

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN
FRAKSI AKTIF BUAH CABAI KATOKKON
(*Capsicum annum* L. var. *chinensis*) SECARA KLT-
BIOAUTOGRAFI**

**IIN FITRIANA PAKATA
N111 09 272**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN
FRAKSI AKTIF BUAH CABAI KATOKKON
(*Capsicum annum* L. var. *chinensis*) SECARA KLT-
BIOAUTOGRAFI**

SKRIPSI

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



**IIN FITRIANA PAKATA
N111 09 272**

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

PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN FRAKSI AKTIF
BUAH CABAI KATOKKON (*Capsicum annuum* L. var. *chinensis*)
SECARA KLT-BIOAUTOGRAFI**



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

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Abd. Rahim, S.Si, M.Si., Apt
NIP.19771111 200812 1 001

Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt
NIP.19481002 198203 2 001

Pada tanggal, 28 Mei 2013

PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN FRAKSI AKTIF
BUAH CABAI KATOKKON (*Capsicum annuum* L. var. *chinensis*)
SECARA KLT-BIOAUTOGRAFI**

Oleh :

**IIN FITRIANA PAKATA
N111 09 272**

**Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal : 28 Mei 2013**

Panitia Penguji Skripsi :

1. Prof.Dr. H. M. Natsir Djide, MS., Apt.. (Ketua) :
2. Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt. (Sekretaris) :
3. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. (Ex officio) :
4. Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Apt. (Ex officio) :
5. Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. (Ex officio) :
6. Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., 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, 28 Mei 2013

Penyusun

Iin Fitriana Pakata

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, perkenankanlah penulis mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada ayahanda Set Sonda dan ibunda tersayang Nyeny Pakata, tante terkasih Sudiana Andayo (alm), kakek dan nenek tercinta yang telah banyak memberikan pengorbanan baik moril maupun materil yang tidak akan mampu penulis balas sampai akhir hayat, 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 tercinta: Jayanti P, Arif Restu P, Raihan P, dan Khaerunnisa P, 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, Abdul Rahim, S.Si., 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 sekaligus penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan dan masukan yang bermakna bagi penulis.
2. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt. selaku Wakil Dekan I, Prof. Dr. Renat. Hj. Marianti A. Manggau, Apt. selaku Wakil Dekan II, dan Drs.Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan III.
3. Prof.Dr. H. M. Natsir Djide, MS., Apt., Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt., Drs. H. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt., selaku penguji penulis
4. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini
5. Teman-teman Ginkgo 09, khususnya Sitti Inayyah Arista, Sallmia, Suhariani La Suda, Asmira Azisa Nur, Merliana Mansyur, Cahyani Purnasari, dan Hijrah Al Kautsar.
6. Teman seperjuangan dalam penelitian cabai katokkon, Soendaria Intan dan Suhermawan.
7. Kak Haslia S.Si, selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin

8. 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, 28 Mei 2013

Iin Fitriana Pakata

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi aktif buah cabai katokkon (*Capsicum annuum* L. var. *chinensis*) secara KLT-bioautografi. Cabai katokkon dimaserasi menggunakan etanol 70% lalu dipartisi dengan metode ekstraksi cair padat secara berturut-turut dengan n-heksan, kloroform, dan etilasetat. Sehingga diperoleh ekstrak etanol, n-heksan, kloroform, dan ekstrak etilasetat. Uji aktivitas antimikroba keempat ekstrak menggunakan metode difusi agar pada medium *Nutrient Agar* untuk *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta *Potato Dextrose Agar* untuk *Malassezia furfur*. Hasil uji aktivitas antimikroba keempat ekstrak hanya menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Malassezia furfur*. Ekstrak n-heksan memiliki aktivitas terbesar terhadap *Malassezia furfur* dengan diameter zona hambat 23,3 mm (100 mg/mL). Hasil uji KLT-Bioautografi dari ekstrak n-heksan terhadap *Malassezia furfur* tidak memperlihatkan adanya noda yang aktif. Hasil identifikasi dengan KLT menunjukkan ekstrak n-heksan diduga mengandung senyawa aktif golongan alkaloid, steroid, fenolik, dan flavanoid.

