

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Krisan

Sejak tahun 1940 krisan mulai dikembangkan di Indonesia sebagai tanaman hias potensial dan sekarang dirancang secara komersial. Pembudidayaan bunga krisan sudah lama dikenal di daerah pengunungan misalnya daerah Cipanas dan Cianjur. Usaha ini dijalankan oleh petani bunga di Cipanas sejak zaman penjajahan Belanda (Soekartawi,1996). Bunga krisan yang biasa ditanam di Indonesia terdiri dari krisan lokal, krisan introduksi (krisan modern atau krisan hibrida) serta krisan produk Indonesia yang dilepas oleh Balai Tanaman Hias.

Menurut Rukmana dan Mulyana (1997), terdapat 1000 varietas krisan yang tumbuh di dunia. Beberapa varietas krisan yang dikenal antara lain adalah *Chrysanthemum daisy*, *Chrysanthemum indicum*, *Chrysanthemum coccineum*, *Chrysanthemum frutescens*, *Chrysanthemum maximum*, *Chrysanthemum hornorum*, dan *Chrysanthemum parthenium*. Varietas krisan yang banyak ditanam di Indonesia umumnya diintroduksi dari luar negeri, terutama dari Belanda, Amerika Serikat dan Jepang.

Bunga krisan terdiri dari beberapa varietas di antaranya *Boris Becker* Putih, *Boris Becker* Kuning, *Cat Eyes*, *Crocodile* (Yoko Ono), *Cut Nya Dien*, *Euro* kuning, *Euro* putih, *Evergreen*, *Fiji* Kuning, *Fiji* Putih, *Fiji Pink*, *Fiji* Oranye, *Jaguar Red*, *Jaguar Purple*, *Kermit*, *Lamet*, *Puspita Nusantara*, *Puspita Pelangi* (Gambar 1), *Sakuntala*, *Snowdon White* (Rukmana dan Mulyana, 1997). Bunga krisan *spray* terdiri dari varietas *Puma*, *Yellow Puma*, *WhiteRegent*, *Town talk*, *Heidi Yellow*, *Heidi White*, *Zroland*, *Pompon*, *Soraya*, *Wendi*, *Caymano*, dan *Casablanca* (Rukmana dan Mulyana, 1997).

Secara taksonomi klasifikasi krisan menurut Turang dkk. (2007) adalah:

Tabel 1. Taksonomi Tanaman Krisan

Kerajaan	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Subdivisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledonae
Bangsa	Asterales
Suku	Asteraceae
Marga	Chrysanthemum
Jenis	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Syn. <i>Dendrathera grandiflora</i>



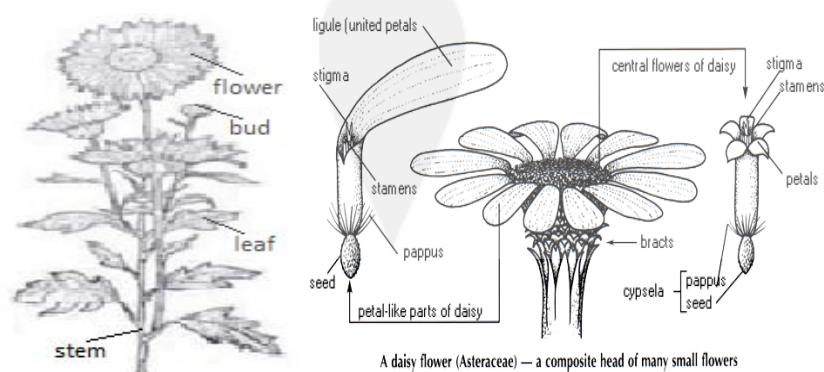
Gambar 1. *Dendrathera grandiflora*
(Sumber : Balai Penelitian Tanaman Hias, 2000)

Tanaman krisan merupakan tanaman hari pendek yang secara alamiah di daerah sub tropis akan mengalami pertumbuhan vegetatif pada hari panjang (*long day*) pada musim panas dan akan mengalami perkembangan generatif pada hari pendek pada musim gugur. Manipulasi panjang hari dibutuhkan krisan agar dapat berbunga sepanjang waktu dalam setahun. Indonesia memiliki periode peyinaran matahari rata-rata 12 jam, maka diperlukan penambahan penyinaran. Tambahan penyinaran yang diperlukan tanaman krisan agar selalu dalam kondisi *long day plant* adalah 4-5 jam dengan maksud memberikan perlakuan pemutusan masa gelap, selama 30 hari sejak awal tanam, atau sampai ketinggian batang tanaman sekitar 25-30 cm. Tanaman krisan memerlukan panjang hari lebih pendek dari

periode kritisnya (14,5 jam) untuk berbunga, sehingga akan segera berbunga apabila panjang hari atau jumlah jam terang kurang dari suatu batasan tertentu (Martini, 2014).

