

UJI ANTIBAKTERI RIMPANG GANDASULI (*Hedychium coronarium*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* DENGAN PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI

LAPORAN TUGAS AKHIR

**MARYZKA DHONA ALANTI
13151023**



**PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI
SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
BANDUNG
2017**

UJI ANTIBAKTERI RIMPANG GANDASULI (*Hedychium coronarium*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* DENGAN PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

MARYZKA DHONA ALANTI
13151023

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

Aris Suhardiman, M.Si., Apt.

Dadang Juanda, M.Si., Apt.

ABSTRAK

UJI ANTIBAKTERI RIMPANG GANDASULI (*Hedychium coronarium*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* DENGAN PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI

Oleh
MARYZKA DHONA ALANTI
13151023

Indonesia memiliki bermacam-macam jenis tanaman yang berpotensi sebagai obat-obatan untuk menanggulangi masalah kesehatan sejalan dengan berkembangnya industri obat tradisional. Salah satu contoh tanaman dari suku Zingiberaceae adalah gandasuli (*Hedychium coronarium*) yang belum banyak dikenal oleh masyarakat meskipun memiliki khasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah rimpang gandasuli terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, mengetahui senyawa apakah yang terkandung pada gandasuli yang berperan sebagai antibakteri, dan mengetahui metode ekstraksi yang paling efektif untuk mengambil senyawa antibakteri rimpang gandasuli. Rimpang gandasuli diekstraksi secara maserasi dan refluks dengan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar, dan analisa senyawa antibakteri secara bioautografi dengan penampak bercak vanilin-asam sulfat. Ekstrak maserasi dan refluks dengan konsentrasi 90% memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat masing-masing sebesar 8 dan 10 mm terhadap *Escherichia coli* serta 9 dan 10 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil bioautografi menunjukkan positif terhadap penampak bercak vanilin-asam sulfat. Ekstrak refluks memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik, dimana senyawa yang bersifat antibakteri merupakan golongan minyak atsiri.

Kata Kunci: *Hedychium coronarium*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, bioautografi

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL TEST IN GANDASULI RHIZOMES (*Hedychium coronarium*) AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* WITH COMPARISON OF EXTRACTION METHOD

By
MARYZKA DHONA ALANTI
13151023

Indonesia has various types of plants those have potential as medicine to overcome health problems in line with the expanding of traditional medicine industry. One example of plants from the Zingiberaceae family is *Hedychium coronarium*, which is not widely known by the community despite it has efficacy as an antibacterial which is not inferior to other Zingiberaceae family. The research was conducted to determine whether the *Hedychium coronarium* rhizome shown to have antibacterial activity against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, knowing antibacterial compound that contained in *Hedychium coronarium* rhizome, also knowing the most effective extraction method to take the antibacterial compound from *Hedychium coronarium* rhizome. *Hedychium coronarium* rhizome was extracted by maceration and reflux with 96% ethanol. The antibacterial activity test was performed by agar diffusion method, and analysis of antibacterial compounds by bioautography with vanillin-sulfuric acid spotting. The maceration and reflux extracts with 90% concentration had antibacterial activity with inhibition zone 8 and 10 mm respectively to *Escherichia coli* and 9 and 10 mm to *Staphylococcus aureus*. Bioautography results show a positive effect on the appearance of vanillin-sulfuric acid. Reflux extract has better antibacterial activity, and the antibacterial compound is an essential oil group.

Keywords: *Hedychium coronarium*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, bioautography.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan hanya kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat kasih sayang, kenikmatan dan kemudahan yang begitu besar, sehingga dapat menyelesaikan penyusunan Laporan Tugas Akhir dengan judul: **UJI ANTIBAKTERI RIMPANG GANDASULI (*Hedychium coronarium*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* DENGAN PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI**. Laporan Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan kelulusan Program Strata 1 Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB).

Dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir ini penulis mendapat bantuan dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Entris Sutrisno, S.Farm., M.H.Kes., Apt. selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
2. Bapak Aris Suhardiman, M.Si., Apt. dan Bapak Dadang Juanda, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dari persiapan hingga selesainya Laporan Tugas Akhir ini.
3. Kedua orang tua dan keluarga besar penulis yang selalu memberikan doa yang tiada hentinya, memberikan dukungan moral maupun materil, serta dukungan berupa semangat selama kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

4. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung dan seluruh staf Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah banyak memberikan bantuan selama perkuliahan. Serta teman-teman seperjuangan, khususnya kelas ekstensi angkatan 2015, atas dukungan semangat dan kebersamaan yang tidak ternilai.

