

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan zat antimikroba digunakan untuk melawan bakteri dan jamur yang dapat menghambat, membasmi, dan menghilangkan mikroorganisme. Tujuan utama pengendalian mikroba adalah untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, memberantas mikroorganisme dalam inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan kehancuran yang disebabkan oleh mikroorganisme (Waluyo, 2004).

Antibiotik adalah pengobatan utama untuk mengobati infeksi. Namun, jika antibiotik digunakan secara tidak tepat, bakteri patogen akan menjadi resisten. Terkait dengan bukti bahwa banyak antibiotik yang resisten: B methisilin-resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang menyebabkan infeksi kulit, infeksi aliran darah, dan pneumonia, dan *Enterococcus* yang resisten terhadap vankomisin (VRE) yang menyebabkan infeksi saluran kemih gonokokus yang resisten terhadap penisilin yang dapat menyebabkan gonore parah. Oleh karena itu, perlu dilakukan eksplorasi sumber antibiotik baru yang dapat menghasilkan efek antimikroba dan dapat digunakan secara lebih efektif, efisien, dan aman untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri. (Maftuhah, 2015).

Tumbuhan merupakan salah-satu penghasil senyawa antimikroba. beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba telah dilaporkan diisolasi dari tanaman seperti kalkon dari daun *Eupatorium odoratum* L. (Hanawati, 2010). Flavon dan kalkon dari daun *Muntingia calabura* L. (Adila S, 2013). 4-terpineol dan α -terpineol dari akar sidaguri (Winarti, 2009). Lupeol dari daun petai cina (Ari S, 2010).

Salah satu tumbuhan obat yang telah digunakan secara turun-temurun adalah daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb Wedd). Daun gatal merupakan remak menahun yang sering dijumpai di beberapa hutan. Daun gatal biasanya hidup di daerah basah dan tempat ini dilaporkan dapat mengobati berbagai macam penyakit (Sugama, 2019).



Secara tradisional, daun gatal telah banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai pengobatan nyeri, kelelahan, kesemutan, sakit kepala, sakit perut, nyeri sendi dan tulang, serta memar. Cara penggunaannya sangat mudah, cukup oleskan daunnya pada bagian tubuh yang sakit. Hal ini menurut pendapat umum, membuat daun terasa gatal sebagai tanda obat tersebut bekerja, namun dapat meredakan nyeri pada area yang dioleskan selama beberapa menit. (Simaremare, 2014).

Beberapa penelitian ilmiah yang telah dilakukan menunjukkan bahwa daun gatal memiliki berbagai aktivitas farmakologi yang menjanjikan. Tumbuhan ini dilaporkan memiliki aktivitas analgesik (Bambungan, 2023), aktivitas anticepek (Simaremare, 2019), aktivitas antifungi (Simaremare, 2019), aktivitas antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri seperti *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypimurium*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Yasni dan Puro, 2012, Simaremare 2017). Namun demikian pengujian masih dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar dan senyawa bioaktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi tersebut belum diketahui.

Selain daun gatal, beberapa penelitian terhadap genus *Laportea* juga telah dilaporkan. Tumbuhan *Laportea crenulata* menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, dan *Rhizopus aurizae* (Khan et.al, 2007). Senyawa 1, 2, 3, 4a, 4b, 5, 6, 6a, 7, 8, 9, 10, 10a, 10b, 11-hexadecahydro-1,1,6a, 10b-tetramethyl-7-(4,7-dimethyloct-5-enyl) christen-2 ol(AC) yang diisolasi dari *Laportea aestuans* juga menghambat pertumbuhan mikroba secara signifikan bila dibandingkan dengan gentamisin dan ticonazole yang masing-masing merupakan standar antibakteri dan antijamur (Oloyede dan Oyelola, 2013).