Menurut Rukmana dan Mulyana (1997), secara morfologi tanaman krisan berbatang tegak, berstruktur lunak, dan berwarna hijau. Bila dibiarkan terus menerus, batang akan menjadi keras (berkayu) dan berwarna kecoklatan-coklatan. Daun tanaman krisan pada bagian tepi bercelah atau bergerigi, tersusun secara berselang-seling pada cabang atau batang. Bentuk bunga digolongkan menjadi lima macam, yaitu bunga tunggal, anemone, pompon, dekoratif, dan besar.

Benang sari dan putik pada bunga krisan bertekstur halus, berada pada posisi tengah bunga dengan mahkota lonjong dan mudah lepas. Panjang benang sari antara 3-8 mm dan berwarna kuning. Buah yang dihasilkan krisan berbentuk lonjong, berukuran kecil, dan ditutupi selaput buah. Selaput buah krisan ketika masih muda berwarna putih, dan berwarna hitam setelah tua. Biji yang dihasilkan dari buah krisan berbentuk lonjong, berukuran kecil dan berwarna hitam; apabila biji diakarkan, akan tampak akar tunggang berwarna putih (Steenis, 1978., dalam Martini, 2014).



Gambar 2. Morfologi Tanaman Krisan
(Sumber: Cumming, 1994)

Satuan bunga krisan terdiri atas banyak bunga yang disebut dengan *floret*. Menurut Kofranek (1980) dalam Martini (2014), *floret* pada krisan terdiri atas dua tipe, yaitu *ray floret* dan *disc floret* yang berada ditengah bunga. *Floret* yang terdapat pada bagian luar disebut *ray floret*, yang pada umumnya hanya mengandung pistil dan tidak mempunyai segmen dan polen. *Floret* yang terdapat pada bagian dalam disebut dengan *discfloret*, yang mengandung dua alat reproduktif sehingga mempunyai banyak kemungkinan untuk menghasilkan biji.

Krisan berasal dari daerah subtropis, sehingga suhu terlalu tinggi merupakan faktor pembatas dalam pertumbuhan tanaman. Menurut Rukmana dan Mulyana (1997) suhu terbaik untuk pertumbuhan krisan di daerah tropis adalah 20-26°C (siang hari) dan 18°C (malam hari) dengan kelembaban udara 70-80%. Toleransi kisaran suhu untuk tetap tumbuh baik adalah 17-30°C. Suhu yang terlalu rendah dapat menghambat pertumbuhan sehingga menimbulkan pertumbuhan vegetatif yang berkepanjangan, sedangkan suhu yang terlalu tinggi mengakibatkan bunga yang dihasilkan cenderung berwarna kusam, pucat, dan memudar (Rukmana dan Mulyana, 1997).

B. Fitokimia Krisan

Fitokimia adalah senyawa aktif kimia pada tanaman atau merupakan unsur pokok dalam tanaman. Fitokimia terdiri dari senyawa metabolit primer dan sekunder. Senyawa tersebut terdiri dari berbagai jenis, mempunyai struktur yang sangat beraneka ragam, dan memperlihatkan berbagai aktivitas biologi yang sangat berguna. Unsur pokok pada tanaman adalah senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid dan fenolik (Edeoga, dkk., 2005). Unsur pokok metabolit

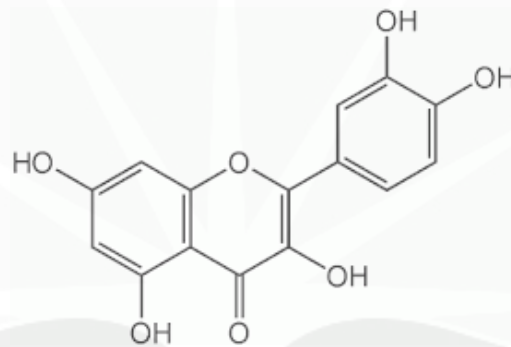
primer adalah komponen kimia pada fungsi normal, seperti protein, karbohidrat dan lemak pada tanaman, sedangkan metabolit sekunder adalah turunan dari metabolit primer.

