

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)  
TERHADAP BAKTERI PATOGEN RESISTEN  
ANTIBIOTIK**

**CAHYANI PURNASARI  
N111 09 102**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)  
TERHADAP BAKTERI PATOGEN RESISTEN  
ANTIBIOTIK**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**



**CAHYANI PURNASARI  
N111 09 102**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

**PERSETUJUAN**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera* Lam.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
RESISTEN ANTIBIOTIK**

**CAHYANI PURNASARI**

**N111 09 102**



**Disetujui oleh:**

**Pembimbing Utama**

**Pembimbing Pertama**

Dr. Herlina Rante, M.Si, Apt  
NIP19771125 200212 2 003

Drs,H Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt  
NIP. . 19480727 197903 1 001

**Pada tanggal, Desember 2013**

**PENGESAHAN**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera* Lam.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
RESISTEN ANTIBIOTIK**

Oleh :

**CAHYANI PURNASARI  
N111 09 102**

**Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal : Oktober 2013**

Panitia Penguji Skripsi :

1. Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. ( Ketua ) : .....
2. Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt. ( Sekretaris ) : .....
3. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. ( Ex officio ) : .....
4. Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt. ( Ex officio ) : .....
5. Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt. ( Anggota ) : .....

Mengetahui :

**Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt.  
NIP. 19560114 198601 2 001**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam 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 bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Desember 2013

Penyusun

Cahyani Purnasari

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas nikmat, berkat dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak rintangan dan hambatan yang dihadapi, namun dengan doa dan bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, dengan ini penulis mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan kepada ayahanda Anwar Gemar dan ibunda Andi Punsu yang telah banyak memberikan dukungan baik moril maupun materil, di dalam doa yang senantiasa dipanjatkan sebagai pemacu penulis dalam menghadapi tantangan maupun rintangan selama ananda menjalani dunia perkuliahan. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada adik-adik tercinta: Aeni, Indriani, Afriani dan Deltanto dan untuk seluruh sanak famili yang selalu memberikan curahan kasih sayang yang sebesar-besarnya dan tak henti-henti memberikan semangat dan dukungan.

Tiada kata yang dapat penulis ucapkan selain terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama, Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama dan Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt.

selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberi petunjuk, membagi ilmu dan menyumbangkan ide-ide dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

Pada kesempatan kali ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt. selaku Wakil Dekan I, Prof. Dr. Rer-nat. Hj. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Wakil Dekan II, dan Drs.Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan III.
3. Alm. Bapak Drs. Kus Haryono, MS., Apt. dan Ibu Dr. Risfah Yulianti, M.Si., Apt. yang telah membimbing penulis sebagai penasehat akademik selama menuntut ilmu di Fakultas Farmasi Unhas.
4. Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt., Dr. Hj. Sartini, M.Si., Apt., dan Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt. selaku penguji penulis
5. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini
6. Teman-teman Ginkgo 09, khususnya, Sitti Inayyah Arista, Sri Hartini Syam, Sallmia, Subaedah Bahri, Merliana Mansyur, Hijrah Al Kautsar, Asmira Azisa Nur, lin Pakata, dan Suhariani La Suda.

7. Teman seperjuangan dalam penelitian Sulfiyana H.Ambo Lau, Sri Hardiyanti, dan Sitti Nurhalisah.
8. Kak Haslia S.Si, selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin
9. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan namanya atas bantuan dan kerjasamanya kepada penulis selama penelitian dan menjalani penelitian.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Maka dari itu saran dan kritik membangun sangat penulis harapkan guna tambahan wawasan agar dalam pengerjaan penelitian selanjutnya dapat lebih baik.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Farmasi, amin.

Makassar, Desember 2013

Cahyani Purnasari



## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antimikroba dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan metode difusi agar yang dilanjutkan dengan KLT-bioautografi. Daun kelor dimaserasi menggunakan etanol 70% lalu dibuat menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 50 mg/mL, 100 mg/mL, 150 mg/mL dan 200 mg/mL. Uji aktivitas antimikroba keempat ekstrak menggunakan metode difusi agar pada medium *Mueller Hinton Agar* dengan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap kedua bakteri uji. Ekstrak daun kelor mulai aktif menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 100 mg/mL, dengan diameter zona hambat 6,80 mm. Sedangkan untuk *E. coli*, ekstrak etanol daun kelor aktif pada konsentrasi 50 mg/mL, dengan diameter zona hambat 9,20 mm. Hasil uji KLT-Bioautografi dari ekstrak etanol daun kelor terhadap *E. coli* dan *S. aureus* memperlihatkan adanya noda yang aktif. Hasil identifikasi dengan KLT menunjukkan ekstrak etanol daun kelor diduga mengandung senyawa aktif golongan alkaloid, steroid, terpen, fenolik, dan flavanoid, dan noda yang aktif terhadap bakteri uji diduga mengandung senyawa golongan terpenoid.