Pada uji skrining fitokimia, daun gatal mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, glikosida, dan triterpenoid. Pada penelitian (Hajar, 2015) mengandung senyawa tannin dan triterpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan jamur. Penelitian lain menunjukkan adanya asam (karbonat, kafeat, kafeolmalat, klorogenat, format, erat, malat, oksalat, posporat, quinat, suksinat, dan treonat), betain, kolin, lesitin, histamine, serotonin, dan glikoprotein),



flavonoid (flavonol glikosida) serta lignin (Barnes, *et al.*, 2002) (Simaremare, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, daun gatal merupakan salah satu tumbuhan yang potensial untuk diteliti, terutama aktivitas antimikrobanya. Sejauh ini, penelitian mengenai senyawa aktif antimikroba dari daun gatal belum banyak dilaporkan. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian isolasi dan identifikasi senyawa aktif antimikroba dari daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb Wedd)).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antimikroba senyawa aktif yang diisolasi dari daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb Wedd) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*?
2. Bagaimana karakteristik senyawa aktif antimikroba yang diisolasi dari ekstrak daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb Wedd) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antimikroba dari ekstrak daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb Wedd) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.
2. Menentukan karakteristik senyawa aktif antimikroba dari ekstrak daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb Wedd) terhadap beberapa mikroba uji diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan Informasi dan data-data ilmiah terkait aktivitas antimikroba dari senyawa bioaktif yang diisolasi dari daun gatal (*L. decumana*). Lebih lanjut, senyawa bioaktif yang diperoleh dapat dijadikan sebagai kandidat senyawa antimikroba atau senyawa penuntun dalam penemuan obat antimikroba baru dimasa yang akan datang.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023 – September 2024, di laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Hasanuddin Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, autoklaf, bejana maserasi, cawan porselen, cawan petri, incubator, laminar air flow (Esco), oven, ose bulat, paper disc, pinset, pipet tetes, rotary evaporator (IKA), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), water bath, seperangkat alat KLT dan KLT preparative, timbangan analitik (Sartorius), sonikator (VWR).

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb wedd)) yang diambil dari desa Wakal, kecamatan Leihitu, kabupaten Maluku Tengah, aquadest, etanol 96%, plat KLT, silica gel 60 F254, *paperdisk* khusus antibiotik amoxicillin 25µg (oxid), *paperdisk blank* (oxid) medium Nutrient agar (NA) medium PDA, dan medium MHA, bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, tip mikropipet 100µl, spiritus, kertas saring, aluminium foil, *plastic wrap*, kapas.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Daun gatal diambil dari desa Wakal, kecamatan Leihitu, kabupaten Maluku Tengah. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Daun kemudian ditumbuk dalam air mengalir lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Daun tanpa merusak kandungan senyawa aktifnya (Sari, 2011).



2.3.2 Penyiapan Ekstrak

Sampel diekstraksi dengan metode maserasi. Sampel kering ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan direndam dalam 3 liter Etanol 96%. Disimpan pada suhu ruang selama 24 jam sambil sesekali diaduk dan kemudian disaring. Ampas yang diperoleh kemudian diremaserasi sebanyak 3x dengan pelarut etanol 96% hingga filtrat tidak berwarna. Hasil maserasi dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

2.3.3 Partisi sampel

Ekstrak etanol sebanyak 46,59 gram ditambahkan dengan pelarut n-heksan hingga diperoleh bagian yang larut n-heksan dan tidak larut n-heksan. Bagian yang larut n-heksan dipisahkan, sedangkan yang tidak larut n-heksan ditambahkan kembali dengan pelarut n-heksan. Hal ini dilakukan beberapa kali hingga pelarut n-heksan tidak berwarna lagi. Bagian yang larut n-heksan disaring kemudian diuapkan pelarutnya. Ekstrak larut n-heksan dan tidak larut n-heksan disimpan untuk pengujian berikutnya.

2.3.4 Penyiapan Mikroba Uji

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Diremajakan dalam medium Nutrien agar (NA) miring dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

2.3.5 Pembuatan Suspensi Mikroba

Koloni bakteri diambil satu-dua ose kemudian dimasukkan ke dalam NaCl 0,9% dan dikocok hingga homogen untuk disamakan kekeruhannya dengan larutan standar Mc Farland 0,5 (Kepadatan bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL).



medium *Nutrient Agar* (NA)

\ ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dilarutkan dalam \ dan dipanaskan. Selanjutnya medium yang sudah jadi

disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 2 atm selama 15 menit dengan pH 7.0, pH ini dianggap netral dan cocok untuk mendukung pertumbuhan sebagian besar mikroorganismenya yang umumnya digunakan dalam kultur mikroba (Atlas, R. M.1993)

2.3.7 Pembuatan Medium *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Medium PDA sebanyak 39 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan 1000 mL aquadest dan dipanaskan hingga mendidih dan larut. Medium yang sudah jadi disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 2 atm selama 15 menit dengan pH 5.6, pH ini sedikit asam dan cocok untuk pertumbuhan jamur serta beberapa mikroorganismenya lain yang tumbuh optimal pada kondisi pH yang sedikit asam (Sharma, M. 2014)