ABSTRACT

A research of the antimicrobial activity test on fruits extract and active fractions of katokkon pepper (*Capsicum annum* L. var. *chinensis*) by KLT-bioautografi method has been done. The katokkon peppers macerated using ethanol 70% and then partitioned with solid liquid extraction method successively with n-hexane, chloroform and ethyl acetate. It is obtained extract of ethanol, n-hexane, chloroform and ethyl acetate. The antimicrobial activity test fourth extracts using agar diffusion method on medium Nutrient Agar for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, as well as Potato Dextrose Agar for *Malassezia furfur*. The result of antimicrobial activity test of fourth extracts showed only antimicrobial activity against *Malassezia furfur*. The n-hexane extract has the greatest activity against *Malassezia furfur* with inhibition zone diameter of 23.3 mm (100 mg / mL). The TLC-Bioautografi test results on the n-hexane extracts against *Malassezia furfur* does not show any active spots. Results of identification by TLC shows the n-hexane extract thought to contain compounds of class alkaloid, steroid, phenolic, and flavonoid.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG.....	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.....	3
II.1 Uraian Tanaman	3
II.1.1 Klasifikasi Tanaman	3
II.1.2 Nama Daerah.....	3
II.1.3 Morfologi Tanaman	3
II.1.4 Kandungan Kimia.....	4
II.2 Metode Penyarian	4
II.3 Metode KLT-Bioautografi	6

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	6
II.3.2 Bioautografi	7
II.4 Uraian Umum Antimikroba	10
II.5 Uraian Umum Uji Mikrobiologi.....	13
II.6 Uraian Mikroba Uji.....	14
II.6.1 <i>Eschericia coli</i>	14
II.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
II.6.3 <i>Malassezia furfur</i>	16
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	17
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	17
III.2 Metode Kerja.....	17
III.2.1 Pengambilan Sampel	17
III.2.2 Ekstraksi Sampel	17
III.2.3 Sterilisasi Alat.....	18
III.2.4 Pembuatan Medium NA	19
III.2.5 Pembuatan PDA	19
III.2.6 Penyiapan Mikroba Uji	19
III.2.7 Penyiapan Ekstrak	20
III.2.8 Uji Aktivitas Antimikroba.....	20
III.2.9 Uji KLT-Bioautografi	21
III.2.10 Identifikasi Komponen Kimia	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
IV.1 Hasil Penelitian	23

IV.1.1 Ekstraksi	23
IV.1.2 Uji Aktivitas Antimikroba	24
IV.1.3 Uji KLT-Bioautografi.....	25
IV.1.4 Identifikasi Komponen Kimia.....	26
IV.2 Pembahasan.....	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
Lampiran	36

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>)	25
2. Hasil uji identifikasi komponen kimia ekstrak n- heksan buah cabai katokkon (<i>capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>)	26

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Kromatogram lapis tipis ekstrak buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>)	23
2. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>) terhadap jamur <i>Malassezia furfur</i>	24
3. Hasil KLT-Bioautografi ekstrak n-heksan buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>) terhadap jamur <i>Malassezia furfur</i>	25
4. Histogram pengukuran diameter zona hambat ekstrak buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>Chinensis</i>) terhadap jamur <i>Malassezia furfur</i>	29
5. Foto tanaman cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>)	39
6. Foto sampel buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>)	39
7. Ekstrak buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>)	39
8. Kromatogram lapis tipis ekstrak n-heksan buah cabai katokkon (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>chinensis</i>).....	40

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Skema kerja	36
2. Bukti determinasi sampel buah cabai katokkon	38
3. Gambar hasil penelitian.....	39
4. Komposisi reagen.....	41

BAB I

PENDAHULUAN

Antimikroba adalah bahan atau obat yang digunakan untuk memberantas mikroba yang merugikan manusia, seperti golongan antibiotika, antiseptika, disinfektansia, dan preservatif. Penggunaan antimikroba khususnya antibiotik sering menimbulkan kegagalan terapi. Salah satu penyebabnya yaitu resistensi antimikroba. Resistensi ini disebabkan oleh ketahanan mikroorganisme terhadap antimikroba karena kemampuan bakteri untuk beradaptasi dengan cepat dengan lingkungan karena adanya molekul antimikroba (mutasi) (1,2,3)