Penulis menyadari atas segala kekurangan dan kelemahan dalam penulisan dan penyusunan Laporan Tugas Akhir, baik dari segi isi, bahasa serta penyajian. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun penulis terima dengan lapang dada demi perbaikan dan penyempurnaan penulisan proposal ini.

Akhir kata, atas segala bantuan yang penulis terima, semoga amal dan kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah SWT. Semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN	
ABSTRAK	
ABSTRACT	
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR LAMPIRAN	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
BAB I. Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Batasan Masalah	3
I.4 Tujuan Penelitian	3
BAB II. Tinjauan Pustaka.....	5
II.1 Gandasuli (<i>Hedygium coronarium</i>).....	5
II.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
II.3 <i>Escherichia coli</i>	10
II.4 Tetrasiklin	12
II.5 Metode Ekstraksi	13
II.6 Metode Pengujian Antibakteri	16
BAB III. Metodologi Penelitian	20
BAB IV. Alat Dan Bahan	22
BAB V. Prosedur Penelitian.....	23
V.1 Penyiapan Bahan	23
V.2 Pemeriksaan Karakteristik	23

V.3 Penapisan Fitokimia	26
V.4 Ekstraksi	28
V.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri	29
BAB VI. Hasil dan Pembahasan	33
VI.1 Penyiapan Bahan	33
VI.2 Karakteristik Simplisia	34
VI.3 Penapisan Fitokimia	36
VI.4 Ekstraksi	37
VI.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Gandasuli .	38
VI.6 Uji Bioautografi	39
BAB VII. Kesimpulan dan Saran	44
VII.1 Kesimpulan	44
VII.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Bagan Alir Prosedur Penelitian	49
Hasil Determinasi Tanaman Gandasuli	50
<i>Certificate of Analysis</i> Tetrasiklin	51
Hasil Karakterisasi Simplisia	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gandasuli (<i>Hedychium coronarium</i>)	6
Mikroskopik <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Mikroskopik <i>Escherichia coli</i>	11
Struktur Kimia Tetrasiklin.....	12
Makroskopik Rimpang Gandasuli	34
Hasil Uji Bioautografi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Hasil Uji Bioautografi terhadap <i>Escherichia coli</i>	40
Hasil Uji Difusi Agar	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Hasil Karakterisasi Simplisia	34
Hasil Penapisan Fitokimia.....	36
Bobot Ekstrak, % Rendemen dan Bobot Jenis	37
Hasil Uji Aktivitas Rimpang Gandasuli	38

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Obat dan pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia sejak ribuan tahun yang lalu, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat modern. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 007 Tahun 2012 tentang Registrasi Obat Tradisional, obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat. Pada era modern saat ini, obat tradisional masih cukup digemari sebagai alternatif pengobatan mengingat banyaknya manfaat yang tidak kalah dibandingkan obat modern, serta kecilnya efek samping yang ditimbulkan.

Sebagai salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia, Indonesia memiliki bermacam-macam jenis tanaman yang berpotensi sebagai obat-obatan untuk menanggulangi masalah kesehatan sejalan dengan berkembangnya industri obat-obat tradisional (Wijayakusuma, 2005). Obat tradisional yang berasal dari tanaman dapat berupa rimpang, batang, daun, bunga dan buah. Beberapa contoh tanaman yang memiliki rimpang berkhasiat sebagai obat adalah dari suku temu-temuan (*Zingiberaceae*). Salah satunya adalah gandasuli (*Hedychium coronarium*).

Hedychium coronarium atau gandasuli memang belum banyak dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat, namun tanaman ini

memiliki banyak khasiat farmakologi. Daun gandasuli memiliki aktivitas antimikrobal yang memiliki potensi yang tinggi dalam melawan jamur, contohnya *Candida albicans*. Minyak esensial dari daun *Hedychium* memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis* (Ching Ho, 2011). Rimpang gandasuli mengandung senyawa coronarin D yang memiliki aktivitas melawan sel kanker (N. Chimnoi, 2008). Selain itu, dapat pula menghambat mediator inflamasi dan apoptosis (Kunnumakkara, 2008). M. Abdul Aziz (2009), melakukan penelitian terkait dengan aktivitas antibakteri dari rimpang gandasuli, dengan hasil rimpang gandasuli memiliki potensi untuk menghambat bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* dan *Sarcina lutea*) maupun bakteri gram negatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Shigella shiga*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi*).