2.3.8 Pembuatan Medium *Mueller Hinton Agar (MHA)*

Medium MHA ditimbang sebanyak 38 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1000 mL dan dipanaskan hingga mendidih dan larut. Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 2 atm selama 15 menit dengan pH 7.2, pH ini netral dan cocok untuk mendukung pertumbuhan bakteri secara optimal (Murray, P. R., et al. 2003)

2.3.9 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan cakram kertas (*paper disk*). Sampel terlebih dahulu dibuat dengan konsentrasi 10%. Cakram kertas ditetesi 20 μ L larutan sampel kemudian dikeringkan dan diletakkan pada permukaan pada permukaan medium NA yang telah diinokulasi mikroba yang sensitive terhadap isolate, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, lalu diukur daerah hambatan.



Ekstrak Metode KCV

yang memiliki aktivitas antimikroba yang paling besar menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dengan fase diam silica gel F60 dan fase gerak n-Heksan, etil asetat

dengan gradient kepolaran yang meningkat. Fraksi yang diperoleh kemudian diuapkan dan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase diam silica gel 60 F-254 dan fase gerak n-Heksan : Etil asetat dengan perbandingan 9:1. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan kemudian dilihat profil KLT nya. Fraksi yang memiliki profil KLT yang sama digabungkan dan diuji aktivitas antimikroba dengan metode KLT-Bioautografi.

2.3.11 Fraksinasi Ekstrak Metode Kromatografi Kolom

Ekstrak paling aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan silica gel 60. Pemisahan dilakukan menggunakan beberapa pelarut mulai dari pelarut non polar hingga polar (n-hexan, etil asetat, dan methanol). Setiap fraksi ditampung 250 mL dan diuapkan kemudian ditimbang. Fraksi yang aktif yang didapat kemudian dilihat pola bercak nodanya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan lempeng silica gel GF₂₅₄ yang dielusi dengan pelarut yang sesuai, lalu dilanjutkan dengan uji KLT bioautografi.

2.3.12 KLT-Bioautografi

Fraksi yang memiliki aktivitas antimikroba selanjutnya dilakukan uji KLT Bioautografi. Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan di atas permukaan medium nutrient agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang sensitive terhadap senyawa an yang dianalisis. Setelah 60 menit, lempeng kromatografi tersebut dipindahkan dan diangkat dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Noda yang menghambat pertumbuhan mikroba uji nampak pada permukaan membentuk

n latar belakang keruh.



2.3.13 Isolasi Senyawa

a. KLT Preparatif

Fraksi aktif yang memiliki aktivitas antimikroba dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dan dielusi dengan eluen yang cocok dengan perbandingan yang sesuai. Setelah terelusi, lempeng dilihat pada UV 254 nm, 366 nm. Pita akif yang terbentuk berdasarkan KLT Bioautografi kemudian dikeruk kemudian dilarutkan dengan pelarut organik untuk memisahkan senyawa dari fase diam, kemudian disentrifugasi lalu diuapkan lalu di uji kemurnian.

2.3.14 Identifikasi Komponen Kimia

Senyawa aktif pada lempeng KLT kemudian diidentifikasi dengan cara menyemprotkan reagen kimia untuk menentukan golongan senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2.3.15 Karakterisasi Senyawa

a. Pemeriksaan Spektrum ultraviolet

Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggunakan spektrometer UV-Vis, melarutkan 3 mg sampel ke dalam Aquadest hingga 3 ml untuk konsentrasi sampel 1000 µg/ml, diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 20, 30, 60, dan 100 µg/ml. (pilih konsentrasi yang memberikan nilai adsorpsi antara 200 dan 800 nm) konsentrasi yang terpilih di masukkan ke dalam kuvet, tambahkan pelarut ke kuvet lain, dan ukur serapannya pada saat yang bersamaan.

b. Pemeriksaan Spektrum IR (Infra Merah)

Analisis spektrofotometer dilakukan dengan menghaluskan 1 mg sampel secara homogen dengan 100 mg KBr. Campuran ini dikompresi dengan kekuatan 10 ton/cm hingga membentuk pelet tipis transparan, dan diukur



nya.

ta

isis berdasarkan data spektroskopi UV-Vis, dan FTIR.