## ABSTRACT

A research on the antimicrobial activity assay of leaf extracts of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) by disk diffusion method then continued by TLC-bioautography has been done. Moringa leaves macerated using 70% ethanol and then made into a concentration, ie 50 mg / mL, 100 mg / mL, 150 mg / mL and 200 mg / mL. The antimicrobial activity test of four extracts concentrations using agar diffusion method on Mueller Hinton Agar medium with bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* which was resistant to antibiotics. The antimicrobial activity test of Moringa extracts results showed antimicrobial activity against both test bacteria. Moringa leaf extract began to actively inhibit the growth of *S. aureus* at a concentration of 100 mg / mL, with the inhibition zone diameter of 6.80 mm. Whereas for *E. coli*, Moringa leaf ethanol extract activated at a concentration of 50 mg / mL, the inhibition zone diameter of 9.20 mm. TLC-Bioautografi test results of Moringa leaf ethanol extract against *E. coli* and *S. aureus* showed an active streaks. Results of identification by TLC showed the ethanol extract of Moringa leaves contain compounds suspected active group alkaloids, steroids, terpenes, phenolics, and flavonoids, and stains that are active against bacteria test groups thought to contain terpenoid compounds.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUTAN .....	i
HALAMAN PENUNJUK .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT .....	x
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Tinjauan umum tentang tanaman Kelor .....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman .....	4
II.1.2 Karakteristik Tanaman .....	4
II.1.3 Kandungan Kimia .....	5
II.2 Metode Penyarian .....	6
II.3 Metode KLT-Bioautografi .....	8

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	8
II.3.2 Bioautografi .....	9
II.4 Antimikroba dan Resistensi Antibiotika .....	10
II.4.1 Antimikroba .....	10
II.4.2 Resistensi Antibiotika .....	12
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	15
III.2 Pengelolaan Sampel .....	15
III.2.1 Pengambilan Sampel .....	15
III.2.2 Ekstraksi Sampel.....	16
III.3 Uji Daya Anti Bakteri .....	16
III.3.1 Sterilisasi Alat.....	16
III.3.2 Penyiapan Mikroba Uji .....	16
III.3.3 Penyiapan Uji Aktivitas Antibakteri.....	17
III.3.4 Uji Aktivitas Antimikroba.....	17
III.3.5 Uji KLT-Bioautografi .....	18
III.3.6 Identifikasi Komponen Kimia .....	19
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
IV.1 Hasil Penelitian .....	21
IV.1.1 Ekstraksi .....	21
IV.1.2 Uji Aktivitas Antimikroba .....	22
IV.1.3 Uji KLT-Bioautografi.....	23
IV.1.4 Identifikasi Komponen Kimia.....	24

IV.2 Pembahasan.....	24
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	29
V.1 Kesimpulan .....	29
V.2 Saran .....	29
DAFTAR PUSTAKA .....	30
Lampiran .....	32

## DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	22
2. Hasil uji identifikasi komponen kimia ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	24

## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Kromatogram lapis tipis ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	21
2. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap bakteri pathogen resisten antibiotik .....	22
3. Hasil KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap bakteri pathogen resisten antibiotik .....	23
4. Histogram pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap bakteri pathogen resisten antibiotik .....	26
5. Foto tanaman kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	34
6. Foto sampel daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) .....	34
7. Ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) .....	35
8. Kromatogram lapis tipis Ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	35
9. Hasil uji reaksi Salkowski dari Ekstrak etanol daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Skema kerja .....	32
2. Gambar hasil penelitian .....	34
3. Komposisi reagen.....	37
4. Bukti Hasil Pemeriksaan Bakteriologi .....	39



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Antibiotik dan obat-obat kemoterapi telah berhasil dalam mengendalikan banyak infeksi, tetapi penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan tidak sesuai akan menghasilkan mikroorganisme yang resisten dan meningkatkan prevalensi mikroba patogen resisten-antibiotik. Hal ini mengakibatkan masalah resistensi antibakteri menjadi masalah global (1, 2, 3).