Resistensi antimikroba merupakan masalah global yang menimbulkan masalah klinis yang besar dalam pengobatan penyakit infeksi. Banyak pasien menderita kerugian karena infeksi yang disebabkan oleh mikroba yang tidak lagi rentan terhadap obat-obatan yang biasa digunakan untuk mengobatinya. Meningkatnya resistensi antimikroba dapat meningkatkan kegagalan pengobatan. Untuk mengatasi hal ini dilakukan penelitian terhadap bahan alam untuk memperoleh antimikroba yang baru dan alami. Beberapa ekstrak tanaman telah diteliti memiliki kemampuan sebagai antimikroba (4,5,6).

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antimikroba adalah cabai. Meskipun mengandung tingkat capsaicin yang berbeda, ekstrak etanol dari beberapa jenis cabai menunjukkan potensi aktivitas

antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, serta fungi (7,8).

Nilai MIC dari ekstrak mentah *C. annum* yaitu 10-17,5 mg/mL terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *A. niger*, *C. albicans*. Uji bioautografi menunjukkan bahwa capsaicin adalah komponen utama sebagai antimikroba serta adanya sinergis capsaicin dengan komponen zat lain yang terdapat dalam ekstrak cabai (7,8).

Cabai katokkon adalah salah satu jenis cabai yang tumbuh di daerah Sulawesi Selatan khususnya di Tana Toraja. Cabai ini oleh masyarakat Tana Toraja dianggap memiliki tingkat kepedasan yang tinggi dibandingkan dengan jenis cabai lainnya. Cabai katokkon merupakan salah satu varietas dari *Capsicum annum* yaitu *Capsicum annum* L. var. *chinensis* yang belum dilaporkan manfaatnya sebagai antimikroba.

Berdasarkan uraian di atas, cabai Katokkon diduga memiliki kandungan capsaicin yang memiliki aktivitas antimikroba seperti jenis cabai lainnya. Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari cabai katokkon (*Capsicum annum* L. var. *chinensis*). Tujuan untuk mengetahui aktivitas cabai katokkon (*Capsicum annum* L. var. *chinensis*) sebagai antimikroba. Oleh karena itu, telah dilakukan uji aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi aktif buah cabai katokkon (*Capsicum annum* L. var. *chinensis*) secara KLT-Bioautografi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (Lampiran 2)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Solanales/ Tubiflorae
Suku	: Solanaceae
Marga	: Capsicum
Jenis	: <i>Capsicum annum</i> L. var. <i>chinensis</i>

II.1.2 Nama Daerah

Toraja : Lada katokkon

II.1.3 Morfologi Tanaman

Tumbuhan berupa tera atau setengah perdu, dengan tinggi 45-100 cm, biasanya berumur hanya semusim. Bunga tunggal dan muncul di bagian ujung ranting, posisinya menggantung; mahkota bunga berwarna putih, berbentuk seperti bintang. Kelopak seperti lonceng. Buah tunggal pada setiap ruas, bervariasi dalam ukuran, bentuk, warna dan tingkat kepedasan; bentuk buah seperti garis, menyerupai kerucut, seperti tabung memanjang, seperti lonceng atau berbentuk bulat; warna buah setelah

masak bervariasi dari merah, jingga, kuning atau keunguan; posisi buah menggantung. Biji berwarna kuning pucat (9).

II.1.4 Kandungan Kimia Tanaman

Buah *Capsicum* mengandung pigmen pewarna, dasar kepedasan, resin, protein, selulosa, pentosan, unsur mineral, dan minyak atsiri sangat sedikit. Kandungan utama dalam buah *Capsicum* adalah capsaicin dan dihydrocapsaicin. Campuran capsaicin dan dihydrocapsaicin berperan dalam kepedasan disebut capsaicinoid. Capsaicinoids adalah kelompok alami alkaloid yang bertanggung jawab atas kepedasan dari buah *Capsicum* (10, 11).

