

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN SAMBILOTO *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees TERHADAP
BAKTERI *Streptococcus pneumoniae* SECARA IN VITRO DAN IN SILICO**

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE ANTIBACTERIAL COMPOUNDS
OF SAMBILOTO LEAF EXTRACT *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees AGAINST
BACTERIA *Streptococcus pneumoniae* BY IN VITRO AND IN SILICO METHODS

MEITIN PABONGI



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN SAMBILOTO *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees TERHADAP
BAKTERI *Streptococcus pneumoniae* SECARA IN VITRO DAN IN SILICO**

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE ANTIBACTERIAL COMPOUNDS
OF SAMBILOTO LEAF EXTRACT *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees AGAINST
BACTERIA *Streptococcus pneumoniae* BY IN VITRO AND IN SILICO METHODS

MEITIN PABONGI



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN SAMBILOTO *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees TERHADAP
BAKTERI *Streptococcus pneumoniae* SECARA IN VITRO DAN IN SILICO**

Disusun dan diajukan oleh

MEITIN PABONGI

H052202001



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKAN DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAUN SAMBILOTO *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees
TERHADAP BAKTERI *Streptococcus pneumoniae* SECARA IN VITRO
DAN IN SILICO**

MEITIN PABONGI

NIM: H052202001

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 09 November 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si
NIP. 1951209199002001

Pembimbing Pendamping



Dr. Eva Johannes, M.Si
NIP. 196102171986012001

**Ketua Program Studi
Biologi S2**



Dr. Junriah, M.Si
NIP. 196312311988031003

**Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin**



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP. 197205151997021002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Meitin Pabongi
NIM : H052202001
Program Studi : Biologi
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Identifikasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Sambiloto
Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*
secara In Vitro dan In Silico

Adalah karya tulisan saya sendiri, bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain dan bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan isi tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 04 Desember 2023

Yang Menyatakan



Meitin Pabongi

KATA PENGANTAR

Salam sejahtera untuk kita semua.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas kasih dan anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Identifikasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Sambiloto *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae* secara In vitro dan In silico”. Tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan Magister (S2) pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

Ucapan terima kasih tak lupa penulis sampaikan kepada berbagai pihak yang telah memberi dukungan dan motivasi dalam mengerjakan tesis ini, terkhusus kepada ibu Martha Pabongi, selaku orang tua dan juga nenek yang telah membesarkan dan mendidik penulis. Ucapan terimakasih juga kepada orang tua penulis, bapak Andarias Laba, S.Pd dan ibu Meti, S.Pd yang selalu memberi motivasi dan mendukung perjalanan studi penulis hingga sampai dititik sekarang ini. Juga kepada seluruh keluarga besar Pabongi yang senantiasa selalu mendukung dan mendoakan penulis dalam menyelesaikan karya tulis ini. Semoga mereka senantiasa dianugerahkan kesehatan dan diberkati dalam perjalanan hidup mereka.

Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada ibu Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si selaku Ketua Komisi Penasihat beserta ibu Dr. Eva Johannes, M.Si selaku Anggota Komisi Penasihat atas bimbingan, arahan, pemikiran, kritik dan saran, maupun waktu dan kesabaran yang telah diberikan kepada penulis dalam proses penyusunan tesis ini, terima kasih atas segala motivasi dan dorongan yang diberikan agar penulis tidak mudah menyerah.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.

2. Ibu Dr. Juhriah, M.Si selaku Ketua Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, terimakasih atas ilmu, masukan serta saran yang diberikan kepada penulis.
3. Ibu Dr. Elis Tambaru, M.Si., ibu Dr. A. Masniawati, M.Si., dan ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc selaku Anggota Panitia Seminar dan Ujian Akhir Magister. Kepada seluruh Dosen Program Studi Magister Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya dengan tulus dan sabar kepada penulis selama proses perkuliahan. Kepada Staf Pegawai Program Studi Magister Biologi dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis baik dalam menyelesaikan administrasi maupun memberikan dukungan kepada penulis selama ini.
4. Bapak Marcus Lembong, AM.AK., SKM., Fuad Gani, S.Si serta Abdillah Mahmud, A.Md.AK yang telah banyak membantu pelaksanaan penelitian ini serta memberi bantuan dalam proses penelitian ini baik berupa ilmu, kritik maupun saran.
5. Timotius Melki, S.H selaku kakak kandung dan Apriandi Pasedan selaku adik kandung penulis yang selalu menghibur dan memberi dukungan kepada penulis dalam menempuh studi.
6. Andi Annisa B.E. Arafat, S.Pd., M.Si., Nur Istiqamah, S.Si., M.Si., Rihw Wardhani, S.Si., M.Si., dan Nurhidayah, S.Si., M.Si selaku teman-teman Program Studi Magister Biologi Angkatan 2020 yang selama ini telah berjuang bersama-sama penulis dalam menempuh studi di Program Studi Magister Biologi, terima kasih atas dukungan dan motivasi yang diberikan bagi penulis dalam masa-masa sulit.
7. Andi Annisa B.E. Arafat, S.Pd., M.Si., Iis Sugiarti, S.Pd., Erwinda, S.Pd., Marni Hamdan, S.Pd., Hardian Pramesty, S.Pd., dan Agung Alfian, S.Pd., M.Si selaku teman-teman yang selalu mendukung dan mendoakan yang terbaik bagi penulis dalam menempuh studi.
8. Nur Hastiana Baktiar, S.Si., M.Si dan Sitti Rahmah Sari, S.Si., M.Si yang telah mendukung dan membantu dalam penelitian karya tulis ini.
9. Aldalin Rahel Ropang, S.T., Wilce Sulle, S.Pi., Sarliati Allo Rampa', S.T., dan Yerli Yansi, S.E.

10. Teman-teman kelas C Angkatan 2016 Program Studi Pendidikan Biologi,
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako.

Pada akhirnya penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang telah berkontribusi hingga karya tulis ini dapat terselesaikan. Semoga kesehatan, kesuksesan, dan kemudahan dari Tuhan yang Maha Esa menyertai kita semua.

Makassar, November 2023

Meitin Pabongi

ABSTRAK

MEITIN PABONGI. **Identifikasi dan karakterisasi senyawa antibakteri ekstrak daun sambiloto *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* secara in vitro dan in silico** (dibimbing oleh Zaraswati Dwyana dan Eva Johannes).

Streptococcus pneumoniae merupakan agen penyebab utama dari penyakit invasif dan infeksi saluran pernafasan seperti meningitis, sepsis, dan pneumonia, terutama terhadap kelompok beresiko seperti anak-anak, dewasa, orang lanjut usia. Oleh karena itu, penggunaan antibiotik telah menjadi metode utama untuk melawan infeksi bakteri ini. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi komponen senyawa ekstrak etil asetat daun sambiloto *Andrographis paniculata* yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri secara in vitro dan in silico. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram Kirby-Bauer untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto *Andrographis paniculata* terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Analisa GC-MS digunakan untuk menentukan komponen-komponen senyawa apa saja yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun sambiloto *Andrographis paniculata*, serta dilanjutkan dengan metode penambatan molekul (*Molecular docking*) untuk mengamati interaksi senyawa bioaktif terhadap bakteri uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun sambiloto pada konsentrasi (20%) memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *Streptococcus pneumoniae*, dengan nilai rata-rata zona hambat 5.68 mm. Analisa GC-MS dan metode *Molecular Docking* memperlihatkan beberapa komponen senyawa aktif pada ekstrak daun sambiloto yaitu 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, Aromadendrene oxide-(1), Andrographolide serta Stigmasterol dengan nilai *binding affinity* berturut-turut pada protein Pneumolysin adalah (-6.0, -6.1, -6.7 dan -7.7), serta nilai *binding affinity* berturut-turut pada protein PsaA adalah (-4.9, -6.7, -6.6 dan -7.6).

Kata Kunci: *Andrographis paniculata*, Antibakteri, *Streptococcus pneumoniae*, in vitro, in silico

ABSTRACT

MEITIN PABONGI. **Identification and characterization of the antibacterial compounds of Sambiloto leaf extract *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees against bacteria *Streptococcus pneumoniae* by In vitro and In silico methods** (supervised by Zaraswati Dwyana and Eva Johannes).

