

**POTENSI KULIT BUAH KECAPI (*Sandoricum koetjape*
(Burm.f.) Merr). SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA
DENGAN KLT-BIOAUTOGRAFI**

**THE POTENTIAL OF THE PEEL KECAPI (*Sandoricum*
koetjape (Burm.f.) Merr). AS AN ANTIMICROBIAL
PRODUCER WITH KLT-BIOAUTOGRAPHY**

**SARTIKA
N11116341**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**POTENSI KULIT BUAH KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.)
Merr). SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA DENGAN KLT-
BIOAUTOGRAFI**

**POTENTIAL THE PEEL OF KECAPI (*Sandoricum
koetjape* (Burm.f.) Merr). AS AN ANTIMICROBIAL
PRODUCER WITH KLT-BIOAUTOGRAPHY**

SKRIPSI

Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi

Syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

SARTIKA

N11116341

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

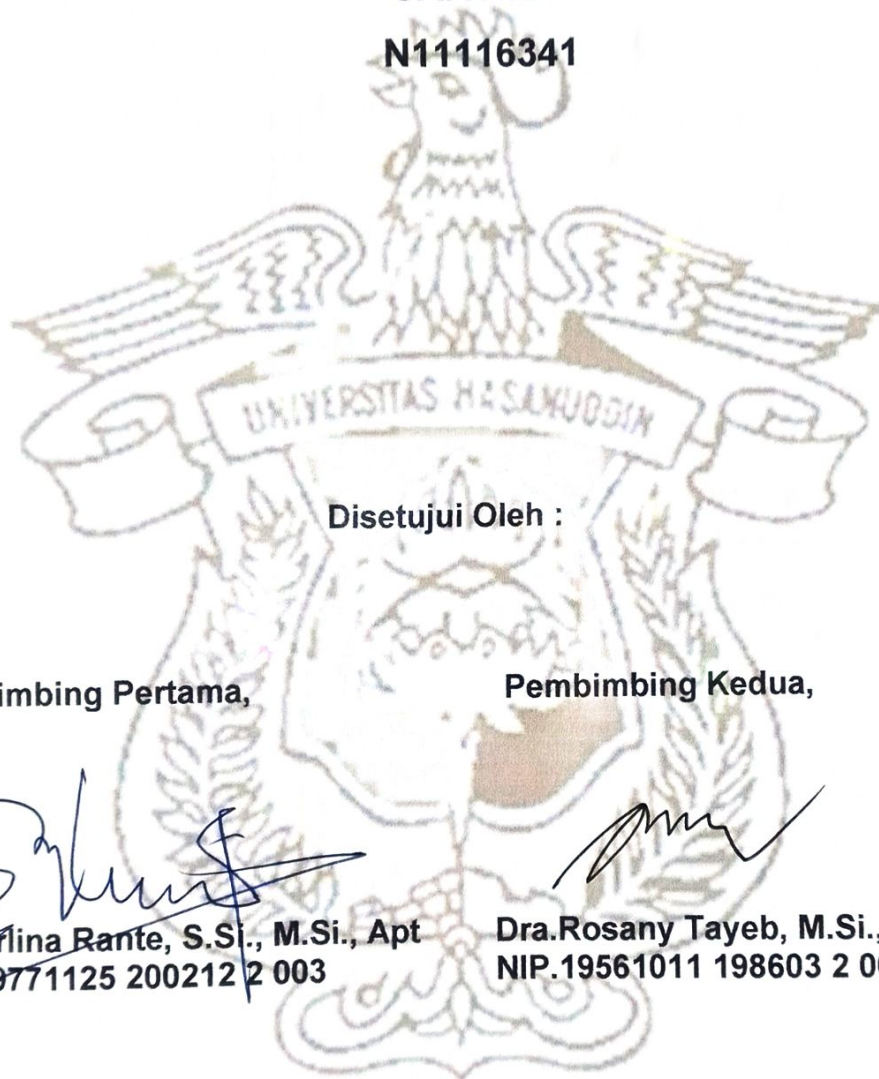
MAKASSAR

2020

**POTENSI KULIT BUAH KECAPI (*Sandoricum koetjape*
(Burm.f.) Merr). SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA
DENGAN KLT-BIOAUTOGRAFI**

SARTIKA


N11116341



Disetujui Oleh :

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,


Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt
NIP.19771125 200212 2 003


Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt
NIP.19561011 198603 2 002

Pada tanggal : 1 November 2020

SKRIPSI

**POTENSI KULIT BUAH KECAPI (*Sandoricum koetjape*
(Burm.f.) Merr). SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA
DENGAN KLT-BIOAUTOGRAFI**