Menurut Rahardjo dkk. (2000), senyawa aktif yang terdapat di dalam suatu tumbuhan disebut sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder tersebut sangat menentukan khasiat tumbuhan obat yang banyak dipengaruhi oleh habitat, lokasi tumbuh, perlakuan pra dan pasca panen. Produksi senyawa metabolit sekunder tergantung pada tahap-tahap perkembangan organisme (diferensiasi sel) yang menghasilkannya. Lindsey dan Jones (1989) menyatakan bahwa manfaat metabolit sekunder adalah sebagai bahan-bahan kimia alami yang bernilai komersial dan berperan sebagai proteksi, digunakan tumbuhan untuk melawan penyakit, serangan serangga atau binatang pemangsanya (predator).

Metabolit sekunder antara lain fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid, tannin, plobatamin, kumarin, alkaloid dan merupakan bioaktif pada tanaman (Lenny, 2009). Kemungkinan keberadaannya dalam daun dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Markham, 1988). Diperkirakan sekitar 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuh-tumbuhan (atau kira-kira 1×10^9 ton/tahun) diubah menjadi flavonoid dan turunannya (Natori, 1981).

Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman (Narasimhan, dkk., 1988). Flavonoid tersebar luas di tanaman mempunyai banyak fungsi. Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang (Worotikan, 2011).

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ (White dan Xing, 1994) (Gambar 3). Artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Yunita dkk., 2009). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Cook dan Samman, 1996).



Gambar 3. Kerangka Flavonoid (Sumber: Cook dan Samman, 1996).

Sebagian besar flavonoid alami pada tumbuhan mengikat gula dan disebut flavonoid glikosida dan yang lainnya (sebagian kecil) tidak mengikat gula dan disebut flavonoid aglikon. Flavonoid glikosida larut di dalam pelarut polar (etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetil formamida, air) dan mudah terhidrolisis menjadi aglikon yang tidak larut di dalam pelarut polar (Sabirin, 2004). Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Penentuan flavonoid di dalam tumbuhan lebih baik dengan menguji keberadaan aglikon sebelum mempertimbangkan flavonoid glikosida (Sabirin,

2004). Analisis flavonoid lebih baik dengan memeriksa aglikon yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang ada dalam ekstrak asal (Harborne, 1980). Flavonoid yang bersifat polar dapat menyerap gelombang radiasi pada daerah UV-Vis.

Klasifikasi flavonoid sangat beragam, di antaranya ada yang mengklasifikasikan flavonoid menjadi flavon, flavonon, isoflavon, flavanol, flavanon, antosianin, dan kalkon (Ferreira dkk., 1999). Kebanyakan flavonoid berbentuk monomer, tetapi terdapat pula bentuk dimer (biflavonoid), trimer, tetramer, dan polimer (Perruchon, 2004). Bagi tumbuhan, senyawa flavonoid berperan dalam pertahanan diri terhadap hama dan penyakit, interaksi dengan mikrobia, dormansi biji, pelindung terhadap radiasi sinar UV, molekul sinyal pada berbagai jalur transduksi, serta molekul sinyal pada polinasi dan fertilitas jantan (Setyawan dan Darusman, 2008).

Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Haris, 2011). Di sisi lain dilaporkan pula bahwa flavonoid dapat menyebabkan kerusakan DNA, mutasi dan apoptosis. Kajian terhadap flavonoid tidak hanya karena peran biologinya, tetapi lebih karena potensinya sebagai obat (Setyawan dan Darusman, 2008). Semakin banyak substitusi gugus hidroksi pada flavonoid, maka aktivitas antiradikalnya semakin besar. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri karena senyawa ini dapat mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dan Chan, 1988).

Berdasarkan hasil penelitian, tanaman *Chrysanthemum* sp menunjukkan adanya kandungan berbagai senyawa seperti pyrethin 1 ($C_{21}H_{30}O_3$), pyrethrin II ($H_{30}O_5$) (Rosenthal dan Jansen, 1979), jasmolin I & II, cinerin I & II, pyrethrolon, resin, minyak atsiri (Tjitrosoepomo, 1994), sinerolon, dan tartridin dari jenis sesquiterpen lakton (Putnam dan Tang, 1986). Kebanyakan senyawa-senyawa aktif tersebut digunakan sebagai bahan aktif pengendali hama.