Streptococcus pneumoniae is the main causative agent of invasive diseases and respiratory tract infections such as meningitis, sepsis, and pneumonia, especially in at-risk groups such as children, adults, and the elderly. Therefore, the use of antibiotics has become the main method of fighting this bacterial infection. The purpose of this study was to identify and characterize the components of the ethyl acetate extract of *Andrographis paniculata* leaves potential as an antibacterial compound by in vitro and in silico methods. The method used in this study was the Kirby-Bauer disc diffusion method to test the antibacterial activity of *Andrographis paniculata* against bacteria *Streptococcus pneumoniae*. GC-MS analysis was used to determine the components of the compounds contained in the ethyl acetate extract of Sambiloto leaves (*Andrographis paniculata*), and continued with the molecular docking method to observe the interaction of bioactive compounds to the test bacteria. The results showed that ethyl acetate extract of the bitter leaf at a concentration of (20%) had the ability to inhibit *Streptococcus pneumoniae* bacteria, with an average inhibition zone value of 5.68 mm. GC-MS analysis and *Molecular Docking* methods showed several active compound components in Sambiloto leaf extract namely 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, Aromadendrene oxide-(1), Andrographolide and Stigmasterol with binding affinity values for the pneumolysin protein respectively (-6.0, -6.1, -6.7 and -7.7), and the binding affinity values for the PsaA protein were respectively (-4.9, -6.7, -6.6 and -7.6).

Keywords: *Andrographis paniculata*, antibacterial, in vitro, in silico *Streptococcus pneumoniae*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGAJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Kegunaan Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Zat Antimikroba	5
2.2. Tanaman Sambiloto dan Pemanfaatannya	7
2.2.1. Klasifikasi Tanaman Sambiloto	7
2.2.2. Morfologi, Anatomi dan Reproduksi Tanaman Sambiloto	9
2.2.3. Pemanfaatan Tanaman Sambiloto.....	10
2.3. Potensi Senyawa Aktif sebagai Antimikroba dan Mekanisme Penghambatannya.....	11
2.3.1. Senyawa Terpenoid.....	11
2.3.2. Senyawa Polifenol	13
2.3.3. Senyawa Flavonoid	14
2.4. Tinjauan Umum Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	17
2.5. Kerangka Pemikiran.....	21
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	24
3.1. Waktu dan Tempat.....	24
3.2. Alat dan Bahan.....	24
3.3. Prosedur Penelitian.....	25
3.3.1. Sterilisasi Alat	25
3.3.2. Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto	25
3.3.3. Pembuatan suspensi Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	26
3.3.4. Uji Dilusi Cair (<i>Tube Dilution</i>)	26
3.3.5. Uji Sensitivitas Antibakteri	27
3.3.6. Analisis KLT Bioautografi	27
3.3.7. Identifikasi Senyawa dengan Skrining Fitokimia.....	28
3.3.8. Analisa senyawa antibakteri menggunakan GC-MS	28
3.3.9. Uji <i>In-Silico</i>	29
3.4. Pengumpulan dan Analisis Data	29
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Pengolahan Sampel dan Penyiapan Ekstrak.....	30
4.2 Penentuan Konsentrasi Ekstrak dengan Uji Dilusi Cair.....	32
4.2.1 Pengukuran dengan Spektrofotometer	34
4.2.2 Perhitungan Koloni (Metode <i>Plating</i>).....	35

4.3 Uji Aktivitas/Sensitivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar	37
4.4 Pemisahan Senyawa dengan Metode KLT Bioautografi	41
4.5 Identifikasi Komponen Senyawa pada Ekstrak dengan Skrining Fitokimia	42
4.6 Analisis Senyawa Bioaktif dengan uji GC-MS.....	44
4.7 Analisis Senyawa Antibakteri dengan Uji In Silico	46
BAB V. PENUTUP	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Kelompok senyawa yang tergolong dalam kelompok terpenoid berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya	11
2. Hasil ekstraksi daun sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	32
3. Data hasil uji dilusi cair	33
4. Pengukuran kekeruhan dengan spektrofotometer	35
5. Hasil perhitungan koloni uji dilusi cair	36
6. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto	38
7. Hasil identifikasi golongan senyawa ekstrak etil asetat daun sambiloto	42
8. Profil komponen senyawa uji GCMS	45
9. Hasil docking protein target bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i> dengan senyawa-senyawa ligan	47

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	8
2. Beberapa senyawa andrografolid yang terdapat pada tanaman Sambiloto	12
3. Struktur Asam Fenolik.....	13
4. Struktur Dasar Senyawa Flavonoid	15
5. Struktur Dasar Senyawa Flavonoid beserta Beberapa Sub-Grup dalam Senyawa Flavonoid.....	15
6. Struktur kimia xanthone	16
7. Bentuk Sel <i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
8. Diagram Kerangka Pikir	23
9. Ekstrak daun sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	31
10. Uji dilusi cair	34
11. Perhitungan koloni tabung T6	36
12. Uji aktivitas antibakteri	39
13. Uji KLT Bioautografi	41
14. Reaksi uji dragendroff	43
15. <i>Docking molecular</i> senyawa <i>andrographolide</i> terhadap protein pneumolysin (PLY).....	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu bagian dari pembangunan nasional secara menyeluruh adalah pembangunan kesehatan berkelanjutan. Pembangunan kesehatan adalah upaya yang dilakukan untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat. Rachmat (2014) menjelaskan tujuan dari pembangunan kesehatan adalah untuk meningkatkan kesadaran, kemauan dan kemampuan hidup sehat sebagai wujud dari investasi bagi pembangunan sumber daya manusia. Pencapaian derajat kesehatan optimal bukan hanya menjadi tanggung jawab dari sektor kesehatan saja, namun juga sektor terkait lainnya seperti sektor ekonomi, sosial, pemerintah bahkan sektor pendidikan pun juga mempunyai peranan yang cukup besar. Karena kesehatan merupakan hak semua penduduk sehingga pemerintah menerapkan target dan sasaran pembangunan kesehatan. Namun beberapa hal dapat mengganggu penerapan tersebut sehingga menyebabkan terjadinya penurunan tingkat kesehatan, diantaranya adalah peran bakteri.

Pneumonia adalah penyakit yang tergolong penyakit menular langsung. Pneumonia merupakan penyakit infeksi yang menyerang jaringan paru-paru (alveoli) yang biasanya disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme seperti virus, jamur maupun bakteri (salah satu diantaranya adalah bakteri *Streptococcus pneumoniae*). Saat ini program pengendalian pneumonia oleh pemerintah diprioritaskan pada anak dibawah usia lima tahun (Balita). Salah satu upaya yang dilakukan pemerintah dalam pengendalian penyakit pneumonia adalah dengan meningkatkan penemuan penyakit pneumonia pada balita. Dalam data Cakupan Penemuan Pneumonia pada Balita di Indonesia tahun 2009-2019, pada tahun 2009-2014 peningkatan penemuan pneumonia pada balita belum mengalami perkembangan yang berarti yaitu sekitar dari 20 % menuju ke 30 %. Namun di tahun 2015-2019 terjadi peningkatan secara signifikan yaitu dari nilai sekitar 30 % menuju ke 70 % (Kementerian Kesehatan RI, 2020). Walaupun di tahun 2020 terjadi penurunan penemuan pneumonia menjadi 34,8 %, namun hal ini tidak berarti bahwa telah terjadi penurunan kasus pneumonia, penurunan angka

penemuan ini terjadi dikarenakan kurangnya kunjungan balita batuk atau kesulitan bernapas ke puskesmas (Kementerian Kesehatan RI, 2021). Dari penjelasan diatas maka kasus peningkatan penyakit pneumonia di Indonesia tetap terjadi, ditambah lagi dengan pandemi COVID-19 yang melanda Indonesia telah mempengaruhi capaian temuan pneumonia disegala kalangan usia.

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri Gram positif yang tergolong ke dalam bakteri multidrug-resistant (MDR). Bakteri ini merupakan patogen anaerob fakultatif yang biasanya ditemukan pada saluran pernapasan bagian atas manusia. Prevalensi infeksi *S. pneumoniae* di Indonesia cukup tinggi, terutama pada anak-anak dan lansia (Cristianawati *et al.*, 2019). Bakteri *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri penyebab utama penyakit pneumonia, meningitis serta penyakit invasif lainnya. Hal ini disebabkan karena *S. pneumoniae* adalah salah satu bakteri yang mengekspresikan berbagai faktor virulensi. Bakteri *S. pneumoniae* adalah patogen dari berbagai penyakit baik pada manusia maupun hewan, bakteri ini memiliki resistensi terbesar terhadap antibiotik diantara mikroorganisme Gram positif lainnya (Samotrueva *et al.*, 2021). Dengan angka kematian dan morbiditas diantara anak-anak dibawah usia lima tahun khususnya di negara berkembang. Antibiotika dipertimbangkan menjadi strategi yang efektif untuk mengatasi infeksi bakteri *S. pneumoniae* (Xu *et al.*, 2020). Namun maraknya resistensi antibiotik yang telah terjadi menyebabkan perlunya strategi perlakuan baru dalam mengatasi infeksi oleh bakteri *S. pneumoniae*.