**POTENTIAL THE PEEL OF KECAPI (*Sandoricum koetjape*
(Burm.f.) Merr). AS AN ANTIMICROBIAL PRODUCER WITH
KLT-BIOAUTOGRAPHY**

Disusun dan diajukan oleh :

**SARTIKA
N11116341**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal November 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dr.Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt
2. Sekretaris : Dra.Rosany Tayeb, M.Si., Apt
3. Anggota : Nana Juniarti, S.Si., M.Si., Apt
4. Anggota : Rahmita Burhamzah, S.Si., M.Si., Apt



.....
.....
.....
.....

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Firzan Nainu, M.Biomed.Sc.,Ph.D., Apt
NIP. 19820610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 1 November 2020

Yang menyatakan,



SARTIKA

N11116341

UCAPAN TERIMAHKASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Karena atas berkat rahmat dan Hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan penuh perjuangan dan Do'a sekaligus sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di program studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Salam dan shalawat atas junjungan Nabi Besar Muhammad saw. nabi yang telah membawa umat manusia dari alam kegelapan menuju alam terang benderang, beserta orang-orang yang senantiasa istiqamah dijalan-Nya. Penulis menyadari skripsi ini tidak akan selesai tanpa doa dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penulis serta bimbingan, arahan, saran dan dorongan dari berbagai pihak baik yang bersifat moral maupun material. Ter khusus kepada kedua orang tua penulis tercinta Ayahanda Lisman dan Ibunda Hamliati Terimakasih yang sebesar-besarnya atas segala motivasi, kasih sayang, nasihat, iringan do'a dalam setiap langkah, penyemangat terbesar penulis serta segala kerja keras yang tidak bisa ternilai dengan apapun.

Terimakasih juga yang sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada :

1. Ibu Dr. Herlina rante, S. Si. M.Si., Apt. Selaku pembimbing utama atas keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk memberikan pengarahan, bimbingan, saran, nasehat

serta dukungan mulai dari awal rencana penulisan skripsi hingga selesainya penyusunan skripsi ini.

2. Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. Selaku pembimbing pendamping atas keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk memberikan pengarahan, bimbingan, saran, nasehat serta dukungan mulai dari awal rencana penulisan skripsi hingga selesainya penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Subehan, S.Si., M.Pharm., Sc., Ph.D.m Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Ibu Nana Juniarti ND, S.Si., M.Si. Apt. serta Ibu Rahmita Burhamzah S.Si, M.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberikan penulis banyak arahan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Laboran Laboratorium Mikrobiologi dan Laboran Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin kepada Ibu Haslia, S.Si dan abdi atas segala bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.
6. Teman Penelitian asriyani suaib dan kak dea terimakasih atas segala bantuan, kerja sama serta penyemangat selama penelitian.
7. Sahabat penulis selama perkuliahan "Sahabat squad" yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu terimakasih atas segala bantuan, penyemangat, kebersamaan, kebahagiaan.

8. Sahabat ciwi-ciwi Dedew, Israningsih, ilmi dan laila terima kasih atas segala bantuan, penyemangat, kebahagiaan dukungan selama perkuliahan, penelitian, serta terselesainya penyusunan skripsi ini.
9. Sahabat penulis Andy sahwan dan Muhammad rizal. Terimakasih atas segala bantuan, Motivasi, penyemangat juga terima kasih telah sabar mendengarkan keluh kesah dan tempat curhat penulis selama ini.
10. Teman Angkatan 2016 (NEOST16MINE), UKM pharmacy Sport Club FF-UH, Keluarga Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin (KEMAFAR-UH) atas segala bantuan, semangat, Kebersamaan suka maupun duka yang telah diberikan selama penulis kuliah di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas segalanya.

Penulis menyadari akan segala kekurangan dan keterbatasan penulis sehingga skripsi ini jauh dari kata sempurna dan terdapat banyak kesalahan didalamnya sehingga penulis mengharapkan kritikan dan saran yang membangun dari berbagai pihak untuk menciptakan karya yang lebih baik kedepannya. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membacanya.