Kandungan kimia daun dan bunga krisan mengandung saponin, di samping itu daunnya mengandung alkaloida dan tanin, sedang bunganya juga mengandung minyak atsiri. Beberapa kandungan senyawa alaminya yang berpotensi seperti flavonoid, triterpenoid, dan *caffeoylquinic acid derivatives* telah diisolasi pada beberapa penelitian sebelumnya. Prakash dkk. (2014), menyatakan bahwa tanaman krisan mengandung banyak senyawa aktif terutama terpenoid dan flavonoid. Menurut Sun dkk. (2010) krisan memiliki berbagai macam jenis senyawa flavonoid. Berikut ini akan ditampilkan beberapa kandungan flavonoid pada ekstrak bunga krisan (*C. morifolium* Ramat) (Tabel 2).

Tabel 2. Kandungan Flavonoid pada Ekstrak Bunga Krisan

Senyawa Flavonoid	Kadar (mg/gr)
Vitexin-2-O- rhamnoside	0.10 ± 0.01
Quercetin-3-galactoside	2.46 ± 0.02
Luteolin-7-glucoside	50.59 ± 0.94
Quercetin-3- glucoside	1.33 ± 0.09
Quercitrin	21.38 ± 0.80
Myricetin	2.13 ± 0.08
Luteolin	5.22 ± 0.48
Apigenin	0.70 ± 0.10
Kaempferol	0.14 ± 0.02
Total	83.95 ± 2.77

Sumber: Sun dkk., (2010)

C. Manfaat Krisan

Menurut Prihatman (2000), kegunaan tanaman krisan yang utama adalah sebagai bunga hias. Sebagai bunga hias, krisan di Indonesia digunakan sebagai:

1. Bunga pot, ditandai dengan sosok tanaman kecil, tingginya 20-40 cm, berbunga lebat dan cocok ditanam di pot, polibag, atau wadah lainnya.
2. Bunga potong, ditandai dengan sosok bunga berukuran pendek sampai tinggi, mempunyai tangkai bunga panjang, ukuran bervariasi (kecil, menengah, dan besar), umumnya ditanam di lapangan dan hasilnya dapat digunakan sebagai bunga potong.

Selain sebagai bunga hias, krisan berpotensi sebagai tumbuhan obat tradisional. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta (BPTP) mengembangkan manfaat krisan menjadi teh krisan, keripik krisan, permen dan penghasil racun serangga (hama) (BPTP Yogyakarta, 2009). *Chrysanthemum* yang berasal dari bunga krisan yang bermanfaat untuk meredakan influenza dan demam serta mencegah sakit tenggorokan (Triarsari, 2007). Bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) sudah lama digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, seperti demam, sakit kepala, batuk, dan gangguan penglihatan secara tradisional (Xie dkk., 2009). Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) telah diketahui dan digunakan sebagai teh herbal di Thailand dan Tiongkok. Bahkan tanaman ini telah terkenal sebagai tanaman yang bermanfaat dalam menjaga kesehatan, seperti teh bunga krisan (Jung, 2009).

D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut tertentu (Departemen Kesehatan RI, 1995). Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara mengeringkan atau menghaluskan bahan segar kemudian diproses dengan cairan pengestraksi (pelarut). Terdapat berbagai jenis ekstraksi, hal ini tergantung dari kelarutan bahan yang terkandung dalam tanaman serta stabilitasnya (Voight, 1994). Ada beberapa metode ekstraksi menurut Departemen Kesehatan RI (1995), diantaranya adalah maserasi, perkolasi, refluks, digesti, infus, dekok, dan sokletasi.

Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya, yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga merusakkan komponen tersebut dapat dihindari. Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (*simplisia*) dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Pratiwi, 2009).

Kekurangan metode ini adalah waktu yang relatif lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, dan sebaliknya pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar, serta pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Harbone, 1987). Menurut Harbone (1987), ekstraksi senyawa aktif dari satu jaringan tanaman dengan berbagai jenis pelarut pada tingkat kepolaran yang

berbeda bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimum, baik jumlah ekstrak maupun senyawa aktif yang terkandung dalam contoh uji.