Resistensi bakteri terhadap agen antimikroba dianggap sebagai akibat dari tiga mekanisme umum; 1) obat tidak mencapai targetnya, 2) obat menjadi tidak aktif, atau 3) target telah berubah. Salah satu mekanisme dari resistensi, inaktivasi obat yang dilakukan bakteri resisten, seperti resistensi bakteri terhadap aminoglikosida dan antibiotik  $\beta$ -laktam (4,5).

Strategi untuk memperbaiki situasi saat ini meliputi penelitian dalam menemukan antibakteri baru dan inovatif. Tes farmakologis atau biologis telah dilakukan kepada sekitar 20% dari tanaman yang ditemukan di dunia, dan sejumlah besar antibiotik baru yang diperkenalkan di pasaran diperoleh dari bahan alam atau semi-sintetik. Di negara-negara berkembang, karena biaya yang efisien, sebagian besar penduduk memanfaatkan tanaman obat untuk pengobatan penyakit menular (1).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) suku Moringaceae telah menjadi objek banyak penelitian karena berbagai kegunaannya dan terkenal dengan potensi bakterisida. Menurut Bezerra *et al.*, pohon kelor merupakan tanaman asli dari daerah Timur Laut India. Tanaman ini kaya akan nutrisi dan, terlepas dari berbagai aplikasi industri dan obat, digunakan untuk memurnikan air untuk konsumsi manusia. Menurut Makkar dan Becker, kelor penting dalam perekonomian dengan memproduksi beberapa komoditas, seperti minyak, makanan, bumbu, dan obat. Pohon kelor tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Daun kelor dapat menjadi sumber vitamin dan mineral yang baik seperti provitamin A, vitamin B, dan vitamin C, serta unsur makro dan mikro yang memadai, serta asam amino (6,7).

Berbagai bagian dari tanaman ini seperti daun, akar, biji, kulit batang, buah, bunga dan biji yang muda memiliki khasiat sebagai stimulan jantung dan sirkulasi, antitumor, antipiretik, antiepileptik, antiinflamasi, antiulcer, antispasmodik, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, antidiabetik, hepatoprotektif, antibakteri dan antifungi. Pada akhir tahun 1940-an dan awal tahun 1950-an ditemukan sebuah senyawa yang disebut pterigospermin, suatu senyawa yang dilaporkan siap dipisahkan menjadi dua molekul benzil isotiosianat yang memiliki sifat antimikroba. Selain pterigospermin, ditemukan pula senyawa 4 ( $\alpha$ -L-rhamnopyranosiloksi) benzil-isotiosiat dan 4 ( $\alpha$ -L-rhamnosiloksi) benzil-isotiosiat. Peptida tersebut dikatakan dapat bertindak langsung pada

mikroorganisme dan mengakibatkan penghambatan pertumbuhan dengan mengganggu sintesis membran sel atau sintesis enzim esensial (8,9,10,11).

Penelitian yang dilakukan oleh Oluduro (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor mampu menghambat beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus* sp, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus mirabilis*, dan jamur *Aspergillus flavus*. Namun belum dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kelor terhadap bakteri yang resisten terhadap antibiotik, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap efek antibakteri ekstrak daun kelor terhadap bakteri yang telah mengalami resistensi.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun kelor dalam menghambat atau membunuh bakteri yang telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik.

Maksud penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun kelor terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang resisten antibiotik.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol dalam menghambat pertumbuhan bakteri resisten antibiotik dan golongan senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Tinjauan umum tentang tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)**

##### **II.1.1 Klasifikasi tanaman (12)**

Kerajaan	: Plantae
Anak-Kerajaan	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Eudicots
Anak kelas	: Rosidsae
Bangsa	: Brassicales
Suku	: Moringaceae
Marga	: Moringa
Jenis	: <i>M. oleifera</i> Lam.

##### **II.1.2 Karakteristik tanaman**

Pohon kelor dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis lembab atau lahan kering panas dengan ketinggian rata-rata yang berkisar dari 5 sampai 10 m. Tanaman ini dapat bertahan hidup dalam kondisi iklim yang keras termasuk tanah miskin tanpa banyak dipengaruhi oleh kekeringan. Pohon kelor dapat menoleransi curah hujan diperkirakan dari 250 mm dan maksimum pada lebih dari 3000 mm dan pH 5,0-9,0 (13).

Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama, antara lain horseradish tree, drumstick tree, benzolive tree, marango, mlonge, moonga, mulangay, nébéday, saijhan, sajna atau Ben oil tree (10).

Kelor memiliki batang lembut, putih seperti gabus dan cabang-cabangnya bergetah. Setiap daun majemuk memiliki beberapa kaki daun. Bunganya berwarna putih dan bijinya memiliki tiga sayap dan disebarkan oleh angin. Bunga, daun yang lembut, dan buahnya dimakan sebagai sayur (13).

### **II.1.3 Kandungan Kimia**

Sebuah pengujian terhadap kandungan fitokimia dari spesies *Moringa* memberikan kesempatan untuk menguji beberapa komponen yang unik. Pada umumnya, keluarga tanaman ini kaya akan kelompok senyawa unik yang disebut glukosinolat dan isotiosianat. Sebagai contoh, komponen spesifik dari preparat *Moringa* yang telah dilaporkan memiliki efek hipotensif, antikanker, dan antibakteri termasuk 4-(4'-O-asetil- $\alpha$ -L-ramnopiranosiloksi) benzil isotiosianat, 4-( $\alpha$ -L-ramnopiranosiloksi) benzil isotiosianat, niazimisin, pterigospermin, benzil isotiosianat, dan 4-( $\alpha$ -L-ramnopiranosiloksi) benzil glukosinolat(10).

Akar *M. oleifera* mengandung konsentrasi tinggi dari 4-( $\alpha$ -L-ramnopiranosiloksi) benzil glukosinolat dan benzil glukosinolat. Batangnya mengandung 4-hidroksimelein, vanillin,  $\beta$ -sitosteron, asam oktakosanat dan  $\beta$ -sitosterol dan kulit batangnya mengandung 4-( $\alpha$ -L-ramnopiranosiloksi)-benzilglukosinolat. Eksudat getah dari tanaman kelor

yang dimurnikan mengandung L-arabinose, D-galaktosa, asam D-glukuronat, L-rhamnosa, D-mannosa, dan D-xilosa (14).

Analisis bioassay dari ekstrak etanol daunnya menunjukkan keberadaan dua glikosida nitril, niazirin dan niazirin dan tiga glikosida minyak mustard, 4-(4'-O-asetil- $\alpha$ -L-ramnosiloksi) benzil isotiosianat, niaziminin A dan B.  $\alpha$ -L-ramnosida dari senyawa 4-hidroksi-benzil dengan nitril, karbamat, dan kelompok tiokarbamat muncul dalam ekstrak daun. *M.oleifera* dianalisis untuk kandungan glukosinolat dan fenoliknya (flavonoid, antosianin, proantosianidin dan sinamat). Daunnya mengandung 4-( $\alpha$ -L-ramnopiranosiloksi)-benzil glukosinolat dan tiga isomer monoasetil dari glukosinolat ini. Daun kelor juga mengandung quercetin-3-O-glukosida dan quercetin-3-O-(6''-malonil-glukosida), dan sejumlah kecil kaempferol-3-O-glukosida dan kaempferol-3-O-(6''-malonil-glukosida), juga asam 3-caffeoylkuinat dan 5-caffeoylkuinat (14).

Selain senyawa-senyawa tersebut, keluarga Moringa juga kaya akan vitamin dan mineral seperti senyawa fitokimia yang lebih dikenal seperti karotenoid, termasuk  $\beta$ -karoten (10).

## **II.2 Metode Penyarian**

Ekstraksi, istilah yang digunakan secara farmasetik, melibatkan pemisahan dari bagian yang aktif secara medisinal dari jaringan tumbuhan atau hewan dari bagian yang tidak aktif atau inert dengan menggunakan pelarut yang selektif dari prosedur ekstraksi standar. Produk yang didapatkan dari tanaman relatif merupakan cairan tidak murni, semisolid

atau serbuk yang dimaksudkan untuk penggunaan oral atau eksternal. Kelas-kelas dari preparasi ini dikenal dengan nama dekok, infus, ekstrak cairan, tinktur, ekstrak pilular (semisolid), dan ekstrak yang diserbuk. Preparat tersebut dikenal dengan galenikal, dinamakan sesuai Galen, ilmuwan Yunani dari abad kedua (15).