Makassar, November 2020

Sartika

ABSTRAK

SARTIKA. POTENSI KULIT BUAH KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr). SEBAGAI PENGHASIL ANTIMIKROBA DENGAN KLT-BIOAUTOGRAFI
(Dibimbing oleh Herlina Rante dan Rosany tayeb)

Kecapi (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr) merupakan salahsatu tanaman tradisional dari suku Meliaceae, Ekstrak kulit buah kecap diperoleh dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan variasi konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5% dan 10%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui golongan senyawa yang bersifat antimikroba pada kulit buah Kecapi (*Sandoricum koetjape*) dengan KLT-Bioautografi. Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dengan diameter daerah hambatan terbesar terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar $7,83 \pm 0,01$ pada konsentrasi 10%. Pada pemisahan senyawa secara KLT diperoleh nilai Rf 0,83. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak kulit buah kecap mengandung senyawa metabolit sekunder dari senyawa golongan fenol dan senyawa Flavonoid.

Kata kunci : *Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr), Antimikroba, Ekstraksi, KLT-Bioautografi.

ABSTRAC

SARTIKA. THE POTENTIAL OF THE RIND KECAPI (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr). AS AN ANTIMICROBIAL PRODUCER WITH KLT-BIOAUTOGRAPHY

(Guided by Herlina Rante and Rosany Tayeb)

Kecapi (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr) is one of the traditional plants of the Meliaceae tribe, the extract of the lute fruit skin is obtained from maceration using 96% ethanol solvent with various concentrations of 1.25%, 2.5%, 5% and 10 %. Antibacterial activity testing was carried out using the agar diffusion method. The purpose of this study was to determine the class of compounds that are antimicrobial in the skin of the kecapi (*Sandoricum koetjape*) fruit using KLT-Bioautography. The results showed that there was antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The average diameter of the largest inhibition area against *Escherichia coli* is 7.83 ± 0.01 at a concentration of 10%. In the separation of compounds by KLT, the Rf value was 0.83. The results of the phytochemical screening test of the lute fruit peel extract contain secondary metabolites of phenol and flavonoid compounds.

Key words: *Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr), Antimicrobial, Extraction, KLT-Bioautography.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I. 1 Latar Belakang	1
I. 2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Peneitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Uraian Tanaman	5
II.1.1 Klasifikasi Tanaman Kecapi	5
II.1.2 Morfologi Tanaman Kecapi	5
II.1.3 Kandungan tanaman Kecapi	7
II.1.4 Manfaat Tanaman Kecapi	8

II.2 Ekstraksi	9
II.2.1 Pengertian Ekstraksi	9
II.2.2 Maserasi	9
II.3. Antimikroba	10
II.3.1 Sifat-sifat Antimikroba	10
II.3.2 Mekanisme Kerja Antimikroba	10
II.4 Uraian Mikroba Uji	13
II.4.1 Klasifikasi <i>Escherichia Coli</i>	13
II.4.2 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
II.4.3 Klasifikasi <i>Candida albicans</i>	16
II.5 Metode Pemisahan	18
II.5.1 Pemisahan Secara KLT	18
II.5.2 Pemisahan Secara KLT Bioautografi	19
BAB III METODE PENELITIAN	22
III.1 Alat Dan Bahan	22
III.2 Metode Penelitian	22
III.2.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel	22
III.2.2 Ekstraksi Sampel	23
III.2.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak	23
III.2.4 Sterilisasi Alat	23
III.3 Pembuatan Media Biakan	24
III.3.1 Pembuatan Media Agar Miring	24
III.3.2 Pembuatan Media Nutrient Agar	24

III.4 Penyiapan Bakteri Uji	24
III.4.1 Peremajaan Biakan Murni Bakteri Uji	24
III.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	25
III.5 Pengujian Ekstrak	25
III.5.1 Penentuan Daerah Hambat	25
III.5.2 Pemisahan Senyawa Secara KLT	25
III.5.3 Pengujian Secara KLT-Bioautografi	26
III.6 Skrining Fitokimia	27
III.6.1 Steroid	27
III.6.2 Alkaloid	27
III.6.3 Fenolik	28
III.6.4 Saponin	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
IV.1 Ekstraksi Kulit Buah Kecapi	29
IV.2 Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Kecapi	31
IV.3 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
V.1 Kesimpulan	39
V.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil rendemen ekstrak kulit Buah Kecapi	30
2. Hasil nilai Diameter zona hambat Ekstrak Kulit buah Kecapi	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Buah Kecapi (<i>Sandoricum koetjape</i>)	5
2. Morfologi <i>Escherichia coli</i>	13
3. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
4. Morfologi <i>Candida albicans</i>	16
5. Hasil Pengujian KLT dan KLT-Bioautografi	35
6. Hasil pengujian skrining fitokimia	38