Menurut Markham (1988), untuk mendapatkan ekstrak flavonoid sebaiknya dilakukan ekstraksi soxhletasi menggunakan pelarut metanol : air (9 : 1). Senyawa flavonoid pada umumnya mudah larut dalam air, terutama bentuk glikosidanya. Senyawa tersebut dapat diekstrak menggunakan pelarut air. Senyawa yang sedikit larut dalam air bersifat semi-polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut metanol 80%, aseton dan etanol (Robinson, 1991).

Etanol disebut juga etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH atau CH_3CH_2OH dengan titik didihnya $78,4^{\circ}C$. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, volatil dan dapat bercampur dengan air (Kartika dkk., 1997). Ada 2 jenis etanol menurut Rama (2008), etanol sintetik sering disebut metanol atau metil alkohol atau alkohol kayu, terbuat dari etilen, salah satu derivat minyak bumi atau batu bara. Bahan ini diperoleh dari sintesis kimia yang disebut hidrasi. Menurut Gamse (2002), semakin banyak jumlah pelarut semakin banyak pula jumlah produk yang akan diperoleh, hal ini dikarenakan :

1. Distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak.
2. Perbedaan konsentrasi solut dalam pelarut dan padatan semakin besar.

Etanol adalah pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan pelarut organik lainnya, meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Etanol juga larut dalam hidrokarbon alifatik yang ringan, seperti pentana dan heksana, dan

juga larut dalam senyawa klorida alifatik seperti trikloroetana dan tetrakloroetilena (Fessenden dan Fessenden, 1999). Pemilihan jenis pelarut ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan antara lain daya melarutkan bahan (berdasarkan kepolaritasan), titik didih, sifat racun, mudah tidaknya terbakar dan pengaruh terhadap alat peralatan ekstraksi (Fessenden dan Fessenden, 1999). Pada umumnya pelarut yang sering digunakan adalah etanol karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Pelarut yang mempunyai gugus karboksil (alkohol) dan karbonil (keton) termasuk dalam pelarut polar. Etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1988). Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UVVis (Rohyami, 2007). Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid (Slimestad dkk., 2005).

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995). Suatu molekul hanya menyerap

radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang yang khusus (spesifik untuk molekul tersebut), absorpsi cahaya ultraviolet (radiasi berenergi tinggi) mengakibatkan pindahnya sebuah elektron ke orbital dengan energi yang lebih tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energi yang lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah visible (yakni senyawa berwarna) mempunyai elektron yang lebih mudah dipromosikan daripada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang UV (Skoog, 1985).

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Di samping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi diagnostik ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Dengan demikian, secara tidak langsung cara ini berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metal yang terikat pada salah satu gugus hidroksi fenol (Markham, 1988).

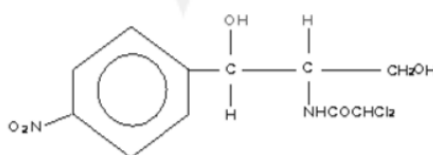
E. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme (khususnya dihasilkan oleh fungi) atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain (Munaf dan Chaidir, 1994). Ada dua sifat antibiotik, yaitu antibiotik golongan bakterisin dan bakteristatik (Davis dan Stout, 1971). Antibiotik yang termasuk golongan bakterisin antara lain penisilin, sefalosporin, aminoglikosida (dosis besar),

kotrimoksazol, rifampisin, isoniazid dan lain-lain. Sedangkan antibiotik yang memiliki sifat bakteriostatik, yang penggunaannya tergantung status imunologi pasien, antara lain sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetopim, linkomisin, klindamisin, asam paraaminosalisilat, dan lain-lain (Laurence dan Bennet, 1987).

Antibiotik yang dibagi berdasar senyawa kimianya antara lain golongan penicillin, cephalosporin, amfenikol, aminoglikosida, tetrasiklin, makrolida, linkosamid, polipeptida, dan antimikobakterium (Utami, 2012). Banyaknya jenis pembagian, klasifikasi, pola kepekaan kuman, dan penemuan antibiotika baru seringkali menyulitkan klinisi dalam menentukan pilihan antibiotika yang tepat ketika menangani suatu kasus penyakit. Hal ini juga merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya resistensi (Utami, 2012).