Berdasarkan penjelasan di atas, gandasuli memiliki aktivitas dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif. Sehingga akan dilakukan pembuktian untuk melihat daya antibakteri dari rimpang gandasuli terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta untuk mengetahui senyawa apakah yang berperan sebagai antibakteri.

Teknik pengambilan ekstrak rimpang gandasuli, dilakukan dengan membandingkan ekstraksi cara panas (refluks) dan cara dingin (maserasi). Dilanjutkan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar dan analisa senyawa antibakteri dengan metode

bioautografi, dimana bioautografi digunakan untuk mendeteksi bercak pada kromatogram dari suatu hasil kromatografi yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat diketahui senyawa yang berperan sebagai antibakteri tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, penulis dapat merumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*) terbukti memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
2. Senyawa apakah yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dari rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*)?
3. Metode ekstraksi manakah yang paling efektif untuk mengambil senyawa antibakteri rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*)?

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada perbandingan metode ekstraksi (maserasi dan refluks) serta analisa senyawa antibakteri pada gandasuli terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode bioautografi.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk:

1. Untuk mengetahui apakah rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2. Untuk mengetahui senyawa apakah yang terkandung pada gandasuli (*Hedychium coronarium*) yang berperan sebagai antibakteri.
3. Untuk mengetahui metode ekstraksi yang paling efektif untuk mengambil senyawa antibakteri rimpang gandasuli (*Hedychium coronarium*).

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Gandasuli (*Hedychium coronarium*)

Tinjauan mengenai tanaman gandasuli meliputi klasifikasi, sinonim dan nama lain, morfologi tanaman, penyebaran dan budidaya, kandungan kimia dan aktivitas farmakologi.

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Berikut merupakan klasifikasi tanaman *Hedychium coronarium* (Backer, *et al*, 1963; Cronquist, 1981):

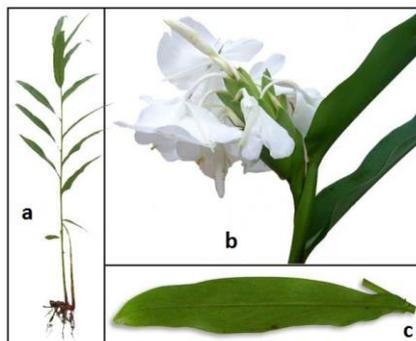
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Hedychium
Spesies	: <i>Hedychium coronarium</i> J. Koenig

II.1.2 Sinonim dan Nama Lain

Tanaman gandasuli (*Hedychium coronarium*) dan memiliki sinonim *Gandasulium coronarium*. Gandasuli memiliki nama daerah yang berbeda-beda, seperti di Sumatera disebut gandasuli, gondasuli atau dugahuli. Di pulau Jawa disebut gandasoli (Sunda), gondasuli atau kembang laras (Jawa). Sedangkan Nusa Tenggara dan Maluku menyebutnya manasuli, mandasul, dagasuli atau dagahuli. Di luar negeri gandasuli juga memiliki nama yang berbeda, seperti di India dikenal sebagai *dolan champa* atau *gulbakawali*, di Filipina dikenal sebagai *kamia*, sedangkan di Inggris dikenal sebagai *white ginger*, *butterfly ginger* atau *ginger lily* (stuartxchange.org).

II.1.3 Morfologi Tanaman

Gandasuli merupakan tanaman herba, dengan tinggi 1,5-2 meter, memiliki helaian daun duduk berbentuk garis-lanset 3-9 cm dengan ujung yang runcing dan terkadang berambut halus seperti sutera. Gandasuli memiliki bunga duduk berwarna putih sampai kuning muda yang berbau harum. Bunga tersebut dilindungi oleh daun pelindung yang berbentuk bulat telur hingga memanjang dengan ujung berumbai. Tabung kelopak bunga membuka pada sebuah sisi, dan tabung mahkota bulat silindris dengan panjang 8-10 cm, bibir bulat telur terbalik dengan ujung melekuk ke dalam, benangsari putih memeluk tangkai putik, kepala putik muncul di atas kepala sari. Bakal buah bulat silindris, berambut, pada ujung terdapat kelenjar madu berbentuk kerucut. Buah kotak dengan 3 katup membuka. Rimpang pipih, lunak, dan berwarna putih serta hanya berbau sedikit (van Steenis, 1987).