Penggunaan antibiotik dunia saat ini telah lebih dari 40.000 ton per tahun, baik dalam industri kesehatan, pertanian, pakan peternakan, biokimia, pangan, genetika dan biologi molekuler, bahkan diperkirakan akan cenderung meningkat (Rollando, 2019). Jumlah antibiotik yang semakin meningkat dengan masing-masing setiap antibiotik memiliki sifat intrinsik yang berbeda akan menyebabkan terciptanya resistensi terhadap mikroba target sehingga efek terapi dari antibiotik akan melemah aplikasinya. Resistensi antibiotika saat ini merupakan permasalahan yang penting terkhusus dibidang kesehatan. Beberapa penyebab umum penyebaran resistensi antibiotik antara lain penggunaan antibiotik yang berlebihan baik dibidang pertanian maupun kedokteran; penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan; pasar antibiotik ilegal yang tidak terkendali; serta penggunaan antibiotik tanpa melakukan tes resistensi antibiotik awal (Stasiak *et al.*, 2021).

Penelitian mengenai penemuan antibiotik baru telah banyak dilakukan oleh karena meningkatnya kasus resistensi. Sumber daya alam seperti tanaman diketahui memiliki kandungan yang berpotensi sebagai antibakteri (So-in & Sunthamala, 2022). Oleh karena itu diperlukan antibiotik dari berbagai sumber keanekaragaman tanaman herbal salah satunya tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*).

Bahan alam dari tanaman merupakan sumber produk obat yang potensial, selain karena beberapa tanaman dikenal keamanannya juga karena bebas dari toksisitas. Walaupun penggunaan obat berbahan sintetik juga biasa digunakan namun tidak jarang tubuh kita terkadang sulit untuk mengenalinya sehingga berdampak toksik bagi tubuh dan berefek mengganggu kesehatan (apalagi jika penggunaannya dengan dosis yang ekstrim).

Belakangan ini dikembangkanlah obat dengan bahan dasar tanaman herbal. Farhana *et al.* (2022) menyebutkan bahwa *A. paniculata* tergolong kedalam famili *Acanthaceae* telah digunakan secara luas di India, Bangladesh, Hongkong, Thailand dan termasuk di Indonesia, memiliki manfaat terapeutik yang bervariasi seperti antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, antialergi, antioksidan serta sebagai antimikroba. Senyawa bioaktif utama dari *A. paniculata* adalah diterpenoid lakton yang bertanggung jawab terhadap rasa pahit tanaman. *Andrographolide* (AD) merupakan molekul utama dari golongan diterpenoid lakton. Komponen lain dari *A. paniculata* antara lain flavonoid, xanthone dan polifenol (Mehta *et al.*, 2021).

Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai identifikasi dan karakterisasi senyawa antibakteri dari ekstrak daun sambiloto *Andrographis paniculata* terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* secara In Vitro dan In Silico.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat potensi antibakteri ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*?
2. Golongan senyawa apa saja yang terdapat pada ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*?
3. Bagaimana karakteristik senyawa aktif ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berpotensi sebagai antibakteri?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
2. Untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
3. Untuk menganalisis karakterisasi senyawa aktif ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berpotensi sebagai antibakteri secara in vitro dan in silico.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diketuainya potensi antibakteri ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
2. Diketuainya golongan senyawa yang memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
3. Diketuainya karakterisasi senyawa aktif ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang berpotensi sebagai antibakteri secara in vitro dan in silico.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat Antimikroba

Saat ini penggunaan antibiotik di dunia berjumlah lebih dari 40.000 ton per tahun, baik itu dalam industri kesehatan, pertanian, pakan peternakan, biokimia, pangan, genetika, dan biologi molekuler serta ada kecenderungan terjadi peningkatan. Bertambahnya jumlah antibiotik dengan masing-masing antibiotik memiliki sifat intrinsik berbeda akan menciptakan resistensi pada mikroba target sehingga menyebabkan antibiotik dapat memiliki efek terapi yang lemah saat diaplikasikan. Saat ini resistensi antibiotika merupakan permasalahan yang penting dalam bidang kesehatan dikarenakan dapat menyulitkan dalam proses pengobatan penyakit. Oleh sebab itu diperlukan cara untuk memperoleh antibiotik melalui eksplorasi bahan alam, sintesis kimia, serta penemuan mikroba penghasil antibiotik (Rollando, 2019).

Pengendalian mikroorganisme saat ini sangat esensial dan penting baik dalam industri dan produksi pangan, obat-obatan maupun kosmetik. Beberapa alasan utama dalam pengendalian mikroorganisme antara lain mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, serta mencegah pembusukan dan perusakan bahan oleh mikroorganisme (Fifendy, 2017).

Pengendalian mikroorganisme dapat dilakukan dengan beberapa cara, baik itu dengan diminimalisir, dihambat maupun dibunuh dengan sarana atau bantuan proses fisika maupun bahan kimia. Sarana fisika dapat diartikan sebagai keadaan atau sifat fisika yang menyebabkan suatu perubahan misalnya suhu, tekanan, radiasi dan penyaringan. Proses fisik merupakan suatu prosedur yang mengakibatkan perubahan, misalnya sterilisasi, pembakaran dan sanitasi. Adapun bahan kimia dalam pengendalian mikroorganisme adalah suatu substansi baik itu padat, cair, atau gas, yang dicirikan dengan komposisi molekuler yang pasti dan menyebabkan terjadinya reaksi. Beberapa contoh bahan kimia yang digunakan dalam pengendalian mikroorganisme adalah kelompok fenolik, alkohol, klor, iodium, etilenoksida dan lainnya (Fifendy, 2017).

Zat antimikroba bekerja dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Zat antimikroba **merusak dinding sel** dengan cara menghambat pembentukan dinding sel, atau dapat juga dengan cara mengubahnya setelah dinding sel selesai terbentuk. **Perubahan permeabilitas sel** yang disebabkan oleh kerja antimikroba merupakan kerusakan pada membran sel yang mana dalam hal ini menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bahkan menyebabkan kematian pada sel. Hal ini disebabkan karena membran sel berperan dalam mempertahankan bahan-bahan tertentu yang ada dalam sel serta mengatur keluar masuknya bahan-bahan lain (Fifendy, 2017).

Membran sel juga berperan dalam memelihara integritas seluler. **Perubahan molekul protein dan asam nukleat** terjadi bila adanya suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia yang menyebabkan koagulasi atau denaturasi komponen seluler vital yang sifatnya ireversibel. Hal ini disebabkan karena hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya (Fifendy, 2017).

Beberapa zat antimikroba bekerja dengan cara **menghambat kerja enzim**. Zat-zat kimia tertentu telah ditemukan mampu mengganggu reaksi biokimiawi. Zat antimikroba yang bersifat penghambat ini mampu mengakibatkan terganggunya metabolisme bahkan menyebabkan kematian pada sel. Selain itu zat antimikroba juga bekerja dengan **menghambat sintesis asam nukleat dan protein**. Asam nukleat (DNA/RNA) dan protein merupakan substansi yang berperan penting dalam proses kehidupan suatu sel, sehingga jika substansi tersebut mengalami gangguan pada pembentukan maupun pada fungsi zat-zat tersebut maka dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Fifendy, 2017).

Berikut beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja antimikroba:

- Konsentrasi atau intensitas zat antimikroba; jika konsentrasi zat semakin tinggi maka semakin cepat sel-sel mikroba terbunuh.
- Jumlah mikroorganisme; jumlah mikroba yang semakin banyak menyebabkan semakin banyak perlakuan yang harus diberikan.
- Suhu; kenaikan suhu yang sedang dapat menaikkan keefektifan suatu disinfektan atau bahan antimikroba.
- Spesies mikroorganisme; berbagai spesies mikroba yang berbeda akan menunjukkan kerentanan yang berbeda.