II.2 Metode Penyarian

Ekstraksi (sebagai istilah yang digunakan farmasi) adalah pemisahan zat aktif dari jaringan tanaman atau hewan menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standar. Produk yang diperoleh dari tanaman adalah campuran metabolit yang relatif kompleks, dalam keadaan cair atau setengah padat atau setelah pelarut dihilangkan, dalam bentuk bubuk kering, dan dimaksudkan untuk penggunaan oral atau eksternal. Ini termasuk kelas persiapan dikenal sebagai decoctions, infus, cairan ekstrak, tingtur, pilular (semisolid) ekstrak atau ekstrak bubuk (12).

Metode ekstraksi yang digunakan farmasi melibatkan pemisahan zat aktif jaringan tanaman dari komponen inaktif / inert dengan menggunakan pelarut selektif. Selama ekstraksi, pelarut berdifusi ke

dalam bahan tanaman padat dan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sama (12).

Parameter dasar yang mempengaruhi kualitas ekstrak adalah (12):

1. Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal
2. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi
3. Prosedur ekstraksi

Pengaruh fitokimia tanaman yang diekstraksi tergantung pada (12)

:

1. Sifat dari bahan tanaman
2. Asal tanaman
3. Tingkat pengolahan
4. Kadar air
5. Ukuran partikel

Variasi dalam metode ekstraksi yang berbeda yang akan mempengaruhi kuantitas dan komposisi metabolit sekunder dari ekstrak, tergantung pada (12):

1. Jenis ekstraksi
2. Waktu ekstraksi
3. Suhu
4. Sifat pelarut
5. Konsentrasi pelarut
6. Polaritas

Dalam maserasi (untuk ekstrak cair), seluruh atau bubuk kasar tanaman obat disimpan dalam dalam wadah tutup yang berisi pelarut

untuk periode tertentu dengan agitasi sering sampai bahan larut dengan pelarut. Metode ini paling cocok untuk digunakan dalam kasus obat termolabil (12).

Maserasi merupakan penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan terdesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang-ulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (13,14).

II.3 Metode KLT-Bioautografi

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu metode analisis yang terdiri dari fase gerak dan fase diam. Fase gerak akan melewati fase diam sehingga campuran zat dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya. Meskipun dasar kromatografi adalah suatu proses pemisahan namun juga digunakan untuk analisis kuantitatif. Jenis-jenis kromatografi yang bermanfaat untuk analisis kualitatif dan analisis kuantitatif adalah kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, kromatografi gas, dan kromatografi cair kinerja tinggi (15,16).

Prinsip KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi. Pada pemisahannya fase gerak akan membawa komponen campuran sepanjang fase diam pada pelat sehingga terbentuk kromatogram (15).

Harga Rf dapat dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan (16):

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempu h senyawa}}{\text{Jarak tempu h fase gerak}}$$

II.3.2 Bioautografi

Bioautografi adalah teknik laboratorium untuk mendeteksi zat yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan organisme uji dalam campuran yang kompleks dan matriks. Metode ini didasarkan pada aktivitas biologis dari analit, yang dapat berupa antibakteri, antijamur, antitumor, antiprotozoa (17).

Bidang utama bioautografi adalah (17):

1. Mencari zat antibiotik baru dan baru antijamur, antitumor, dan antiprotozoae senyawa dengan mempelajari aktivitas biologis zat yang berasal dari tanaman, mikroorganisme atau kombinasi zat kimia
2. Penyelidikan antibiotik dan senyawa biologis-aktif lainnya dalam air limbah, air minum, cairan tubuh, makanan
3. Kontrol kualitas obat-obatan antibiotik
4. Mencari senyawa antimikroba yang efektif melawan bakteri patogen tanaman dan jamur

5. Deteksi dan penentuan senyawa beracun (misalnya, aflatoksin) atau fototoksik (misalnya, furocoumarins).

Metode bioautografi biasanya dibagi menjadi tiga kategori:

1. Difusi agar atau bioautografi kontak.

Dalam bioautografi kontak, antimikroba berdifusi dari plat TLC atau kertas ke agar inokulasi. Kromatogram ditempatkan menghadap ke bawah agar inokulasi dan dibiarkan selama beberapa menit atau jam untuk memungkinkan difusi. Kemudian kromatogram dipindahkan dan lapisan agar diinkubasi. Zona hambat diamati pada permukaan agar di tempat di mana noda antimikroba yang menempel pada agar. Metode ini menyerupai alat tes disk. Kelemahan dari bioautografi kontak adalah kesulitan dalam memperoleh kontak sempurna antara agar dan plat dan kepatuhan dari adsorben ke permukaan agar. Kekurangan ini dihindari dengan menerapkan penggunaan kromatografi lembaran serat kaca asam silikat, chromar.15 Namun, dasar dari metode ini sama dan antimikroba harus ditransfer dari lembar ke agar menyebabkan kerugian dan dilusi (17).