Gambar II.1. Gandasuli (*Hedychium coronarium*), Makroskopik tanaman (a), bunga (b) dan daun (c) (stuartxchange.org)

II.1.4 Penyebaran dan Budidaya

Gandasuli merupakan tanaman hias dari India, yang kadang-kadang juga dapat ditemui tumbuh secara liar. Gandasuli dapat tumbuh di daerah yang lembab pada ketinggian 1-1900 meter di atas permukaan laut (van Steenis, 1987).

II.1.5 Kandungan Kimia

Di dalam rimpang gandasuli terkandung karbohidrat, flavonoid, saponin, steroid dan alkaloid (Pranitha, 2014). Rimpang gandasuli mengandung minyak esensial sejumlah 80,6% yang terdiri dari beberapa unsur utama, yaitu 1,8-sineol (37.3%), β -pinen (23.0%), α -terpineol (10.4%) dan α -pinen (9.9%) (Jiau-Ching Ho, 2011).

II.1.6 Penggunaan Tradisional

Rebusan batang dekat rimpang digunakan sebagai obat kumur untuk tonsilitis, atau batang mentah dikunyah untuk tujuan yang sama. Di Maluku, pangkal batang yang dihaluskan digunakan untuk mengatasi pembengkakan. Beberapa Negara di dunia memanfaatkan rimpang gandasuli sebagai antirematik, tonik, penurun panas, antidiabetes, nyeri inflamasi, sakit kepala, tonik mata untuk mencegah katarak, menambah nafsu makan, serta peluruh haid. Biji gandasuli digunakan sebagai pengobatan untuk rambut dan kulit. Sedangkan rebusan daun gandasuli digunakan untuk meringankan sendi kaku dan sakit (stuartxchange.org).

II.1.7 Aktivitas Farmakologi

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat aktivitas farmakologi dari gandasuli. Gandasuli dapat digunakan sebagai antifungi, antibakteri, anti inflamasi, analgesik, antioksidan, antikanker, *antiurolthiatic*, larvasidal, antidiabetes, serta pengharum. Terdapat penelitian terkait dengan aktivitas antibakteri dari rimpang gandasuli, dengan hasil rimpang gandasuli memiliki potensi untuk menghambat bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* dan *Sarcina lutea*) maupun bakteri gram negatif (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Shigella shiga*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi*) (Aziz, 2009).

II.2. *Staphylococcus aureus*

Tinjauan tentang antibakteri *Staphylococcus aureus* meliputi klasifikasi, morfologi dan patogenesis.

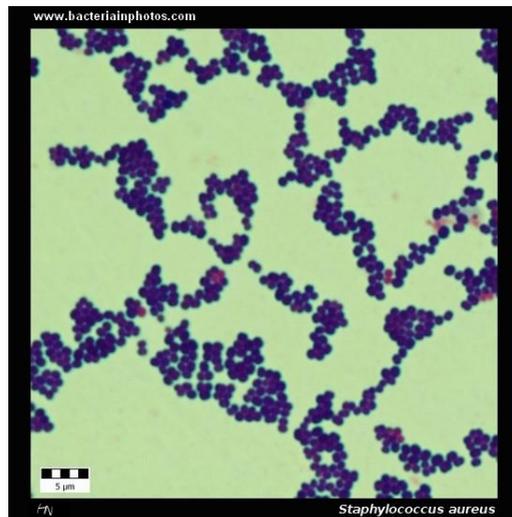
II.2.1 Klasifikasi Bakteri

Berikut merupakan klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* (Rocenbach, 1884):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylocccaceae
Genus	: <i>Stapylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

II.2.2 Morfologi

Staphylococcus adalah bakteri gram positif, yang berbentuk bulat atau lonjong dengan ukuran $\pm 0,8-1,2$ mikro, dan biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti anggur. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Lebih dari 90% isolate klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Brooks, et al, 2007).