- Adanya bahan organik; bahan organik asing dapat mengurangi keefektifan zat antimikroba dengan cara menginaktifkan zat antimikroba sehingga melindungi mikroorganisme. Bahan-bahan organik asing yang bergabung dengan disinfektan atau zat antimikroba dapat membentuk produk yang tidak bersifat antimikroba, dapat juga menghasilkan suatu endapan sehingga tidak dapat lagi berikatan dengan mikroorganisme. Akumulasi bahan organik asing tersebut pada permukaan sel mikroorganisme juga bisa menjadi pelindung bagi mikroorganisme sehingga zat antimikroba tidak dapat kontak langsung dengan mikroorganisme.
- pH; mikroba dalam lingkungan asam dapat dibasmi dalam suhu yang lebih singkat dibanding mikroba dalam lingkungan yang asam (Fifendy, 2017).

2.2 Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Pemanfaatannya

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Sambiloto

Tanaman Sambiloto (atau dengan nama latin *Andrographis paniculata*) adalah tanaman yang tumbuh tersebar di banyak negara tropis termasuk di Indonesia, namun sejatinya tanaman ini merupakan tanaman asli dari India. Sambiloto (Gambar 1) adalah salah satu tumbuhan herbal yang banyak dibutuhkan dalam industri obat tradisional di Indonesia, hal ini karena banyak manfaat yang ditunjukkan terutama dalam pengobatan tradisional, seperti untuk meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi kuman, anti diare, gangguan lever, maupun antibakteri. Dalam industri obat tradisional Indonesia, Sambiloto dimanfaatkan untuk berbagai produk, seperti produk jamu antiinflamasi, obat penurun tekanan darah, diabetes, pegal linu, dan lainnya (Kementerian Kesehatan RI, 2017).



(A)



(B)

Gambar 1. (A) Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Mussard *et al.*, 2019); (B) Dokumentasi Pribadi

Regnum	Plantae
Divisio	Angiospermae
Classis	Dicotyledonae
Ordo	Personales
Familia	Acanthaceae
Genus	<i>Andrographis</i>
Spesies	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm. f.) Nees (Hossain <i>et al.</i> , 2014)

2.2.2 Morfologi, Anatomi dan Reproduksi Tanaman Sambiloto

Sambiloto merupakan tumbuhan dengan perawakan terna tegak, sangat pahit, tinggi 40-90 cm. Percabangan banyak dengan letak berhadapan (simpodial), cabang berbentuk segi empat gundul. Daun tunggal, helaian berbentuk lanset, ujung dan pangkal daun runcing sampai agak runcing, tepi daun rata, panjang 3-12 cm, lebar 1-3 cm, tangkai daun 0,25-0,50 cm, daun bagian ujung sebagai daun pelindung. Susunan bunga majemuk malai, tegak, bercabang-cabang, tangkai bunga 3-7 mm, kelopak bunga 3-4 mm. Bunga berbibir, tabung mahkota lurus, panjang 6 mm, cuping mahkota kurang-lebih sama dengan tabung mahkota, bibir atas berwarna putih berujung kuning panjang 7-8 mm, bibir bawah berbentuk pasak, berwarna ungu, panjang rata-rata 6 mm. Kepala sari sempit melebar di bagian pangkal, panjang 6 mm. Buah kapsul, berbentuk lanset memipih, membuka secara longitudinal, ujung tajam, berambut kelenjar pendek, panjang rata-rata 1,75 cm, lebar 3,5-4 mm, biji 3-7 buah (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Sambiloto merupakan tanaman yang hampir tidak memiliki banyak keragaman morfologi. Perbedaan fenotipik lebih didasarkan pada ukuran dari pada bentuk atau karakter morfologinya. Perbedaan tinggi tempat hampir tidak berpengaruh terhadap perubahan karakter morfologi sambiloto, namun berpengaruh terhadap pertumbuhan tinggi tanaman. Pada dataran rendah (800 mdpl), pertumbuhan tinggi sambiloto jauh berkurang dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh di dataran menengah atau sedang (400-800 mdpl). Keanekaragaman genetik Sambiloto sangat kecil disebabkan karena tanaman ini tergolong penyerbukan sendiri atau *self-pollinated* (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Pertumbuhan dan produksi tanaman dalam suatu ekosistem pertanian tergantung pada interaksi antara sistem biologis dan lingkungan fisik dimana tanaman itu tumbuh. Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman antara lain iklim meliputi cahaya, curah hujan, suhu udara, lingkungan atmosfer (CO_2 , O_2 , kelembaban) dan lingkungan perakaran (keadaan fisik, kimia dan air tanah). Oleh karena itu apabila kondisi lingkungan tersebut kurang sesuai bagi pertumbuhan tanaman perlu dilakukan modifikasi sehingga dicapai suatu tingkat toleransi yang diinginkan (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

2.2.3 Pemanfaatan Tanaman Sambiloto

Bahan alam merupakan sumber yang potensial bagi pengembangan obat-obatan, selain karena penggunaannya yang relatif aman, juga karena relatif jauh dari toksisitas. Penggunaan obat-obatan sintetik biasanya membuat tubuh kita sulit untuk mengenalinya sehingga inilah yang menyebabkan sifat toksik dan efek yang tidak sehat dari penggunaannya yang berlebihan. Saat ini penggunaan obat-obatan dari tanaman herbal telah dikembangkan. Secara tradisional obat herbal telah luas digunakan sebagai sumber antimikroba oleh karena kaya akan unsur-unsur fitokimia. Salah satunya adalah *A. paniculata*, tergolong kedalam famili *Acanthaceae* yang merupakan salah satu tanaman obat paling berharga dan biasa digunakan sebagai obat alami berbagai jenis penyakit seperti diare, eksim, disentri, demam, pneumonia dan hepatitis. *A. paniculata* telah secara luas digunakan pada zaman kuno di India, Bangladesh, Hongkong, Indonesia, Pakistan, dan Thailand. Di negara-negara Asia Selatan *A. paniculata* dikenal dengan nama “*King of Bitters*” atau “*Kalmegh*” (Farhana *et al.*, 2022).

Bagian utama pada tingkat pelayanan kesehatan primer adalah pemanfaatan tumbuhan obat dikarenakan aksesibilitas, kecukupan, kesesuaian, dan kelayakannya. Sekitar 75-80% penduduk di negara berkembang bergantung pada tanaman herbal dalam rangka kebutuhan kesehatan dasar mereka. *Andrographis paniculata* (Burm. f) Nees merupakan tumbuhan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat tradisional baik sebagai obat luar, obat konsumsi, maupun sebagai campuran dengan tumbuhan obat lain (Arif *et al.*, 2019). *A. paniculata* merupakan tanaman herba dan secara etnobotani banyak dimanfaatkan untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Unsur-unsur bioaktif utama yang bertanggung jawab dalam memberikan rasa pahit dan potensi perbaikan pada *A. paniculata* adalah kelompok senyawa *Diterpenoid lactone*, salah satunya adalah *Andrographolide* (AD) yang merupakan molekul bioaktif utama dan keberadaannya ada di seluruh bagian tanaman. Komponen lain dari *A. paniculata* diantaranya adalah flavonoid, xanthone, dan polifenol (Mehta *et al.*, 2021).

2.3 Potensi Senyawa Aktif sebagai Antimikroba dan Mekanisme Penghambatannya

2.3.1 Senyawa Terpenoid

Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder terbesar, dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya (Tabel 1) (Kristanti *et al.*, 2008).