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecapi atau *Sandoricum koetjape* adalah tanaman asli yang berasal dari Malaysia, Kamboja dan Laos Selatan. Sejak Lama sudah diperkenalkan ke Indonesia, Filipina, India, dan Kepulauan Andaman (Nassar, 2010). Kecapi termasuk suku *Meliaceae* yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional sebagai obat gangguan system pencernaan, obat mulas, sakit mata, obat panas, keputihan dan obat batuk (Swantara, 2009). Bagian tumbuhan yang umum digunakan sebagai obat tradisional adalah daun, buah, kulit batang, kulit buah dan akarnya. Tanaman kecapi mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan polifenol yang dapat digunakan sebagai antimikroba (Warsinah, *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian Nikmah *et al.* (2017), ekstrak daun kecapi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Selain itu, menurut penelitian Elijah *et al.* (2016), ekstrak air daun kecapi juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut karena adanya kandungan metabolit sekunder yaitu saponin dan triterpenoid yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. Menurut penelitian Diansari *et al.* (2018), ekstrak etanol kulit batang kecapi dapat memberikan efek antidiare terhadap marmud yang

diinduksi minyak jarak dan *Escherichia coli*. Heliawati *et al.* (2019), telah berhasil mengisolasi senyawa asam briononik dari buah kecap yang memiliki aktivitas bakteri terhadap *Salmonella enterica*.

KLT-bioautografi merupakan metode untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil kromatografi lapis tipis yang memiliki aktivitas antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode bioautografi penting untuk dilakukan guna mengetahui aktivitas biologi secara langsung dari senyawa kompleks, terutama yang terkait dengan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Kavanagh, 2011). Sehingga senyawa yang berperan sebagai antijamur dapat diketahui dari zona hambat yang terbentuk. Salah satu penentuan untuk menemukan senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromtogram, yaitu dengan metode KLT-Bioautografi (Djide & Sartini, 2016).

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan ekstraksi senyawa aktif dari kulit buah Kecapi (*Sandoricum koetjape*) dengan KLT-Bioautografi serta bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang bersifat antimikroba pada kulit buah Kecapi (*Sandoricum koetjape*) dengan KLT-Bioautografi.

I.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah golongan senyawa apakah yang bersifat antimikroba pada kulit buah Kecapi (*sandoricum koetjape*) berdasarkan KLT-Bioautografi.

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui golongan senyawa yang bersifat antimikroba pada kulit buah Kecapi (*Sandoricum koetjape*) dengan KLT-Bioautografi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman kecapi sebagai berikut (Heliawati, 2018)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta/Tracheophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Meliaceae
Marga	: <i>Sandoricum</i>
Jenis	: <i>S. Koetjape</i> Merr



Gambar 1. Buah Kecapi (Suryani, 2011)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Buah Kecapi (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) dikenal juga dengan sebutan buah sentul, Wild Mangosteen (Inggris), Santor (Filifina) adalah nama sejenis pohon dan buah. Buah kecapi berasal dari Indocina

dan Semenanjung Malaya. Berabad-abad yang silam, tumbuhan ini dibawa dan dimasukkan ke India, Indonesia (Borneo, Maluku), Mauritius, dan Filipina, tanaman buah ini kemudian menjadi populer, ditanam secara luas dan mengalami naturalisasi (Bayani, 2016).

Kecapi dapat dijumpai pada hutan primer dan sekunder pada ketinggian 1200 mdpl atau lebih. Beberapa laporan menyebutkan bahwa kecapi ditemukan juga di hutan dataran rendah (Aprilianti & utami, 2009).

Buah kecapi berbentuk bulat berukuran 5-6 cm, kuning atau kemerahan jika masak, dan berbulu halus seperti beludru. Daging buah bagian luar tebal dan keras, menyatu dengan kulit, agak asam, daging buah bagian dalam lunak berair, melekat pada biji, putih, dan berasa asam sampai manis. Jumlah biji 2-5 butir, besar, bulat telur agak pipih, coklat kemerahan berkilat; keping biji berwarna merah (Bayani, 2016).