Gambar II.2. Mikroskopik *Staphylococcus aureus* (bacteriainphotos.com)

II.2.3 Patogenesis

Staphylococcus aureus biasanya menginfeksi lokal muncul sebagai *pimple*, infeksi folikel rambut atau abses. (Anisah, 2014). Peradangan yang terjadi sering kali berlangsung hebat dan terasa

nyeri, dapat pula mengalami radang supuratif sentral yang dapat sembuh dengan cepat apabila nanah tersebut dikeluarkan. manifestasi klinis yang sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superficial tersebut dapat menyebar ke jaringan yang lebih dalam, sehingga menimbulkan osteomielitis, arthritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal, serta kelenjar *mammae*. *Staphylococcus aureus* juga diketahui sebagai bakteri yang mengkontaminasi luka pasca pembedahan sehingga dapat menimbulkan komplikasi. Patogenesis infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan hasil dari interaksi berbagai protein permukaan bakteri dengan berbagai reseptor pada permukaan sel inang. (Frank, 2003)

II.3 *Escherichia coli*

Tinjauan tentang antibakteri *Escherichia coli* meliputi klasifikasi, morfologi dan patogenesis.

II.3.1 Klasifikasi

Berikut merupakan klasifikasi dari *Escherichia coli* (Castellani dan Chalmers, 1919):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

II.3.2 Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, saling terlepas antara satu dengan yang lain, tetapi ada juga yang diplobasil dan membentuk rantai pendek. *Escherichia coli* tidak memiliki kapsul dan tidak berspora. Ada yang dapat bergerak (motil) dan ada yang tidak. *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerob fakultatif dan aerob (Pelczar dan Chan, 1988).



Gambar II.3. Mikroskopik *Escherichia coli* (bacteriainphotos.com)

II.3.3 Patogenesis

Escherichia coli merupakan flora normal di dalam usus besar manusia, sehingga *Escherichia coli* sebenarnya tidak berbahaya. Namun beberapa jenis *Escherichia coli* seperti *Shiga toxin-producing Escherichia coli* (STEC) menghasilkan racun yang dapat ditularkan melalui makanan yang terkontaminasi, seperti produk makanan mentah. *Escherichia coli* juga dapat menjadi patogen apabila jumlahnya melebihi dari jumlah normalnya (Pelczar dan Chan, 1988).

II.4 Tetrasiklin

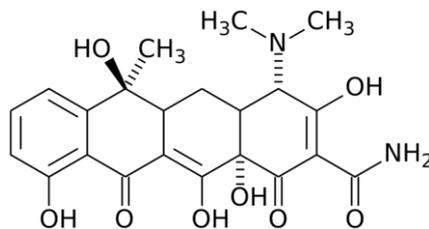
Tinjauan tentang antibiotic Tetrasiklin meliputi uraian umum, aktivitas dan penggunaan klinis.

II.4. 1 Uraian Umum Tetrasiklin

Rumus Molekul: $C_{22}H_{24}N_2O_8$

Bobot Molekul: 444,43

Rumus Bangun:



Gambar II.4. Struktur Kimia Tetrasiklin (encyclopedia.com)

Pemerian: Tetrasiklin berupa serbuk hablur, berwarna kuning dan tidak berbau. Tetrasiklin stabil di udara, tetapi pada pemaparan dengan cahaya matahari kuat menjadi gelap. Di dalam larutan yang memiliki pH kurang dari 2, potensi tetrasiklin berkurang dan cepat rusak dalam larutan alkali hidroksida (Depkes RI, 2014).

Kelarutan: Tetrasiklin sangat sukar larut dalam air; mudah larut dalam larutan asam encer dan dalam larutan alkali hidroksida; sukar larut dalam etanol; dan praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter (Depkes RI, 2014).

Wadah dan Penyimpanan: Tetrasiklin sebaiknya disimpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya (Depkes RI, 2014).

Penandaan: Pada etiket harus menunjukkan bahwa hanya digunakan untuk pembuatan obat nonprenteral (Depkes RI, 2014).

II.4.2 Aktivitas Antimikroba

Tetraskilin merupakan antibiotik spektrum luas, yang dapat menghambat bakteri dari golongan gram negatif dan gram positif. Tetrasiklin memiliki mekanisme menghambat atau menghambat sintesis protein pada bakteri dengan cara mengganggu fungsi subunit 30s ribosom dan dapat memungkinkan juga mengganggu fungsi subunit 50s ribosom (medscape.com)

II.4.3 Penggunaan Klinis

Tetrasiklin digunakan dalam pengobatan beberapa infeksi bakteri, seperti infeksi saluran kemih, *acne*, *gonorrhea*, *chlamydia*, kolera dan lain-lain. Pada pengobatan saat masa kehamilan tetrasiklin tercantum dalam kategori D untuk efek ke sistemik, dimana obat dalam kategori D hanya diberikan untuk keadaan darurat yang menyangkut nyawa pasien dan tidak ada obat yang lebih aman digunakan. Sedangkan untuk efek ke jaringan periodontal, tetrasiklin termasuk kategori C, yaitu penggunaan tetrasiklin jangka panjang akan mengakibatkan perubahan warna pada gigi dan menyebabkan pertumbuhan anak terganggu (medscape.com).