Tabel 1. Kelompok senyawa yang tergolong dalam kelompok terpenoid berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya (Kristanti *et al.*, 2008)

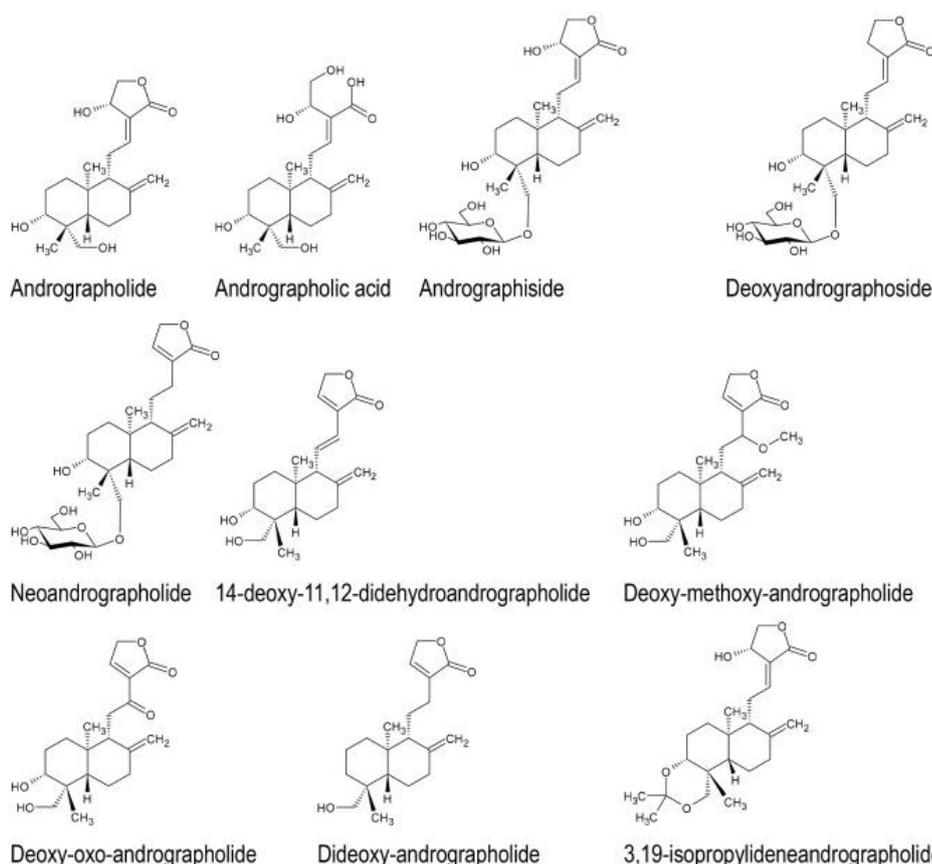
Kelompok Terpenoid	Jumlah Atom C
Monoterpen	10
Seskuiterpen	15
Diterpen	20
Triterpen	30
Tetraterpen	40
Politerpen	>40

Terpenoid tersusun atas karbon-karbon dengan jumlah kelipatan lima. Diketahui juga bahwa sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C_5 yang disebut unit isopren. Disebut unit isopren karena kerangka karbon C_5 ini sama seperti senyawa isopren. Dari beberapa struktur senyawa terpenoid yang telah berhasil diidentifikasi, dapat diketahui bahwa unit-unit isopren tersebut saling berkaitan secara teratur dimana "kepala" dari unit yang satu berikatan dengan "ekor" dari unit lain (Kristanti *et al.*, 2008).

Adapun senyawa terpenoid memiliki daya polaritas yang sama dengan golongan senyawa fenol. Mekanisme kerja dari senyawa terpenoid sebagai

antibakteri juga sama dengan mekanisme kerja senyawa fenol yaitu mengganggu proses transportasi senyawa penting dari dan ke dalam sel bakteri. Terpenoid memiliki kemampuan berikatan dengan lemak dan karbohidrat yang akan mengganggu sifat permeabilitas dinding sel bakteri (Bontjura *et al.*, 2015).

Terpenoid memiliki kemampuan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, serta pertumbuhan bakteri terhambat atau mengalami kematian (Haryati *et al.*, 2015; Wahdaningsih *et al.*, 2014).



Gambar 2. Beberapa senyawa andrografolid yang terdapat pada tanaman Sambitoto (Kuchta *et al.*, 2022)

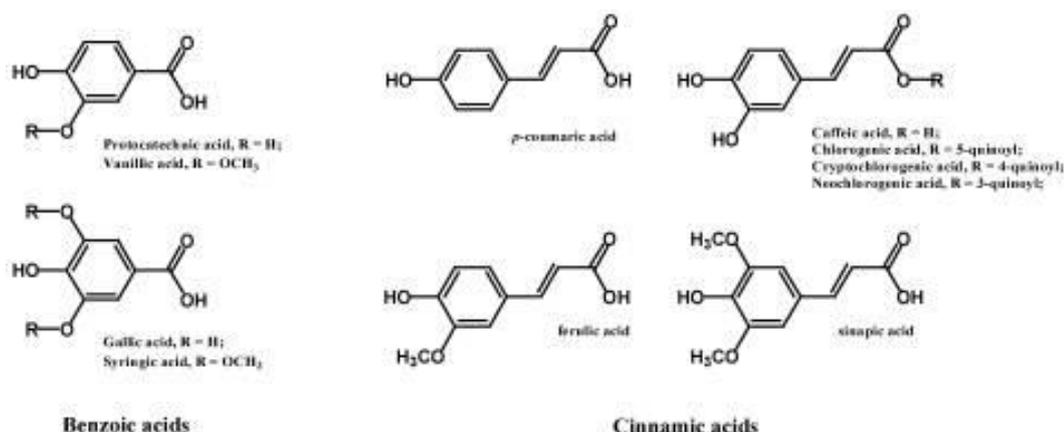
Andrographis paniculata tergolong ke dalam famili *Acanthaceae* yang memproduksi komponen kimia yang disebut Andrografolid ($C_{20}H_{30}O_5$, titik lebur 230-239 °C), senyawa ini termasuk dalam keluarga isoprenoid (Sa-Ngiamsuntorn *et al.*, 2021). Andrografolid (Gambar 2) tergolong kedalam senyawa *Diterpenoid lactone*, yang mana senyawa ini merupakan kelompok utama bahan kimia bioaktif

dalam tanaman obat *A. paniculata* (Srivastava *et al.*, 2021). Andrografolid merupakan komponen obat yang dapat ditemukan pada daun maupun akar dari tumbuhan *A. paniculata*. Komponen ini dapat dengan mudah diisolasi dari daun tanaman *A. paniculata* dalam bentuk ekstrak kasar (Palanikani *et al.*, 2020). Andrografolid merupakan komponen kimia yang paling menonjol diantara komponen lainnya yang ada pada tumbuhan *A. paniculata*. Beberapa studi mengungkapkan bahwa fitokimia pada tumbuhan ini ditemukan lebih tinggi pada bagian daun jika dibandingkan dengan bagian lainnya (Tajidin *et al.*, 2019). Beberapa senyawa Andrografolid yang terdapat pada tanaman Sambiloto dapat dilihat pada Gambar 2.

2.3.2 Senyawa Polifenol

Sebagian besar senyawa organik bahan alam adalah senyawa aromatik. Sebagian besar dari senyawa aromatik ini mengandung cincin karboaromatik, yaitu cincin aromatik yang hanya terdiri atas atom karbon dan hidrogen. Cincin karboaromatik ini lazimnya tersubstitusi oleh satu atau lebih gugus hidroksil atau gugus lain yang ekuivalen ditinjau dari segi biogenetik. Oleh karena itu, senyawa bahan alam aromatik ini seringkali disebut senyawa fenol (Gambar 3) (Kristanti *et al.*, 2008).

Dari segi biogenetik, senyawa fenol pada dasarnya dapat dibedakan atas dua jenis utama. Yang pertama adalah senyawa fenol yang berasal dari jalur shikimat dan yang kedua adalah senyawa fenol yang berasal dari jalur asetat-malonat. Ditemukan juga golongan senyawa fenol lain yang berasal dari kombinasi antara kedua jalur biosintesis ini, yaitu senyawa flavonoid (Kristanti *et al.*, 2008).



Gambar 3. Struktur asam fenolik: kiri, asam benzoat; kanan, asam sinamat (Tsao, 2010)

Senyawa fenolik memiliki peranan antibakteri yakni merusak integritas membran biologis bakteri target, sehingga hal ini mempengaruhi fungsi dan peranan penghalang selektif dari membran tersebut serta mempengaruhi matriks enzimatik dari bakteri (Sholichah *et al.*, 2019).

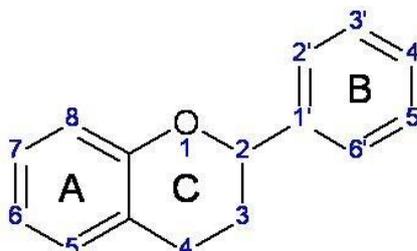
Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa fenolik kemungkinan disebabkan oleh penghilangan besi atau ikatan hidrogen terhadap protein yang vital. Turunan senyawa fenol akan berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar yang rendah, senyawa fenol terhadap bakteri akan membentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian. kemudian diikuti dengan penetrasi senyawa fenol kedalam sel bakteri dan menyebabkan percepatan denaturasi maupun denaturasi protein. Pada kadar yang tinggi, senyawa fenol akan menimbulkan koagulasi protein serta menyebabkan lisisnya sel membran. Protein yang mengalami koagulasi tidak akan berfungsi dengan semestinya sehingga menyebabkan terganggunya pembentukan dinding sel bakteri. Dengan terhambatnya proses pembentukan dinding sel bakteri maka dinding sel dapat melemah ataupun mengalami lisis, sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri (Rasidah *et al.*, 2019).