Pohon kecapi merupakan pohon yang rimbun dan besar dapat mencapai tinggi tinggi 15-30 m, memiliki cabang, dan daun muda yang halus, lurus dan berbulu. Batang dapat mencapai diameter 90 cm, bergetah seperti susu. Pohon yang diperbanyak secara aseksual cenderung lebih kecil dengan pertumbuhan yang lebih lebat dan berbuah lebih lama dalam 3-5 tahun setelah penanaman. Daun bagian atas berwarna hijau mengkilap dan bagian bawah berwarna hijau muda dan berubah menjadi merah ketika akan jatuh (Emma ruth, 2016).

Daun majemuk berselang-seling, bertangkai, sampai dengan 18 cm, menyirip, beranak daun tiga, bentuk jorong sampai bulat telur, dengan

ukuran 6-26 x 3-16 cm, membulat atau agak runcing dipangkal, meruncing di ujung, jauh lebih panjang dari tangkai anak daun sampingnya. Bunga terletak dalam malai di ketiak daun, berambut, menggantung, sampai dengan 25 cm. Bunga bertangkai pendek, berkelamin dua, kelopak bertaju, mahkota 5 helai, kuning hijau, lanset sungsang, berukuran 6-8 cm, dan berbau harum (Rasadah et al., 2004).

II.1.3 Kandungan Tanaman Kecapi

Tanaman kecap (*Sandoricum koetjape*) biasa digunakan oleh praktisi medis tradisional untuk mengobati keputihan dan kolik dengan rebusan yang dibuat dari kulit buah, biji, daun, dan kulit batang. Berbagai ekstrak *S. koetjape* dan banyak senyawa kimia yang telah di isolasi seperti Limonoid jenis Andirobin telah diisolasi dari biji *S. koetjape* yaitu sandoricin dan 6-hydroxysandoricin menunjukkan aktivitas farmakologis yang potensial.. Limonoid ini menunjukkan aktivitas anti-feedant yang kuat, dan asam bryonolic terpenoid, asam bryonolic meso-inositol dan dimetil lendir polialkohol telah diisolasi dari kulit buah *S. koetjape*. Daunnya telah menghasilkan trijugin limonoid yaitu Sandrapins A, B, C, D dan E, dan sandoripin A dan B. Sejumlah triterpenoid telah diisolasi dari kulit batang seperti, asam katonat, asam indikatif, caryophyllene oxide, spathulenol, asam bryononic, asam secoisobryononic (Nassar et al., 2010).

Kecapi atau *S. koetjape* termasuk suku meliaceae mengandung senyawa flavonoid, saponin dan polifenol. Yang dapat digunakan sebagai

antibakteri. Daun *S. koetjape* mengandung senyawa triterpenoid dan asam koetjapat dan digunakan sebagai obat tradisional untuk keputihan dan antipiretik (Warsinah et al., 2011).

II.1.4 Manfaat Tanaman Kecapi

Tanaman kecap dapat dijadikan sebagai tanaman peneduh di jalur hijau karena tahan terhadap angin serta tidak menimbulkan sampah daun yang mengganggu. Bagian dari tanaman kecap memiliki manfaat yang berbeda-beda mulai dari akar hingga buahnya. Akarnya digunakan untuk anti-diare dan tonik setelah melahirkan, Buah kecap biasa dikonsumsi segar, dijadikan selai manis, sirup dan sebagai minuman beralkohol yang difermentasikan bersama dengan beras. Di Malaysia, buah mudanya dijadikan sebagai bahan baku pembuatan permen. Selain itu, Kayu batangnya dapat dijadikan bahan konstruksi rumah, dek kapal, furnitur, berbagai perlengkapan rumah, alat-alat pertanian, dan sebagai bahan pembuatan kertas dan triplek. Daunnya dapat digunakan untuk mengurangi gejala sakit perut dan demam. Kulit batang yang dihaluskan dapat mengobati penyakit cacing gelang.

Daging buah kecap mengandung antioksidan seperti β -karoten dan substansi bioaktif flavonoid dalam jumlah besar, yaitu 6,5 millimhos/100 g buah segar. Kandungan tersebut memiliki nilai nutrisi yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti jantung koroner dan sebagai antioksidatif serta anti-karsinogenik. Kandungan vitamin C pada

daging buah kecap cukup tinggi, yaitu 14 mg/100 ml jus buah kecap (Aprilianti & utami, 2009).

II.2 Ekstraksi

II.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis termasuk biota laut dengan menggunakan pelarut tertentu serta metode ekstraksi yang sesuai. Adapun tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia, proses ekstraksi ini didasarkan atas perpindahan massa komponen-komponen zat padat dari simplisia kedalam pelarut, setelah pelarut menembus permukaan dinding sel, kemudian berdifusi sehingga terjadi perbedaan tekanan diluar dan didalam sel (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi terbagi atas 2 yaitu ekstraksi secara dingin dan ekstraksi secara panas, salahsatu metode ekstraksi secara dingin yaitu maserasi (Agoes, 2007).

