

Proposal Skripsi

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA
EKSTRAK PETROLEUM ETHER UMBI TEKI (*Cyperus rotundus* L.)**



USULAN PENELITIAN

Ditulis dan diajukan untuk menyusun skripsi S1 Jurusan Kimia

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

SURAKARTA

2010

PERSETUJUAN

Proposal Skripsi Mahasiswa:
Liestanti Mei Ningtyas
M 0304045

Dengan Judul
ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA EKSTRAK
PETROLEUM ETHER UMBI TEKI
(*Cyperus rotundus* L.)

Disetujui oleh Pembimbing untuk Dikerjakan
Surakarta, 2 Desember 2010

Pembimbing I

Pembimbing II

Soerya Dewi Marliyana, M.Si
NIP. 19690313 199702 2001

Nestri Handayani, M.Si,Apt.
NIP. 19701211 200501 2001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Drs. Sentot Budi Rahardjo, PhD
NIP. 19560507 198601 1001

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar belakang masalah.....	1
B. Perumusan masalah.....	3
1. Identifikasi masalah.....	3
2. Batasan masalah.....	5
3. Rumusan masalah.....	6
C. Tujuan penelitian.....	6
D. Manfaat penelitian.....	7
BAB II. LANDASAN TEORI.....	8
A. Tinjauan pustaka.....	8
1. Tanaman teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.).....	8
a. Klasifikasi tanaman.....	8
b. Deskripsi tanaman.....	9
c. Manfaat tanaman.....	9
d. Kandungan kimia tanaman.....	10
2. Ekstraksi.....	11
3. Skrining fitokimia.....	12
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	13
5. GC-MS.....	14
6. Bakteri.....	16
a. <i>Salmonella typhi</i>	18

b. <i>Bacillus cereus</i>	20
c. <i>Escherichia coli</i>	21
d. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
7. Antibiotik.....	26
8. Amoksisilin.....	28
9. Uji aktivitas antibakteri.....	29
a. Metode difusi.....	30
1. Metode silinder.....	30
2. Metode lubang.....	30
3. Metode cakram kertas.....	30
b. Metode dilusi.....	30
1. Metode pengenceran tabung.....	31
2. Metode pengenceran agar.....	31
B. Kerangka pemikiran.....	32
C. Hipotesis.....	34
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	35
A. Metode penelitian.....	35
B. Waktu dan tempat penelitian.....	35
C. Alat dan bahan.....	35
1. Alat-alat yang digunakan.....	35
2. Bahan-bahan yang digunakan.....	36
a. Bahan penelitian.....	36
b. Bahan kimia.....	36
c. Bahan bukan kimia.....	36
d. Bakteri uji.....	36
e. Media bakteri.....	36
f. Zat pembanding antibakteri.....	36
D. Prosedur penelitian.....	36
1. Determinasi bahan awal.....	36
2. Persiapan sampel.....	37
3. Ekstraksi sampel.....	37

4. Identifikasi komponen kimia.....	37
5. Uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter.....	37
a. Sterilisasi alat.....	37
b. Pembuatan media agar miring.....	38
c. Pembuatan biakan bakteri.....	38
d. Uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter.....	38
e. Penentuan KHM ekstrak petroleum eter.....	39
f. Penentuan nilai uji banding.....	39
E. Teknik pengumpulan dan analisis data.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbedaan bakteri gram positif dan gram negatif.....	18



DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Tanaman teki.....	8
Gambar 2.	Alat GC - MS.....	15
Gambar 3.	Struktur dasar sel bakteri.....	17
Gambar 4.	Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	18
Gambar 5.	Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	20
Gambar 6.	Bakteri <i>Escherichia coli</i>	21
Gambar 7.	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
Gambar 8.	Struktur kimia amoksisilin.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Diagram alir prosedur penelitian.....	44



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia kaya akan berbagai bahan alam, khususnya bahan tanaman. Banyak tanaman yang telah dimanfaatkan penduduk sebagai obat tradisional. Pada saat ini pemanfaatan tumbuhan obat tradisional cenderung semakin meningkat sebagai suatu alternatif pengobatan. Hal ini antara lain disebabkan semakin mahalnya obat-obat modern sehingga tidak dapat dijangkau lagi oleh kalangan menengah kebawah dan juga disebabkan pengobatan modern tidak selalu memberikan hasil seperti yang diinginkan hingga konsep “Kembali ke Alam” tengah menjadi fenomena sebagian besar anggota masyarakat (Yuliasari, 2007).