2.3.3 Senyawa Flavonoid

Flavonoid (Gambar 4) adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti *et al.*, 2008).

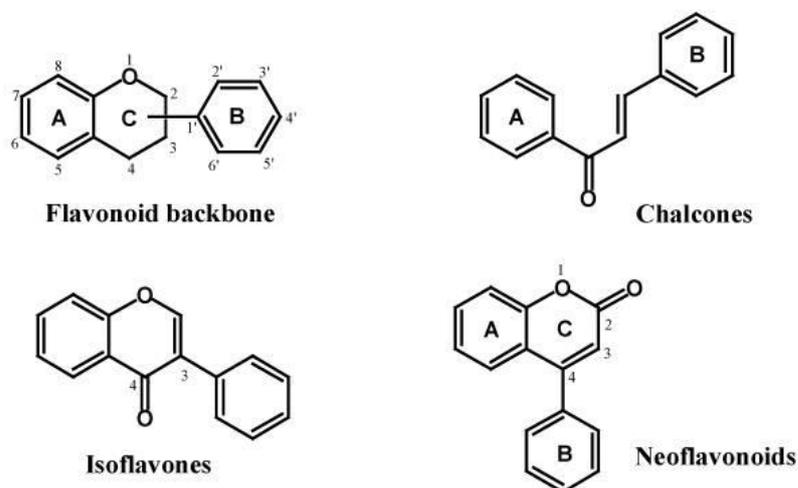
Senyawa-senyawa golongan flavonoid merupakan zat warna merah, ungu, biru dan berbagai zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi penyerangnya (Kristanti *et al.*, 2008).

Telah banyak flavonoid (Gambar 5) yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Penelitian masih terus dilakukan untuk mengetahui berbagai manfaat yang bisa diperoleh dari senyawa flavonoid. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan C₆-C₃-C₆ (Kristanti *et al.*, 2008).



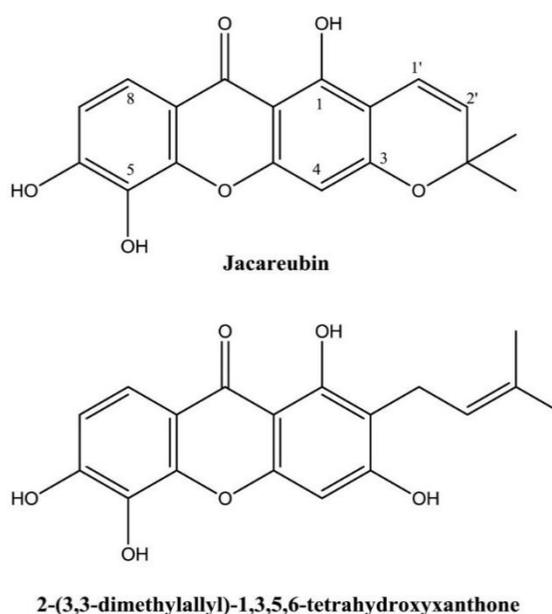
Gambar 4. Struktur dasar senyawa flavonoid (Bojić *et al.*, 2011)

Beberapa mekanisme aksi antibiotik dalam menghambat pertumbuhan mikroba adalah dengan menghambat sintesis dinding sel, merusak membran plasma, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat, serta menghambat sintesis metabolit yang esensial bagi mikroba. Diantara berbagai mekanisme tersebut, senyawa flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, serta menghambat metabolisme energi. Sebagai suatu kelompok senyawa aromatik terbesar, flavonoid juga termasuk dalam golongan senyawa polifenol (Rasidah *et al.*, 2019).



Gambar 5. Struktur dasar senyawa flavonoid beserta beberapa sub-grup dalam Senyawa Flavonoid (Tsao, 2010)

Xanthone (Gambar 6) merupakan salah satu senyawa yang tergolong kedalam kelompok senyawa flavonoid, yang juga terdapat pada tanaman sambiloto. Salah satu kemungkinan besar mekanisme antibakteri turunan xanthone terhadap bakteri adalah dengan menargetkan membran sitoplasma bakteri. Senyawa turunan xanthone tersebut diantaranya adalah α -mangostin menginduksi potensi disipasi membran lebih cepat dalam dua kali Konsentrasi Hambat Minimum (MIC), sementara senyawa turunan xanthone amfifilik dapat mengganggu membran bakteri melalui mekanisme yang disebut model aktivitas antarmuka (*Interfacial activity model*) (Miladiyah & Rachmawaty, 2017).



Gambar 6. Struktur kimia xanthone: jacareubin dan 2-(3,3-dimethylallyl)-1,3,5,6-tetrahydroxyxanthone (Blanco-Ayala *et al.*, 2013)

Model aktivitas antarmuka berkontribusi dalam pengembangan agen antibakteri AMP baru, terutama untuk bakteri yang telah resisten. Kebanyakan AMP bekerja dengan cara merusak membran sel bakteri sehingga bakteri lebih rentan terhadap agen antibakteri. Untuk itu pemanfaatan xanthone dikombinasikan dengan antibakteri lain yang telah terbukti efektif melawan MRSA dan bersifat sinergis (Miladiyah & Rachmawaty, 2017).

Xanthone diduga bekerja sebagai anti-MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) dengan menginduksi pelepasan *Lipoteichoic Acid* (LTA) yang terdapat pada dinding sel bakteri MRSA. LTA merupakan senyawa utama pada dinding sel bakteri Gram positif yang berikatan secara konvalen dengan

bagian luar peptidoglikan bakteri MRSA yang berperan penting dalam perlindungan sel bakteri. Kerusakan LTA pada membran sel MRSA akan menyebabkan kerja agen antibakteri semakin mudah dalam membasmi bakteri target. Kemampuan xanthone sebagai antioksidan juga diduga berperan dalam melawan MRSA. Suatu senyawa antioksidan memiliki kemampuan dalam berinteraksi dengan membran sel mikroba target yakni berikatan dengan protein ekstraseluler, protein terlarut, dan dinding sel bakteri (Miladiyah & Rachmawaty, 2017).

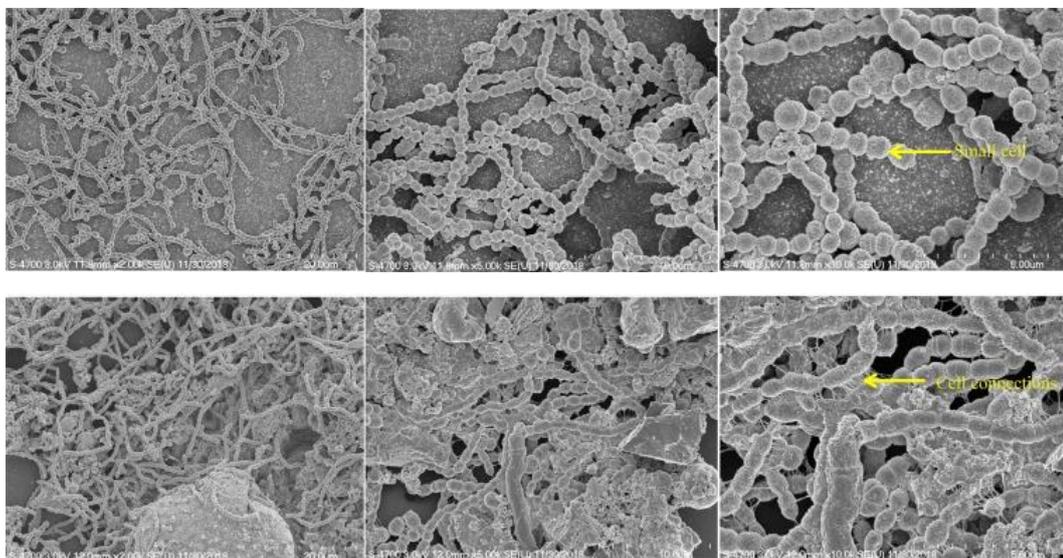
2.4 Tinjauan Umum Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Strain *Streptococcus* berbentuk bulat atau ovoid dengan diameter kurang dari 2 μm , tersusun dalam bentuk rantai atau berpasangan. Pembentukan rantai pada bakteri *Streptococcus* biasanya paling baik terlihat pada biakan cair. *Streptococcus* merupakan kelompok bakteri Gram positif yang selnya bersifat nonmotil dan tidak membentuk endospora. Hampir semua spesies *Streptococcus* bersifat anaerob fakultatif, beberapa spesies diantaranya membutuhkan CO_2 tambahan untuk pertumbuhan. Karakteristik utama komposisi dinding sel bakteri Gram positif terletak pada peptidoglikannya yang tersusun atas berbagai karbohidrat, asam teikoat, dan antigen protein permukaan. Suhu optimum pertumbuhan *Streptococcus* biasanya sekitar 37°C , namun suhu maksimum dan minimum bervariasi antar spesies. Beberapa kelompok bakteri *Streptococcus* ada yang bersifat komensal maupun parasit baik pada manusia maupun hewan, bahkan ada beberapa yang bersifat patogen. *Streptococcus* memiliki sifat fakultatif anaerobik yang membutuhkan penambahan 5% CO_2 pada atmosfer untuk pertumbuhannya. Bakteri kelompok *Streptococcus* secara khas rentan terhadap vankomisin (Bergey, 1984).