II.2.2 Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian secara sederhana yang paling banyak digunakan, cara ini sesuai baik skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut yang sesuai sehingga bahan menjadi lunak dan larut. Prinsip dari metode ini adalah osmosis dan difusi, yaitu ketika simplisia yang akan di maserasi

direndam dalam dalam pelarut yang dipilih, maka selama proses perendaman tersebut cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam sel yang penuh dengan zat aktif sehingga terjadi proses pelarutan (zat aktif larut dalam penyari) penyari yang masuk kedalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif, sementara penyari yang berada diluar sel belum terisi zat aktif akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel ini menyebabkan terjadinya difusi, larutan yang terpekat akan didesak menuju keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif didalam dan diluar sel. Proses ini akan terus berulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi. Maka zat aktif didalam dan diluar sel akan memiliki konsentrasi yang sama (Sudjadi, 1986).

Adapun keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan proses pemanasan sehingga bahan alam menjadi tidak terurai. Ekstraksi ini memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun banyak senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu kamar (Heinrich et. al., 2004).

II.3 Antimikroba

Antimikroba merupakan bahan-bahan atau obat-obatan yang digunakan untuk mengobati infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotika, antiseptika, disinfektansia, dan preservativ. Obat-obat yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme penyebab infeksi

pada manusia, hewan ataupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide & Sartini 2006).

II.3.1 Sifat-sifat Antimikroba

1. Bersifat Bakteriostatik yaitu menghambat atau membunuh mikroba patogen tanpa merusak hospes/inang. Suatu antimikroba dapat mengakibatkan pertumbuhan mikroba terhambat bahkan dapat menghentikan pertumbuhan bakteri/membunuh namun tidak berpengaruh/merusak pada hospes.
2. Bersifat bakterisida yaitu menghentikan laju pertumbuhan/mikroba. Dalam hal ini jumlah mikroorganisme (bakteri) akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan hal yang sama, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi atau berkembang biak (Waluyo, 2004).

II.3.2 Mekanisme Kerja Antimikroba

1. Menghambat Sintesis dinding Sel
Bakteri memiliki dinding sel yang berfungsi untuk melindungi membran protoplasma yang ada dalam sel. Selain itu, dinding sel bakteri juga menentukan bentuk karakteristik dan berfungsi melindungi bagian dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik dan kondisi lingkungan lainnya. Salah satu mekanisme kerja antimikroba yaitu merusak dinding sel mikroba dengan menghambat sintesis enzim atau inaktivasi enzim, sehingga

menyebabkan hilangnya viabilitas dan sering menyebabkan kerusakan sel atau lisis (Waluyo, 2004).

2. Menghambat Permeabilitas Membran Sel

Antimikroba bekerja secara langsung pada membrane sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler bakteri. Sehingga antimikroba dapat berinteraksi dengan sterol membrane sitoplasma pada sel jamur dan merusak membrane sel bakteri gram negatif, misalnya polimiksin dan kolistin (Djide & Sartini 2006).

3. Menghambat sintesis Protein Sel

Sel mikroba memerlukan sintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Ribosom bakteri terdiri atas dua subunit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Supaya berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Antimikroba akan menghambat reaksi transfer antara donor dengan aseptor atau menghambat translokasi t-RNA peptidil dari situs aseptor ke situs donor yang menyebabkan sintesis protein terhenti (Pelczar, 2008).

4. Menghambat sintesis asam nukleat

Asam nukleat merupakan bagian yang sangat penting bagi perkembangan sel. Untuk pertumbuhannya, kebanyakan sel tergantung pada sintesis DNA, sedangkan RNA diperlukan untuk transkripsi dan menentukan informasi sintesis protein dan enzim. Maka dari itu, jika terjadi gangguan pada pembentukan atau pada

fungsi dari DNA dan RNA dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar, 2008).