Salah satu tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai tumbuhan obat berkhasiat adalah *Cyperus rotundus L.* yang lebih dikenal dengan nama rumput teki. Rumput teki atau lebih tepatnya tanaman teki merupakan herba menahun yang tumbuh liar dan kurang mendapat perhatian, padahal bagian tumbuhan ini terutama umbinya dapat digunakan sebagai bahan obat (Yuliasari, 2007).

Manfaat umbi teki antara lain sebagai obat cacingan, obat kencing batu, obat sakit perut, obat untuk memperlancar buang air kecil (kencing), obat penghilang rasa sakit (analgetik), air pencuci anti keringat dan obat untuk mengatasi gangguan pencernaan seperti mual, muntah, nyeri lambung. Air rebusan umbi teki bermanfaat untuk menyembuhkan keputihan, sakit waktu haid, obat pengatur haid (menormalkan siklus haid), obat sakit gigi, obat borok, melunakkan feces, mempercepat pembekuan darah pada luka baru dan obat untuk penyakit mulut (obat untuk kumur). Di daerah Jawa, akar teki digunakan sebagai obat kecut (anti kejang) terhadap sakit mencret (diare) (Achyad dan Rasyidah, 2000). Ekstrak 20 % etanol umbi teki dapat berfungsi sebagai analgetik (penghilang rasa sakit) dan antipiretik (menurunkan panas badan/demam) (Sudarsono dkk., 1996). Selain itu, ekstrak etanol dari umbi teki juga berfungsi sebagai anti inflamasi (anti radang) (Raharja, 1994) dan pengurang rasa nyeri pada mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan (Puspitasari dkk., 2003).

Beberapa informasi tentang komponen kimia yang terkandung dalam tanaman teki telah ada, antara lain akar teki mengandung alkaloid, glikosida jantung, flavonoid dan minyak atsiri sebanyak 0,3-1% yang isinya bervariasi, tergantung daerah asal tumbuhnya. Akar yang berasal dari Jepang berisi siperol, siperen I & II, α -siperon, siperotundon dan siperolon, sedangkan yang berasal dari China berisi patkulenon dan siperen (Achyad dan Rasyidah, 2000). Dharmananda (2005) menyebutkan bahwa dalam minyak atsiri rimpang teki ditemukan adanya senyawa α -siperon, β -selinen, siperen, isosiperol, dan siperon. Minyak atsiri umbi teki yang berasal dari daerah Kayen, kabupaten Pati mengandung α -Gurjunena, β -selinen, spatulenol, (-)-kariofilena oksida dan aristolon (Astuti, 2006). Ekstrak petroleum eter umbi teki yang berasal dari daerah Kayen, kabupaten Pati mengandung terpenoid, karboksilat jenuh dan tak jenuh sedangkan ekstrak etanol umbi tekinya mengandung terpenoid, glikosida, karboksilat jenuh dan tak jenuh (Yuliasari, 2007).

Aktivitas antibakteri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa dari golongan terpenoid (Daisy, 2008). Uji aktivitas antibakteri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) pernah dilakukan. Berdasarkan penelitian Alifatun Solihah (2008) minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dari daerah Kartasura pada konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat berturut-turut 20 mm dan 11,3 mm, sedangkan nilai KHM terhadap *Salmonella typhi* adalah 100% dan terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 50%. Menurut Wahyono (1992), minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dari daerah Sleman, Yogyakarta mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan KHM 50 %. Berdasarkan penelitian Wahyono (1992), semakin besar kadar minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) yang digunakan maka semakin luas daerah hambatnya.

Sekarang ini banyak terdapat penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Bakteri tersebut bersifat patogen sehingga berbahaya bagi sel inangnya. *Bacillus cereus* merupakan penyebab keracunan makanan, diare, infeksi mata, keratitis berat, endoftalmitis, panoftalmitis, pneumonia, osteomielitis, meningitis (radang selaput otak) dan endokarditis (radang pada lapisan dalam jantung). *Salmonella typhi* menyebabkan demam tifoid. *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit diare, infeksi pada saluran

kencing yang ditandai dengan susah buang air kecil dan ada darah dalam urine. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan penyakit *pneumonia nekrotika* serta menginfeksi darah yang menimbulkan sepsis yang fatal, mata, saluran kencing dan luka bakar yang menghasilkan nanah (borok) (Jawetz *et al.*, 2005).