Metode ekstraksi yang sering dilakukan untuk menemukan senyawa dari bahan alam antara lain: ekstraksi sokhlet, desorpsi termal, maserasi, infus, ekstraksi dimediasi surfaktan, ekstraksi pelarut dipercepat, ekstraksi cairan bertekanan, destilasi uap, perkolasi, dekok, dan enfleurage (16).

Prinsip dari ekstraksi solid-liquid adalah saat material padat bertemu dengan pelarut, komponen yang dapat dilarutkan dalam material padat berpindah ke pelarut. Ekstraksi pelarut dari material tumbuhan menghasilkan perpindahan massa dari bahan aktif yang larut ke pelarut, dan hal ini berlangsung dalam sebuah gradient konsentrasi. Kecepatan dari perpindahan massa menurun sesuai dengan peningkatan konsentrasi bahan aktif dalam pelarut, hingga kesetimbangan dicapai yaitu saat konsentrasi dalam material padat dan pelarut sama. Hingga akhirnya tak ada lagi perpindahan massa bahan aktif dari material tumbuhan ke dalam pelarut. Karena perpindahan massa bahan aktif juga tergantung dari kelarutannya dalam pelarut, pemanasan pelarut dapat meningkatkan perpindahan massa. Selain itu, jika pelarut dalam kesetimbangan dengan material tumbuhan digantikan dengan pelarut yang segar, gradient konsentrasi dapat berubah (15).

Dalam metode ekstraksi maserasi, seluruh bagian bahan mentah obat atau yang diserbukkan secara kasar ditempatkan dalam wadah tertutup dengan pelarut dan dibiarkan dalam suhu ruangan selama paling sedikit 3 hari dengan pengadukan berkala hingga zat yang larut dapat terlarut sempurna. Campuran ini lalu ditekan, bagian material padat yang basah ditekan, dan kombinasi cairan disaring atau dituang setelah didiamkan (15).

### **II.3 Metode KLT-Bioautografi**

#### **II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*) atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (17).

Beberapa keuntungan KLT, antara lain(17):

- a. KLT lebih mudah dan murah dibandingkan dengan kromatografi kolom.
- b. KLT banyak digunakan untuk tujuan analisis.
- c. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultraviolet.



- d. Dapat dilakukan elusi secara menaik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi dua dimensi.
- e. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.

KLT dapat digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku. Parameter KLT yang digunakan untuk identifikasi adalah nilai  $R_f$ . Dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai  $R_f$  yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama (17).

### **II.3.2 Bioautografi**

Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antimikrobanya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu akan terlihat zona hambatan di sekeliling dari spot KLT yang telah ditempelkan di media agar (18).

Bioautografi dapat dipertimbangkan karena paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba, sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat pula diisolasi langsung dari komponen yang aktif (18).

Biautografi dapat dibagi dalam tiga kelompok, yaitu (18):

1. Bioautografi langsung, yaitu dimana mikroorganismenya tumbuh secara langsung di atas lempeng KLT.
2. Bioautografi kontak, dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung.
3. Biautografi pencelupan, dimana medium agar yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang di atas lempeng KLT.

## **II.4 Antimikroba dan Resistensi Antibiotika**

### **II.4.1 Antimikroba**

Antimikroba merupakan obat yang paling sering digunakan. Obat-obat golongan ini digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan ataupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif, artinya bersifat toksis terhadap mikroorganisme tetapi relatif tidak toksis terhadap inang (19).

Dalam hukum yang ketat, antibiotik adalah substansi antibakterial yang diproduksi oleh berbagai jenis mikroorganisme yang menekan pertumbuhan dari mikroorganisme lain. Penggunaan umum dari kata antibiotik diperluas termasuk untuk antimikroba sintetis seperti sulfonamida dan kuinolon (5).

Agen-agen antimikroba dikelompokkan berdasarkan struktur kimia dan mekanisme aksinya:

1. Menghambat sintesis dinding sel, termasuk golongan  $\beta$ -laktam seperti penisilin, sefalosporin, dan karbapenem, dan agen-agen lain yang berbeda seperti sikloserin, vankomisin, dan basitracin (5).
2. Agen yang bereaksi langsung pada membran sel mikroorganisme, meningkat permeabilitas sehingga mengakibatkan kebocoran dari komponen intraselular, termasuk deterjen seperti polimiksin; agen antifungi polyene, seperti nistatin dan amphotericin B, yang mengikat sterol dinding sel; dan lipopeptida daptomisin (5).
3. Agen-agen yang mengganggu fungsi dari subunit ribosom 30S dan 50S sehingga menghambat sintesis protein secara reversible, umumnya merupakan jenis bakteriostatik. Yang termasuk dalam golongan ini antara lain kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, streptogamin, dan linezolid (5).
4. Agen yang mengikat subunit ribosom 30S dan mengubah sintesis protein, umumnya merupakan bakterisidal, seperti golongan aminoglikosida (5).
5. Agen yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti golongan riramyacin, yang menghambat RNA polimerase, dan kuinolon, yang menghambat topoisomerase (9).
6. Golongan antimetabolit, termasuk trimetoprim dan sulfonamida, yang menghalangi enzim esensial dari metabolisme folat (5).

#### **II.4.2 Resistensi Antibiotika**

Mikroorganisme dapat beradaptasi terhadap tekanan lingkungan dengan berbagai cara, dan respons terhadap antibiotik bukanlah pengecualian. Konsekuensi yang tak dapat dihindari dari penggunaan antibiotik adalah mikroorganisme yang resisten, merupakan contoh yang paling jelas. Penggunaan berlebih dan tidak sesuai dari antibiotik telah menghasilkan peningkatan prevalensi patogen resisten-antibiotik, sehingga beberapa telah berspekulasi bahwa kita telah mendekati akhir dari era antibiotik (3).

Untuk sebuah antibiotik agar dapat bekerja secara efektif, senyawa tersebut harus dapat mencapai targetnya dalam bentuk aktif, mengikat target, dan mengganggu fungsinya. Jadi, resistensi bakteri terhadap agen antimikroba dianggap sebagai akibat dari tiga mekanisme umum: obat tidak mencapai targetnya, obat menjadi tidak aktif, atau target telah berubah (5).

Membran terluar dari bakteri gram negatif merupakan penghalang permeable yang menghalangi molekul polar yang besar untuk memasuki sel. Molekul polar yang kecil, termasuk banyak antibiotik, memasuki sel melalui saluran protein yang disebut porin. Ketiadaan, dalam mutasi, atau kehilangan saluran porin dapat memperlambat kecepatan obat memasuki sel atau mencegah masuk seluruhnya, secara efektif mengurangi konsentrasi obat pada target. Jika target adalah intraselular dan obat membutuhkan transport aktif melewati membran sel, sebuah mutasi atau

perubahan fenotip yang mencegah mekanisme transport ini dapat menimbulkan resistensi. Sebagai contoh, gentamisin, yang targetnya merupakan ribosom, dengan transport aktif melewati membran sel menggunakan energi yang diberikan dari gradient elektrokimia membran. Gradient ini digenerasi oleh enzim respirasi yang memasangkan transport elektron dan fosforilasi oksidatif. Sebuah mutasi dalam enzim pada jalur ini atau kondisi anaerobik (oksigen adalah akseptor elektron terminal dari jalur ini, dan ketiadaannya mengurangi energi potensial membran) memperlambat pemasukan gentamisin ke dalam sel sehingga menyebabkan resistensi. Bakteri juga dapat memiliki pompa yang dapat mentransfer obat keluar dari sel. Resistensi dari berbagai obat, termasuk tetrasiklin, kloramfenikol, florokuinolon, makrolida, dan  $\beta$ -laktam dimediasi oleh mekanisme pompa aliran ke luar ini (5).

Inaktivasi obat merupakan mekanisme kedua yang umum dalam resistensi obat. Resistensi bakteri terhadap aminoglikosida dan antibiotik  $\beta$ -laktam biasanya diakibatkan produksi sebuah enzim pengubah aminoglikosida atau  $\beta$ -laktamase. Variasi dari mekanisme ini adalah kegagalan dari sel bakteri untuk mengaktivasi prodrug. Hal ini merupakan dasar dari jenis resistensi yang paling umum terhadap isoniazid dalam *M. tuberculosis* (5).

Mekanisme resistensi yang paling umum ketiga adalah perubahan target. Hal ini dapat diakibatkan karena target alami, seperti pada resistensi florokuinolon; modifikasi target, seperti pada jenis perlindungan

ribosom dari resistensi makrolida dan tetrasiklin; atau perolehan bentuk resisten dari bawaan, target yang mudah terpengaruh, seperti pada resistensi staphylococcal methicillin yang disebabkan produksi protein pengikat penisilin berafinitas rendah (5).