakibatkan furunculosis, pyaemia, osteomyelitis, mengakibatkan timbulnya nanah pada luka, dan dapat meracuni makanan (Garrity dkk., 2009 b).

Koloni *Staphylococcus aureus* yang terbentuk berwarna putih keruh, namun beberapa galur berwarna orange. Pada medium agar berbentuk sirkuler halus dengan tepi entire dan tampak basah. Jika ditumbuhkan pada medium cair akan mengakibatkan keruhan, cincin kekuningan, dan sedimen karena bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Bakteri tersebut dapat mengkoagulasi medium susu dan membentuk asam baik pada medium susu maupun pada medium glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, dan gliserol. *Staphylococcus aureus* tidak menghidrolisis pati, namun dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. Bakteri tersebut menunjukkan hasil positif pada uji katalase (Garrity dkk., 2009 b) dan uji pembentukan Indol (Melander dkk., 2014)

G. Uji Antibakteri

Pengujian daya antibakteri terhadap spesies bakteri dapat dilakukan baik pada medium agar maupun pada medium cair (Madigan dkk., 2015). Pengujian daya antibakteri pada medium agar dikenal juga sebagai metode difusi agar (*agar diffusion method*) atau yang juga disebut metode Kirby-Bauer. Prinsipnya mikrobia uji diinokulasikan pada medium agar dalam cawan

petri, kemudian kertas saring maupun sumuran yang mengandung zat antibakteri ditempatkan pada medium agar (Harley dan Prescott, 2002). Setelah diinkubasi, garis tengah diameter hambatan jernih (zona jernih) yang mengelilingi kertas saring maupun sumuran merupakan ukuran kekuatan hambatan senyawa uji terhadap bakteri yang diuji (Pommerville, 2011).

Menurut Madigan dkk. (2015), pengujian daya antibakteri pada medium cair dilakukan dengan menentukan jumlah terkecil dari senyawa uji yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobia uji. Konsentrasi terkecil tersebut dikenal dengan istilah *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau yang dalam Bahasa Indonesia dikenal dengan sebutan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Wiegand dkk. (2008) mengemukakan bahwa salah satu metode yang dapat digunakan dalam penentuan nilai MIC tersebut adalah metode dilusi agar. Prinsipnya bakteri diinokulasikan pada senyawa antibakteri dengan seri pengenceran tertentu, lalu ditumbuhkan pada suatu medium agar petri, sehingga jumlah koloni bakteri yang tumbuh dapat dihitung.

H. Hipotesis

1. Ekstrak etil asetat dan metanol daun pariijoto (*Medinilla speciosa*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat terluas ditunjukkan pada pengujian ekstrak etil asetat daun pariijoto.
2. Bakteri Gram positif yang diwakili oleh *Staphylococcus aureus* lebih sensitif terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun pariijoto dibandingkan dengan bakteri Gram negatif yang diwakili oleh *Escherichia coli*.

3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etil asetat daun pari-joto terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah 12,5 mg/ml.