Akhir – akhir ini, banyak mikroorganisme penyebab penyakit pada manusia menunjukkan resistensi obat karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Hal tersebut menyebabkan bahan antibiotik sintesis menjadi tidak efektif lagi dan bahkan terkadang memberikan efek samping (Nwinyi *et al.*, 2009). Karena itu, diperlukan penelitian untuk mengembangkan antibiotik dari bahan alam, khususnya tanaman.



B. Perumusan Masalah

1. Identifikasi Masalah

Cyperus rotundus L. atau rumput teki tumbuh liar ditempat terbuka seperti di tanah kosong, tegalan, lapangan rumput, pinggir jalan atau di lahan pertanian. Rumput teki terdiri dari daun, batang, akar, dan umbi yang masing-masing mempunyai kandungan kimia yang berbeda-beda. Selain itu tempat tumbuh rumput teki juga mempengaruhi kandungan kimia di dalamnya. Bagian yang biasa digunakan sebagai bahan obat adalah umbinya.

Isolasi komponen kimia ekstrak non polar suatu bahan alam dapat dilakukan dengan cara seperti maserasi, perkolasi dan soxhletasi dengan pelarut non polar. Komponen kimia pada ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) merupakan senyawa yang volatil atau mudah menguap, maka diperlukan suatu metode yang efektif dalam mengisolasi. Metode yang digunakan untuk mengisolasi komponen kimia pada ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dalam penelitian ini adalah dengan cara soxhletasi dengan pelarut petroleum eter.

Identifikasi komposisi senyawa kimia ekstrak suatu bahan alam dapat dilakukan dengan analisis data dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Gas (GC), Kromatografi Gas – Spektrofotometer Massa (GC-MS), Spektrometer Infra Merah (IR), Spektrometer *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis), Spektrometer Resonansi Magnetik Inti (NMR) dan Spektrometer Massa (MS). Berdasarkan penelitian Nurani Yuliasari (2007), ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) mengandung senyawa golongan terpenoid dan karboksilat jenuh maupun tak jenuh, sehingga diperlukan suatu metode yang tepat untuk mengidentifikasi senyawa kimia tersebut. Oleh karena itu, identifikasi komponen senyawa kimia dari ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dalam penelitian ini dilakukan dengan analisis data dari skrining fitokimia dengan plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan data dari Kromatografi Gas – Spektrofotometer Massa (GC-MS).

Ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa dari golongan terpenoid, sehingga mempunyai keaktifan biologis sebagai antibakteri (Yuliasari, 2007). Oleh karena itu, diperlukan metode yang tepat untuk mengetahui keaktifan biologis dari ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) tersebut. Uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Pada metode difusi dapat dilakukan dengan difusi agar yaitu dengan menggunakan lubang (perforasi) dan gores silang. Pada penelitian ini, uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar.

Umbi teki dapat bermanfaat sebagai obat demam, mual, muntah-mintah dan diare yang merupakan gejala demam tifoid yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Selain itu, umbi teki juga dapat mengatasi gangguan pencernaan seperti mual, muntah, diare yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus cereus*, infeksi saluran kencing yang ditandai dengan susah buang air kecil yang disebabkan karena bakteri *Escherichia coli* dan sebagai obat luka bakar yang menghasilkan nanah (borok) yang ditimbulkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) menggunakan bakteri gram positif: *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotika digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi akibat kuman atau juga untuk prevensi infeksi, misalnya pada pembedahan besar (Tjay dan Rahardja, 2002). Salah satu antibiotik yang umum digunakan adalah amoksisilin. Amoksisilin adalah turunan penisilin yang tahan asam tetapi tidak tahan terhadap penisilinase. Amoksisilin merupakan antibiotika dengan spektrum luas yang efektif baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2. Batasan Masalah