II.4 Uraian Mikroba Uji

II.4.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Elfidasari et al. 2011) :

Kingdom : Bacteria
Filum : Proterobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*



Gambar 2. Morfologi *Escherichia coli* (Engelkrik and Burton, 2007)

Escherichia coli merupakan bakteri batang gram negatif, tidak berspora, motil berbentuk flagel peritrik, berdiameter $\pm 1,1-1,5 \mu\text{m} \times 0,2-0,6 \mu\text{m}$. *E. coli* dapat bertahan hidup dimedium sederhana menghasilkan gas dan asam dari glukosa dan memfermentasi laktosa. Pergerakan bakteri ini motil, tidak motil, dan peritrikus, ada yang bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif (Elfidasari et al. 2011). *E. coli* termasuk dalam family Enterobacteriaceae dan bersifat anaerob fakultatif. Kisaran pertumbuhan

optimal untuk *E. coli* adalah 35-40°C, tetapi beberapa strain dapat tumbuh pada suhu rendah yaitu 7°C sementara yang lain dapat tumbuh pada suhu tinggi 46°C (Montville et al. 2012). Dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas membran luar, peptidoglikan dan membran dalam. Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan gram positif. Membran luarnya terdiri dari lipid, liposakarida dan protein. Peptidoglikan berfungsi mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku dan memberi bentuk kepada sel (Purwoko, 2007).

II.4.2 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Bangsa : Eubacteriales
Suku : Micrococcaceae
Marga : *Staphylococcus*
Jenis : *Staphylococcus aureus*



Gambar 3. *Staphylococcus aureus* (Kurniawan, 2012)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk kokus

dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *Staphylococcus aureus* berbeda-beda tergantung pada medium pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada medium agar, *Staphylococcus aureus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya (Kurniawan, 2012).

Staphylococcus aureus berbentuk sferis (irisan bola), bila menggerombol dalam susunan yang tidak teratur sisinya agak rata karena tertekan. Diameter *Staphylococcus aureus* antara 0,8-1,0 mikron. Pada sediaan langsung yang berasal dari nanah dapat terlihat sendiri, berpasangan, menggerombol dan bahkan dapat tersusun seperti rantai pendek. Susunan gerombolan yang tidak teratur biasanya ditemukan pada sediaan yang dibuat dari perbenihan padat, sedangkan dari perbenihan kaldu biasanya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek (Anastasia, 2010).

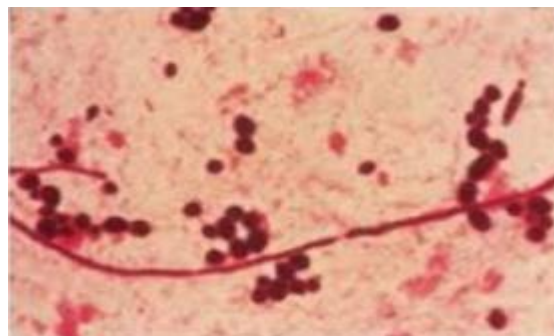
Staphylococcus aureus adalah penyebab infeksi pada kulit. Bakteri ini biasa terdapat pada berbagai bagian tubuh manusia, termasuk hidung, tenggorokan, kulit, dan sangat mudah masuk ke dalam tubuh melalui makanan. *Staphylococcus aureus* bersifat patogen dan invasif, menghasilkan enzim koagulase, pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Kemampuan Patogenik *Staphylococcus aureus* merupakan efek gabungan faktor-faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat daya sebar invasif. Sumber infeksi utama adalah kolonisasi bakteri pada

lesi manusia, benda-benda yang terkontaminasi lesi tersebut, dan saluran respirasi manusia serta kulit. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya pasca operasi infeksi, atau infeksi yang menyertai trauma (Raharjati dan Puspawati, 2012).

II.4.3 Klasifikasi *Candida albicans*

Klasifikasi dari *Candida albicans* adalah sebagai berikut (Waluyo, 2004) :

Division : Thallophyta
Class : Deuteromycetes
Kingdom : Fungi
Ordo : Monoliales
Family : *Cryptococcaceae*
Spesies : *Candida albicans*



Gambar 4. *Candida albicans* (Jawetz, et al., 1996)

Candida albicans merupakan bagian dari mikroba flora normal yang beradaptasi dengan baik untuk hidup pada manusia, terutama pada saluran cerna, urogenital, dan kulit. *Candida albicans* penyebab kandidiasis yang merupakan infeksi jamur dengan insiden tertinggi

disebabkan oleh infeksi oportunistik. Organisme ini juga menyebabkan sejumlah infeksi dari mulai mucosal kandidiasis hingga *life-threatening disseminated kandidiasis* (Mutiawati, 2016).