Posisi filogenetik berdasarkan analisis urutan gen 16S rRNA, genus *Streptococcus* tergolong ke dalam cabang G+C (Clostridium–Bacillus) rendah (<50 mol%) dari eubacteria Gram-positif dan merupakan anggota (jenis genus) dari famili *Streptococcaceae*. Setelah revisi taksonomi yang luas dari *Streptococcus*, genus saat ini terdiri dari lebih dari 50 spesies yang diakui yang, sebagian besar, termasuk dalam "kelompok spesies" bernama "Pyogenic", "Bovis", "Mutans", "Mitis", "Anginosus", dan "Salivarius" (Bergey, 1984).

Streptococcus pneumoniae memiliki sel berbentuk oval atau bulat (kokus), dengan diameter berkisar 0,5-1,25 μm (Gambar 7). Bakteri ini ditemukan berpasangan atau dalam rantai pendek, serta memiliki kapsul yang tersusun atas polisakarida. Pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae* yang berkelanjutan dalam sebuah media di laboratorium akan mendorong pembentukan rantai. Reaksi Gram positif dari sel-sel muda pada bakteri ini dapat hilang seiring dengan bertambahnya usia kultur (Bergey, 1984).

Kingdom	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classis	Bacilli
Ordo	Lactobacillales
Familia	Streptococcaceae
Genus	<i>Streptococcus</i>
Spesies	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (Bergey, 1984)



Gambar 7. Bentuk Sel *Streptococcus pneumoniae* (Yadav et al., 2020)

Jenis peptidoglikan yang menyusun dinding sel pada bakteri ini adalah Lys-Ala2 (Ser). Unsur utama dari polisakarida dinding sel *Streptococcus pneumoniae* antara lain glukosa, N-asetilgalaktosamin, dan ribitol dengan sejumlah kecil galaktosa. Beberapa faktor virulensi yang paling banyak ditemukan pada *S. pneumoniae* adalah pada permukaan selnya, yang berkontribusi terhadap patogenisitas *S. pneumoniae*. Faktor-faktor yang terdapat pada permukaan sel tersebut yang membantu *S. pneumoniae* dapat bertahan dari sistem kekebalan

inang, juga terjadinya peradangan akibat infeksi. Kapsul pada *S. pneumoniae* juga dianggap berperan penting terhadap virulensi bakteri ini serta berfungsi untuk melindungi bakteri dari fagositosis. Telah diketahui bahwa strain yang telah mengalami enkapsulasi ditemukan setidaknya lima kali lebih ganas dari pada strain yang belum mengalami enkapsulasi (Bergey, 1984).

Infeksi *S. pneumoniae* pada manusia sangat beragam, diantaranya termasuk pneumonia, meningitis, otitis media, dan pada beberapa kondisi tertentu seperti abses, konjungtivitis, perikarditis, dan radang sendi. Pada hewan seperti sapi, domba dan kambing, *S. pneumoniae* terkadang dapat menyebabkan mastitis dan septikemia, sedangkan pada hewan seperti monyet dapat menyebabkan infeksi saluran pernafasan. Habitat normal *S. pneumoniae* pada manusia adalah pada nasofaring dengan perkiraan sebanyak 60% dari populasi koloni (Bergey, 1984).

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri Gram positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit, diantaranya adalah otitis media, pneumonia, meningitis dan septikemia. *S. pneumoniae* terdiri atas tiga struktur yang melindungi integritas selnya dari lingkungan luar. Struktur internal terdalam yang menyusun struktur tersebut adalah membran plasma yang tersusun atas fosfolipid bilayer, dan mengandung gliserolipid dengan dua rantai asam lemak. Struktur kedua yang menunjang sel *S. pneumoniae* adalah dinding sel yang diperkirakan dapat memiliki ketebalan 20 sampai 80 nm dan tersusun atas peptidoglikan ((*N-acetyl glucosamine* dan *N-acetyl muramic acid*) serta *lipoteichoic acid*. Lapisan paling luar yang melindungi sel *S. pneumoniae* adalah kapsul yang tersusun atas sekitar enam lapisan polisakarida (Ortiz-Benítez *et al.*, 2019).

Penyusun utama dinding sel bakteri adalah peptidoglikan, atau disebut juga murein. Peptidoglikan merupakan unit linier berulang yang tersusun atas N-asetilglukosamin (NAG) dan asam N-asetilmuramat (NAM). Kedua disakarida tersebut berikatan silang melalui rantai asam amino pentapeptida fleksibel yang membentuk kerangka seperti jaring. Ketebalan lapisan peptidoglikan yang merupakan lapisan pembungkus membran sitoplasma ini merupakan letak pembeda antara bakteri Gram-positif dengan bakteri Gram-negatif. Bakteri Gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis (hanya beberapa nanometer), sementara bakteri Gram-positif memiliki lapisan peptidoglikan dengan ketebalan antara 30 dan 100 nm atau bahkan lebih. Ciri khas dari bakteri Gram-negatif adalah terdapatnya dua membran yakni membran sitoplasma dan membran luar,

yang mana diantara kedua membran ini terdapat ruang yang disebut periplasma. Ruang periplasma pada bakteri Gram-negatif ini merupakan tempat ditemukannya lapisan peptidoglikan yang tipis. Sementara ciri utama dari bakteri Gram-positif adalah lapisan peptidoglikannya yang tebal serta tidak memiliki membran luar. Bakteri Gram-positif juga memiliki dinding sel yang tersusun atas asam *lipoteichoic* dan asam *teichoic* (Rohde, 2019).

Beberapa antibiotik yang biasa digunakan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh *S. pneumoniae*, antara lain penicillin, clindamycin, rifampicin, vancomycin and trimethoprim–sulfamethoxazole, yang dapat mempengaruhi struktur bakteri *S. pneumoniae* pada tahap yang berbeda. Sebagai contoh, antibiotik β -lactam dapat mengganggu pembentukan peptidoglikan yang merupakan penyusun dinding sel bakteri. Juga makrolida (sejenis antibiotik) yang mampu menghambat sintesis protein pada bakteri dengan cara berikatan dengan subunit 50S ribosom serta mengganggu perpanjangan protein dengan cara memisahkan peptidyl-tRNA. Meskipun setelah sekian lama beberapa antibiotik telah menunjukkan efisiensi yang besar, namun karena penggunaannya yang berlebihan ditambah lagi dengan skema pengobatan yang tidak lengkap telah menyebabkan munculnya resistensi dan toleran strain *S. pneumoniae* terhadap antibiotik (Ortiz-Benítez *et al.*, 2019).

Streptococcus pneumoniae merupakan agen penyebab utama dari penyakit invasif dan infeksi saluran pernafasan seperti meningitis, sepsis, dan pneumonia, terutama terhadap kelompok beresiko seperti anak-anak, dewasa, orang lanjut usia, maupun pasien *immunocompromised*. Penggunaan antibiotik telah menjadi metode utama untuk melawan infeksi *pneumococcal*, namun bagaimanapun juga resistensi antimikroba telah menjadi umum. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa 80% hasil isolasi klinik *S. pneumoniae* tidak rentan terhadap makrolida (Sasagawa *et al.*, 2021).