II.5 Metode Ekstraksi

Dalam analisa tumbuhan diperlukan metode pemisahan, pemurnian, dan identifikasi kandungan yang terdapat dalam tumbuhan yang sifatnya berbeda-beda. Pada buku Metode Fitokimia, Harborne

(1987) menjelaskan bahwa menganalisa fitokimia dapat digunakan jaringan tumbuhan segar atau kering sebelum diekstraksi.

Ekstraksi tanaman obat merupakan proses pemisahan sejumlah tanaman obat secara kimia atau fisika menggunakan suatu pelarut tertentu. Dalam praktiknya, ekstraksi tanaman obat ini merupakan ekstraksi padat-cair. Ekstraksi tanaman obat tersebut berlangsung dalam dua proses secara paralel, yaitu pelepasan bahan yang akan diekstraksi melalui proses di dalam sel tanaman yang telah rusak dan pelepasan bahan yang akan diekstraksi melalui proses difusi (Agoes, 2007)

Pemilihan ekstraksi yang tepat bergantung pada tekstur dan kandungan air dari tanaman yang akan diekstraksi (Harborne, 1987). Adapun parameter yang mempengaruhi proses ekstraksi, yaitu (Agoes, 2007):

1. Pengembangan bahan tanaman

Sebelum melakukan ekstraksi harus dilakukan perlakuan awal terhadap simplisia tanaman yang akan diekstraksi menggunakan pelarut. Tujuan dari perlakuan awal tersebut adalah untuk mencegah pengembangan simplisia di dalam kemasan atau wadah tertutup, menjamin proses pembasahan merata pada simplisia dan meningkatkan porositas dinding sel sehingga difusi zat aktif menjadi mudah.

2. Difusi, pH, ukuran partikel dan suhu

Pelarut yang digunakan harus berdifusi masuk ke dalam sel, lalu zat aktif harus cukup larut dalam pelarut tersebut. Sehingga akan

dicapai kesetimbangan antara zat terlarut dan pelarut. Kecepatan mencapai kesetimbangan tersebut bergantung pada pH, ukuran partikel dan suhu.

3. Pilihan pelarut ekstraksi

Pelarut yang ideal adalah pelarut yang menunjukkan selektivitas maksimal, mempunyai kapasitas terbaik dan kompatibel dengan sifat-sifat bahan yang akan diekstraksi.

Metode ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin. Salah satu contoh ekstraksi dengan cara dingin adalah maserasi, sedangkan ekstraksi cara panas adalah refluks.

II.5.1 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu proses ekstraksi dengan cara dingin. Maserasi merupakan proses ekstraksi yang paling sederhana, menggunakan pelarut yang cocok dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (Ditjen POM, 2000). Maserasi digunakan untuk mengekstrak senyawa atau zat aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara merendam 10 bagian serbuk simplisia dalam 75 bagian pelarut (Ditjen POM, 1986).

II.5.2 Refluks

Refluks merupakan salah satu contoh metode ekstraksi dengan cara panas. Refluks dilakukan dengan suatu pelarut pada suhu didihnya, selama waktu tertentu dan dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik atau kondensor. Refluks

umumnya dilakukan pengulangan pada residu pertama sebanyak 3-5 kali.

II.6 Metode Pengujian Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri dari produk alam dibagi menjadi tiga, yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik skrining secara kualitatif, karena hanya akan menunjukkan ada tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba (Choma, 2010).

II.6.1 Metode Difusi

Terdapat tiga jenis metode difusi, yaitu difusi cakram, difusi silinder dan difusi *hole plate*. Dalam metode difusi cakram, kertas cakram (berdiameter ± 6 mm) yang mengandung senyawa uji ditempatkan di atas permukaan agar yang sebelumnya telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Senyawa uji tersebut akan berdifusi ke dalam media agar, dan akan menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Setelah itu, cawan petri diinkubasi, kemudian zona hambatnya diukur. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan secara visual, dengan cara melihat ada tidaknya zona bening dan diameter penghambatan (Choma, 2010).