Bentuk *Candida albicans* yaitu bulat, lonjong, atau bulat lonjong, ukuran $2-5 \mu \times 3-6 \mu$ hingga $2-5,5 \mu \times 5-28,5 \mu$, dengan permukaan halus, licin atau berlipat-lipat, berwarna putih kekuning-kuningan dan berbau ragi. Selain itu, fenotipe atau penampakan mikroorganisme dapat berubah dari berwarna putih dan rata menjadi kerut tidak beraturan, berbentuk bintang, lingkaran, dan tidak tembus cahaya. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung, sebagai target dari beberapa antimikotik dan memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya (Kusumaningtyas, 2009).

Dinding sel *C. albicans* bersifat dinamis dengan struktur berlapis, terdiri dari beberapa jenis karbohidrat berbeda (80- 90%) : (i) *Mannan (polymers of mannose)* berpasangan dengan protein membentuk glikoprotein (mannoprotein); (ii) *α -glucans* yang bercabang menjadi polimer glukosa yang mengandung α -1,3 dan α -1,6 yang saling berkaitan, dan (iii) *chitin*, yaitu homopolimer *N-acetyl-D-glucosamine* (Glc-NAc) yang mengandung ikatan α -1,4. Unsur pokok yang lain adalah protein (6-25%) dan lemak (1-7%). *Yeast cells* dan *germ tubes* memiliki komposisi dinding sel yang serupa, meskipun jumlah α -glucans, chitin, dan mannan relatif bervariasi karena faktor morfologinya. Jumlah glucans jauh lebih

banyak dibanding mannan pada *C. albicans* yang secara imunologis memiliki keaktifan yang rendah. Jamur *Candida* tumbuh dengan cepat pada suhu 25-37°C pada media perbenihan sederhana sebagai sel oval dengan pembentukan tunas untuk memperbanyak diri, dan spora jamur disebut blastospora atau sel ragi/sel khamir. Jamur membentuk hifa semu/pseudohifa yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang, juga dapat membentuk hifa sejati 3-7 Pseudohifa dapat dilihat dengan media perbenihan khusus. *Candida albicans* dapat dikenali dengan kemampuan untuk membentuk tabung benih/*germ tubes* dalam serum atau dengan terbentuknya spora besar berdinding tebal yang dinamakan *chlamyospore*. Formasi *chlamyospore* baru terlihat tumbuh pada suhu 30-37°C yang memberi reaksi positif pada pemeriksaan *germ tube* (Mutiawati, 2016).

II.5 Metode Pemisahan

II.5.1 Secara KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT (Lesty, 2011). Terdapat dua fase dalam Kromatografi lapis tipis Yaitu fase normal (*normal phase*) dan fase terbalik (*reverse phase*), *normal phase* adalah fase diamnya polar fase geraknya

non polar sedangkan reverse phase adalah fase diamnya non polar, pada penelitian ini digunakan normal phase (Destiana et al., 2019).

II.5.2 KLT-Bioautografi

KLT-Bioautografi adalah metode pendeteksian untuk menentukan senyawa yang belum teridentifikasi dengan melokalisir aktivitas antimikroba pada kromatogram.

Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antimikrobanya dipisahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasi bakteri uji dengan merata. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu akan terlihat zona hambat pada KLT yang ditempelkan pada medium agar, zona hambat ditampakkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat didalam bahan yang diperiksa terhadap pertumbuhan mikroorganismenya uji.

Bioautografi dapat dipertimbangkan paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa kompleks dan dapat langsung diisolasi dari komponen aktif.

KLT-Bioautografi terbagi atas 3 kelompok yaitu :

1. Bioautografi Langsung

Prinsip kerjanya yaitu suspensi mikroorganismenya uji peka dalam medium cair disemprotkan pada permukaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang telah dihilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatogram. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

2. Bioautografi kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis. Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan diatas permukaan medium nutrient agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitive terhadap senyawa antimikroba yang dianalisis. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi tersebut diangkat dari permukaan medium. Senyawa antimikroba yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan suhu yang tepat sampai noda yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji tampak pada permukaan membentuk zona yang jernih.

3. Bioautografi Pencelupan

Metode ini dilakukan dengan lempeng kromatografi yang telah dielusi diletakkan dalam cawan petri, sehingga permukaannya tertutup oleh medium agar yang berfungsi sebagai "*Base Layer*" setelah medium agar memadat (*base layer*nya memadat), Kemudian dituangi medium yang telah disuspensikan mikroba uji yang berfungsi sebagai seed layer. Lalu diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai (Djide, 2006).