2. Perendaman atau bioautografi agar-*overlay*.

Dalam bioautografi perendaman, kromatogram ditutupi dengan media, agar yang cair. Setelah pematangan, inkubasi dan noda penghambatan (biasanya dengan pencelupan tetrazolium) atau pertumbuhan koloni pertumbuhan adalah akan tampak. Kadang-kadang, sebelum inkubasi, plat yang tersisa selama beberapa jam pada suhu rendah untuk memungkinkan difusi. Agar-*overlay* adalah penggabungan

antara bioautografi kontak dan bioautografi langsung. Antimikroba ditransfer dari pelat TLC ke lapisan agar seperti dalam uji kontak tetapi selama inkubasi dan visualisasi lapisan agar tetap dalam plat seperti dalam bioautografi langsung. Kerugian utama dari metode ini adalah sensitivitas yang lebih rendah disebabkan oleh cairan antibakteri dalam lapisan agar dibandingkan dengan bioautografi langsung. Agar- *overlay* disarankan terutama ketika bioautografi langsung adalah tidak memungkinkan untuk dilakukan (17).

3. Bioautografi langsung.

Dalam bioautografi langsung, pengembangan palt dicelupkan dalam suspensi mikroorganisme yang tumbuh dalam kaldu cocok atau suspensi ini disemprotkan ke plate. Plat ini diinkubasi dan mikroorganisme tumbuh secara langsung di atasnya. Oleh karena itu, pemisahan, penyiapan, inkubasi dan visualisasi yang dilakukan langsung di plat. Untuk lokasi dan visualisasi antibakteri garam tetrazolium biasanya digunakan, yang dikonversi oleh dehydrogenases oleh mikroorganisme hidup untuk intens berwarna, formazan. Bakteri yang dibunuh oleh antimikroba pada pelat TLC mengakibatkan warna tidak diproduksi di tempat noda antibakteri dan disebut zona penghambatan yang pucat yang terbentuk pada latar belakang berwarna (17).

II.4 Uraian Umum Antimikroba

Antimikroba adalah bahan atau obat yang digunakan untuk memberantas mikroba yang merugikan manusia, seperti golongan

antibiotika, antiseptika, disinfektansia, dan preservatif. Penggunaan antimikroba khususnya antibiotik sering menimbulkan kegagalan terapi. Salah satu penyebabnya yaitu retensi antimikroba. Retensi ini disebabkan oleh ketahanan mikroorganisme terhadap antimikroba karena kemampuan bakteri untuk beradaptasi dengan cepat dengan lingkungan karena adanya molekul antimikroba sehingga terjadi mutasi (3).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba yang disebut sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) atau kadar bunuh minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid apabila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (1).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok (1) :

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam para amino benzoat (PABA) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog

asam folat yang nonfungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Contoh obat yaitu sulfonamida, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon.

2. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Dinding sel mikroba secara kimia adalah peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat reaksi pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai dibentuk.

Antimikroba ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase yang dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis.

Contoh basitrasin, sefalosporin, sikloserin, penisilin, vankomisin.

3. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran sel memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan menghambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, akibatnya mikroba akan mati.

Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel akan rusak. Dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan sterol sitoplasma pada jamur, dan merusak membran sel bakteri Gram negatif.

Contoh amfoterisin β , kolistin, imidasol, polien, polimiksin.

4. Penghambatan terhadap sintesis protein

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasikan protein dengan merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi irreversibel komponen-komponen seluler yang vital ini.

Antimikroba mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menterjemahkan tanda m-RNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain itu juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contoh aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin dan linkomisin.

5. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Dalam hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan dengan enzim DNA-dependen, RNA-polymerase bakteri, memblokir helix DNA. Contoh

quinolon, pyrimethamin, rifampicin, sulfonamid, trimethoprim, trimetrexat.

II.5 Uraian Umum Uji Mikrobiologi

1. Metode Difusi

Metode Difusi termasuk teknik agar-*overlay* seperti disk, strip, sumur (lubang) dan silinder. Uji difusi disk adalah salah satu metode yang paling umum digunakan uji kerentanan antimikroba. Di Amerika Serikat ini adalah metode resmi untuk deteksi kualitatif penghambatan zat kimia dalam susu. Filter kecil kertas disk (sekitar 1 cm diameter) diresapi dengan sejumlah zat standar antibakteri ditempatkan ke plate agar yang telah diinokulasi sebelumnya untuk metode ini. Piring dibalik dan diinkubasi. Kadang-kadang, sebelum inkubasi, piring dengan disk yang tersisa pada suhu mendekati 0°C selama beberapa jam untuk memungkinkan difusi. Waktu inkubasi bervariasi dari sekitar 48 jam. Diameter zona penghambatan pertumbuhan bakteri adalah ukuran kerentanan. Metode Difusi biasanya digunakan untuk zat murni (17).

2. Metode Dilusi

Metode dilusi terutama digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC) dari zat murni dan ekstrak. Sampel harus homogen terdispersi dalam air. Hal ini biasanya dicampur dalam berbagai pengenceran dengan media diinokulasi. Setelah inkubasi, sifat penghambatan sampel dapat diperkirakan dengan perbandingan turbidimetri atau visual dengan biakan kontrol. Dalam uji tabung berbagai

konsentrasi analit dicampur dalam serangkaian tabung dengan suspensi bakteri. Jumlah terkecil menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri, media tetap jernih, memberikan nilai MIC. Dalam pengenceran agar dengan berbagai konsentrasi zat antibakteri yang dicampur dengan nien agar. plat agar diinokulasi dan diinkubasi. Konsentrasi terendah dari antibiotik menunjukkan tidak ada pertumbuhan dibaca sebagai nilai MIC. Uji microdilution kaldu dilakukan dalam piring microtitre. Setelah inkubasi pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya putih "pellet" di bagian dasar sumur (17).

II.6 Uraian Mikroba Uji

II.6.1 *Eschericia coli*

II.6.1.1 Klasifikasi

Divisi : Procaryota
Kelas : Gammaproteobacteria
Bangsa : Enterobacteriaes
Suku : Enterobacteriaceae
Marga : Escherichia
Jenis : *Escherichia coli*

II.6.1.2 Sifat dan Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus, 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm , motil dengan flagelum peritrikus atau non motil.

Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktose difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas (19,20).

II.6.2 *Staphylococcus aureus*

II.6.2.1 Klasifikasi

Kerajaan : Protophyta

Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

Suku : Staphylococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus aureus*

II.6.2.2 Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5 µm, terdapat tunggal dan berpasangan, dan secara khas membelah diri lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur. Dinding sel mengandung dua komponen utama; peptidoglikan dan asam teikoat. Metabolisme secara respiratif dan fermentatif. Tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerob. Suhu optimum 35-40°C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas. Kisaran inangnya luas, dan banyak galur merupakan patogen potensial (19,20).

II.6.3 *Malassezia furfur*

II.6.3.1 Klasifikasi

Kerajaan	: Fungi
Divisi	: Basidiomycota
Kelas	: Hymenomyces
Bangsa	: Tremellales
Suku	: Filobasidiaceae
Marga	: <i>Malassezia</i>
Jenis	: <i>Malassezia furfur</i>

II.6.3.2 Sifat dan Morfologi

Malassezia furfur merupakan flora normal dan terdapat pada mukosa dan kulit. Jamur ini berupa kelompok sel-sel bulat, bertunas, berdinding tebal, dan hifanya berbatang pendek dan bengkok. *Malassezia furfur* menghasilkan konidia sangat kecil (mikrokonidia) pada hifanya, tetapi di samping itu juga menghasilkan makrokonidia besar, multiseptat, berbentuk gelendong yang jauh lebih besar daripada mikrokonidianya (21, 22).