Pneumococcus telah diklasifikasikan menjadi salah satu dari sembilan bakteri yang menjadi perhatian dunia internasional, berdasarkan laporan terbaru dari *World Health Organization* (WHO) yang telah dipublikasi di tahun 2014 (Alqahtani *et al.*, 2021). Perawatan utama bagi pasien yang terinfeksi *S. pneumoniae* adalah pengobatan dengan antibiotik penisilin, cephalosporin, makrolida, serta quinolones (Kang *et al.*, 2021). Angka resistensi *S. pneumoniae* terhadap antibiotik penisilin telah mengalami peningkatan sebanyak 25% di Eropa serta telah menghalangi keefektifan pengobatan antibiotik (Lindhauer *et al.*, 2019).

Pore-forming toxins (PFTs) adalah sejenis toksin. Toksin tersebut dihasilkan oleh bakteri, yang dapat bekerja pada membran plasma sel eukariotik untuk membentuk struktur pori pada membran sel, sehingga dapat mengganggu konsentrasi cairan baik di dalam maupun di luar sel dan menyebabkan pembengkakan dan lisis sel. Sejenis toksin juga disekresikan oleh *S. pneumoniae* dan merupakan protein multifungsi yang terdiri dari 471 asam amino dengan berat molekul 53 kDa, toksin tersebut adalah Pneumolysin (PLY). PLY dalam sitoplasma bakteri tidak dapat secara langsung disekresikan ke dalam ruang ekstra seluler selama pembentukan infeksi *S. pneumoniae*. PLY hanya dapat dilepaskan secara ekstraseluler untuk menggerakkan aktivitas pembentukan porinya setelah lisis dinding sel baik oleh autolisin, tindakan antibiotik, maupun respon imun yang dimediasi host (Xu *et al.*, 2020).

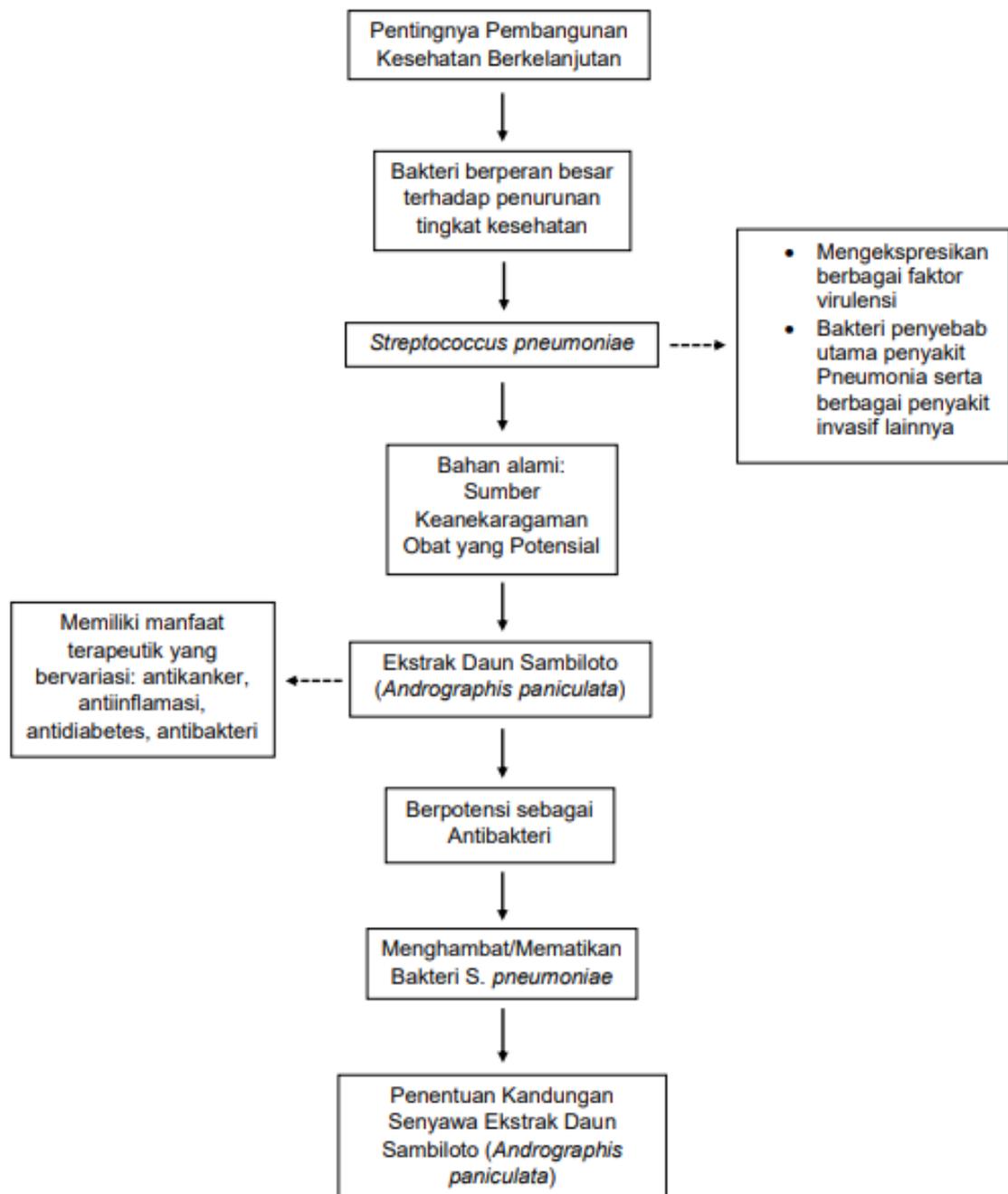
Selanjutnya, 34-50 molekul monomer PLY dapat membentuk kompleks pori anterior oligomerisasi dan mengikat kolesterol membran untuk membentuk pori transmembran berbentuk barel dengan diameter sekitar 25 nm, sehingga memecah sel. Selain itu, pelepasan PLY juga dapat memfasilitasi penghindaran *S. pneumoniae* dari pertahanan host dan memicu cedera paru akut dan fibrosis paru melalui sitotoksitas langsung dan efek proinflamasi tidak langsung. Produksi PLY juga dapat meningkatkan terjadinya jantung akut dan risiko otitis media, meningitis, dan bahkan kematian. PLY merupakan peran kunci dalam *pathogenesis* kerusakan dan disfungsi organ yang disebabkan oleh penyakit invasif bakteri *S. pneumoniae*, sebaliknya hilangnya PLY dapat secara signifikan mengurangi jumlah *S. pneumoniae* pada tubuh manusia (Xu *et al.*, 2020).

2.5 Kerangka Pemikiran

Pembangunan Kesehatan adalah upaya yang dilakukan untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat. Namun beberapa hal dapat mengganggu penerapan tersebut sehingga menyebabkan terjadinya penurunan tingkat kesehatan, diantaranya adalah peran bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Bakteri *S. pneumoniae* merupakan bakteri penyebab utama penyakit pneumonia, meningitis serta penyakit invasif lainnya. Hal ini disebabkan karena *S. pneumoniae* adalah salah satu bakteri yang mengekspresikan berbagai faktor virulensi.

Bahan alam merupakan sumber produk obat yang potensial, salah satunya adalah tanaman sambiloto yang dikenal memiliki banyak manfaat, salah satunya

sebagai antibakteri. Beberapa studi mengungkapkan bahwa fitokimia pada tumbuhan ini ditemukan lebih tinggi pada bagian daun jika dibandingkan dengan bagian lainnya (Tajidin *et al.*, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis bagaimana potensi antibakteri ekstrak daun sambiloto terhadap bakteri *S. pneumoniae* beserta senyawa apa saja yang dikandung ekstrak daun sambiloto yang memiliki potensi antibakteri. Untuk membuktikan potensi antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun sambiloto maka dilakukan uji sensitivitas antibakteri dengan metode difusi agar kemudian dilanjutkan dengan uji dilusi cair untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Adapun untuk mengetahui senyawa fitokimia apa saja yang terdapat pada ekstrak daun sambiloto yang berpotensi sebagai antibakteri maka dilakukan analisis kromatografi lapis tipis bioautografi (KLT Bioautografi). Untuk menentukan kandungan senyawa maka dilanjutkan dengan analisis menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS). Diagram kerangka pikir antara lain pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram kerangka pikir