Kloramfenikol adalah salah satu jenis antibiotika turunan amfenikol yang secara alami diproduksi oleh *Streptomyces venezuelae* (Susanti dkk., 2009). Melalui pengembangan teknologi fermentasi, kloramfenikol dapat diisolasi, disemisintesis menjadi antibiotika turunannya, antara lain tiamfenikol dan turunan lain melalui berbagai reaksi kimia dan enzimatis (Susanti dkk., 2009). Kloramfenikol merupakan senyawa dengan rumus molekul $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ dan nama kimia D-treo-2-dikloroasetamido-1-p-notrofenilpropana-1,3-diol, memiliki struktur molekul seperti di bawah ini.



Gambar 4. Struktur Bangun Kloramfenikol
(Sumber: Susanti dkk., 2009)

Struktur bangun pada Gambar 3 memberi informasi bahwa kloramfenikol memiliki dua atom karbon asimetrik, sehingga menghasilkan 4 stereoisomer. Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai anti bakteri bersifat stereospesifik, karena hanya satu stereoisomer yang memiliki aktivitas anti bakteri, yaitu D-treo-isomer. Kloramfenikol bekerja pada spektrum luas, efektif baik terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol melalui penghambatan terhadap biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, yaitu dengan menghambat pembentukan ikatan peptida (Ganiswarna, 1995). Antibiotika ini mampu mengikat subunit ribosom 50S sel mikroba target secara terpulihkan, akibatnya terjadi hambatan pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein. Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik, namun pada konsentrasi tinggi dapat bersifat bakterisid terhadap bakteri-bakteri tertentu (Ganiswarna, 1995).

Spektrum antibakteri kloramfenikol meliputi *Neisseria*, *Haemophilus*, *Bacillus spp*, *Listeria*, *Bartonella*, *Brucella*, *Porphyromonas multocida*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Rickettsia*, *Treponema* dan kebanyakan mikroba anaerob (Ganiswarna, 1995). Senyawa ini juga efektif terhadap kebanyakan galur *Escherichia coli* dan *Prevotella mirabilis* (Ganiswarna, 1995). Kloramfenikol efektif mengobati riketsia dan konjungtivitis akut yang disebabkan oleh mikroorganisme, termasuk *Pseudomonas sp*, kecuali *Pseudomonas aeruginosa*, senyawa ini juga efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh *Bacteroides fragilis* (infeksi kuman anaerob di bawah diafragma), *Haemophilus*

influenzae (meningitis purulenta), *Streptococcus pneumoniae* (pneumoniae) (Susanti dkk.,2009).

F. Antibakteri

Antimikrobia adalah obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikrobia pada makhluk hidup, salah satunya pada manusia. Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Secara garis besar antimikrobia dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakterisid) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik) (Davis dan Stout, 1971).

Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel (Brooks dkk., 2005). Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks dkk., 2005).

Brunton dkk. (2006) dan Pratiwi (2008) menjabarkan beberapa mekanisme kerja antimikrobia. Antimikrobia berdasarkan struktur kimia dan mekanisme aksi, dikelompokkan menjadi:

1. Senyawa yang menghambat sintesis dinding sel bakteri. Antimikrobia ini merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerjanya adalah dengan mencegah

ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel, yaitu dengan cara menghambat protein pengikat penisilin, protein ini merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri, dan memblokir aktivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang yang membentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis (Brunton dkk., 2006). Termasuk di dalam golongan β -lakam dan senyawa lainnya.

2. Senyawa yang bekerja secara langsung pada membran sel mikroorganisme, meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa intraseluler. Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan kemampuan membran plasma sebagai penghalang osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran.
3. Senyawa yang mengganggu fungsi ribosom subunit 30S atau 50S secara reversibel menghambat sintesis protein, yang umumnya adalah bakteriostatik (misalnya: kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, streptogramins, dan linezolid) dan bakterisidal (misalnya aminoglikosidal).
4. Senyawa yang memengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri. Penghambatannya pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme, seperti rifamycins yang menghambat RNA polimerase dan quinolon yang menghambat topoisomerase.

5. Antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Termasuk di dalamnya trimetoprim dan sulfonamid, yang menghambat enzim penting metabolisme folat.

G. Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu silinder, lubang/sumuran dan cakram kertas (Kusmayati dan Agustini, 2007). Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas medium agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas medium agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas medium padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram (Kusmayati dan Agustini, 2007). Metode

lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Prinsip dari metode ini adalah penghambatan terhadap pertumbuhan mikrobial, yaitu zona hambat akan terlihat jernih di sekitar cakram kertas yang mengandung zat antimikrobia (Gaman dan Sherrington, 1992). Diameter zona hambat pertumbuhan mikrobial menunjukkan sensitivitasnya terhadap zat anti yang digunakan. Selanjutnya, dikatakan bahwa semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk berarti mikrobial tersebut semakin sensitif. Menurut Pelczar dan Chan (1988), zona hambat merupakan tempat mikrobial terhambat pertumbuhannya akibat senyawa antimikrobia.

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam medium cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah dari senyawa antimikrobia yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobial tertentu (Jawetz dkk, 1995). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur

ulang pada medium cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Medium cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).

H. Bakteri Uji

Escherichia coli berdasar klasifikasinya, menurut Brooks dkk. (2001) adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Taksonomi Bakteri *Escherichia coli*

Kerajaan	Procaryota
Divisi	Gracilicutes
Kelas	Scotobacteria
Bangsa	Eubacteriales
Suku	Entobacteriaceae
Marga	<i>Escherichia</i>
Jenis	<i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli adalah bakteri yang termasuk dalam suku Enterobacteriaceae, bersifat Gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora (Fardiaz, 1992). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang anaerob fakultatif dan merupakan anggota golongan *coliform* yang termostabil. *Escherichia coli* juga dianggap sebagai kuman yang tidak patogen di dalam saluran pencernaan dan baru patogen apabila berada di luar saluran pencernaan, karena akan bekerja sebagai bakteri patogen.

Escherichia coli adalah bakteri yang hidup dalam saluran usus manusia dan hewan berdarah panas, tetapi tidak pada ikan. Beberapa penelitian terdahulu menemukan bahwa 92,9% *Escherichia coli* yang mencemari bahan makanan berasal dari tinja manusia. Sehingga keberadaannya pada bahan makanan atau ikan segar menunjukkan adanya ancaman kesehatan (menyebabkan diare, muntah,

dan lain sebagainya) pada konsumen (manusia), sebab dapat diartikan bahwa bahan makanan atau ikan tersebut telah tercemar oleh tinja manusia. Oleh karenanya *Escherichia coli* dipakai sebagai indikator cemaran yang berbahaya bagi manusia (Buckle dkk, 1990).

Escherichia coli adalah anggota koliform yang mempunyai sifat dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi asam dan gas pada suhu 37°C dalam waktu 48 jam. *Escherichia coli* mempunyai bentuk batang pendek, Gram negatif, tidak berspora, ukuran 0,4-0,7 mikron, sebagian besar gerak positif dengan flagel *peritrich*, dan mempunyai kapsul (Jawetz dkk., 1995). *Escherichia coli* merupakan flora normal saluran pencernaan dan merupakan salah satu kuman yang menghasilkan indol positif dan tergolong kuman yang cepat meragi laktosa. Biakan *Escherichia coli* pada media membentuk koloni bulat konveks, halus dengan tepi yang rata dan sedikit mukoid. Pada media ENDO agar koloni tampak metalik (Jawetz dkk., 1995).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Capuccino dan Sherman(2011), adalah sebagai berikut:

Tabel 4. Taksonomi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Kerajaan	Procaryota
Divisi	Firmicutes
Kelas	Bacilli
Bangsa	Bacillales
Suku	Staphylococcaceae
Marga	<i>Staphylococcus</i>
Jenis	<i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus berbentuk bulat atau lonjong, merupakan jenis yang tidak bergerak, tidak berspora, bakteri Gram positif dan tersusun dalam kelompok.

Brooks dkk. (2001), menyatakan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit (menyebabkan infeksi seperti pneumonia, meningitis, empiema, jerawat, endokarditis, pioderma) berkat kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, Toksin Sindroma Syok Toksik (*Toxic Shock Syndrome Toxin*), enterotoksin dan enzim lain.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri jenis Gram positif yang diperkirakan 20-75% ditemukan pada saluran pernapasan atas, muka, tangan, rambut, dan vagina. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut, dan pembentukan abses. Organ yang sering diserang oleh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah kulit yang mengalami luka dan dapat menyebar ke orang lain yang juga mengalami luka (Usman-Chatib, 1993).

I. Hipotesis

1. Ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) yang optimum dalam aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah 75%.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) adalah 25%.