II.6.2 Bioautografi

Bioautografi merupakan suatu metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi dan antiviral. Bioautografi juga merupakan

suatu metode yang cepat untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui yang mana metode kimia atau fisika yang terbatas untuk substansi yang murni. Sementara deteksi kimia reaksi warna hanya spesifik digunakan sebagai pembanding hasil bioautografi sehingga kedua metode tersebut saling melengkapi. (Stahl, 1985).

Ada beberapa syarat yang harus dipenuhi sebelum melakukan uji bioautografi antara lain : (Wagmon & Wenstein, 1983)

1. Sterilisasi alat dan proses pengerjaannya
2. Ada media yang cocok untuk pertumbuhan mikroba uji
3. Ada mikroba uji yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri senyawa uji
4. Senyawa yang akan dianalisis diduga memiliki aktivitas membunuh atau menghambat bakteri

Bioautografi dalam uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu bioautografi kontak, bioautografi *agar overlay*, dan bioautografi langsung (Choma, 2005).

a) Bioautografi kontak

Bioautografi kontak dilakukan dengan meletakkan lempengan kromatogram hasil elusi dari senyawa uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Adanya aktivitas antibakteri dari senyawa uji ditandai dengan adanya zona bening.

b) Bioautografi *agar overlay*

Bioautografi *agar overlay* dilakukan dengan melapisi lempeng kromatogram hasil elusi senyawa uji dengan media agar cair yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Setelah agar mengeras,

lempengan kromatogram diinkubasi dan diwarnai dengan *tetrazolium dye*. Penghambatan dapat dideteksi dengan terbentuknya pita (*band*).

c) Bioautografi langsung

Bioautografi langsung dilakukan dengan menyemprot lempeng kromatogram hasil elusi senyawa uji dengan mikroba uji dan diinkubasi. Zona hambat yang terbentuk divisualisasikan dengan menyemprot lempeng kromatogram dengan *tetrazolium dye*.

Bioautografi kontak lebih mudah dilakukan dan hasilnya telah jelas terlihat. Metode bioautografi dalam mendeteksi komponen yang aktif sebagai antibakteri memiliki beberapa keuntungan dan kerugian, sebagai berikut: (Rudi, 2010)

Keuntungan

1. Dapat mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antibiotik, dan antiviral.
2. Dapat digunakan untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui mekanismenya.
3. Merupakan metode yang sederhana dan mudah dilakukan.
4. Cepat dalam pengerjaannya.

Kerugian:

1. Tidak bisa digunakan untuk senyawa yang tidak mempunyai aktivitas membunuh ataupun menghambat mikroorganisme.
2. Hasil tidak valid karena kemungkinan adanya kontaminan dari luar atau karena zat yang diidentifikasi tidak mengandung khasiat bakteri antibakteri.
3. Mempunyai faktor kesalahan yang besar

Bab III Metodologi Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium untuk menguji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan uji bioautografi dari ekstrak etanol rimpang gandasuli yang akan dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu penyiapan bahan, karakterisasi, penapisan fitokimia, ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri.

Bahan tanaman yang digunakan adalah rimpang gandasuli yang didapat dari daerah Manoko, Lembang Jawa Barat, yang mengalami proses sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering, serta determinasi botani untuk pengujian kebenaran bahan alam.

Pengujian karakteristik simplisia meliputi penetapan kadar air, susut pengeringan, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol.

Penapisan fitokimia sampel untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam rimpang gandasuli meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/terpenoid.

Ekstraksi dilakukan dengan dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin. Ekstraksi cara panas dengan cara refluks, sedangkan cara dingin dengan cara maserasi, masing-masing menggunakan pelarut etanol.

Pengujian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri dengan cara difusi agar terhadap bakteri *Staphyloccus aureus* dan *Escherichia coli*, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol rimpang gandasuli pada berbagai konsentrasi dengan tetrasiklin sebagai pembanding.

Penentuan golongan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri dengan metode bioautografi kontak. Hasil bioautografi tersebut dikonfirmasi dengan hasil kromatografi lapis tipis menggunakan berbagai pereaksi penampak bercak yang spesifik.