- a. Rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) didapat dari daerah Piyungan, Kabupaten Bantul dan bagian yang digunakan adalah umbinya.
- b. Isolasi ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan cara soxhletasi menggunakan pelarut petroleum eter.
- c. Identifikasi komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan menggunakan skrining fitokimia dengan plat KLT dan analisis data GC-MS.
- d. Pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan metode difusi dengan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji potensi antibakteri dengan pembandingan amoksisilin.
- e. Pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap empat bakteri, yaitu bakteri gram positif: *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Rumusan Masalah

- a. Bagaimana komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) yang berasal dari daerah Piyungan, Kabupaten Bantul dengan analisis data GC-MS?
- b. Apakah ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif: *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap masing-masing bakteri?
- c. Bagaimana potensi antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dibandingkan dengan amoksisilin?

C. Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) yang berasal dari daerah Piyungan, Kabupaten Bantul dengan analisis data GC-MS.
- b. Mengetahui aktivitas antibakteri dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap bakteri gram positif: *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.
- c. Mengetahui potensi antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dibandingkan dengan amoksisilin.

D. Manfaat Penelitian

- a. Secara praktis, dapat memberikan informasi mengenai komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) sebagai salah satu tanaman obat dan memberikan informasi mengenai pertumbuhan bakteri yang dapat dihambat oleh umbi teki (*Cyperus rotundus L.*).
- b. Secara teoritis, dapat memberikan sumbangan tentang manfaat umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) sebagai sumber obat yang dapat digunakan sebagai obat alternatif dalam pengobatan modern.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Teki (*Cyperus rotundus* L.)

Tanaman teki (*Cyperus rotundus* L.) adalah suatu jenis tanaman setahun yang tumbuh di dataran rendah sampai dengan ketinggian 1000 m di atas permukaan laut. Tanaman teki (*Cyperus rotundus* L.) tumbuh liar ditempat terbuka atau sedikit terlindung dari sinar matahari seperti di tanah kosong, tegalan, lapangan rumput, pinggir jalan atau lahan pertanian. Tanaman teki (*Cyperus rotundus* L.) tumbuh sebagai gulma yang susah diberantas (Wijayakusuma, 2005). Tanaman teki dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Teki (*Cyperus rotundus* L.)

a. Klasifikasi Tanaman

Menurut Sugati S. dan Hutapea J.R. (1991), Klasifikasi teki adalah sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Cyperales
Famili : Cyperaceae
Genus : Cyperus
Spesies : *Cyperus rotundus* L.

b. Deskripsi Tanaman

Tanaman teki (*Cyperus rotundus* L.) hidup sepanjang tahun dengan ketinggian mencapai 10 sampai 75 cm. Biasanya tanaman liar ini tumbuh dikebun, di tanah kosong, tegalan, lapangan rumput dan di pinggir jalan. Tanaman teki (*Cyperus rotundus* L.) biasanya tumbuh di dataran rendah sampai dengan ketinggian 1000 m di atas permukaan laut. Tanaman ini mudah dikenali karena bunganya yang berwarna hijau kecoklatan, terletak di ujung tangkai dengan tiga tunas helm, benang sari berwarna kuning jernih, membentuk bunga-bunga berbulir, mengelompok menjadi satu berupa payung. Ciri khasnya terletak pada buah-buahannya yang berbentuk kerucut besar pada pangkalnya, kadang-kadang melekok berbentuk berwarna coklat, dengan panjang 1,5-4,5 cm dengan diameter 5-10 mm. Daunnya berbentuk pita, berwarna mengkilap dan terdiri dari 4-10 helai, terdapat pada pangkal batang membentuk rozel akar, dengan pelepah daun tertutup tanah. Pada rimpangnya yang sudah tua terdapat banyak tunas yang menjadi umbi berwarna coklat atau hitam. Rasanya sepat kepahitan dan baunya seperti rempah-rempah (Achyad dan Rasyidah, 2000).

c. Manfaat Tanaman

Manfaat umbi teki antara lain sebagai obat cacingan, obat kencing batu, obat sakit perut, obat untuk memperlancar buang air kecil (kencing), obat penghilang rasa sakit (analgetik), air pencuci anti keringat dan obat untuk mengatasi gangguan pencernaan seperti mual, muntah, nyeri lambung. Air rebusan umbi teki bermanfaat untuk menyembuhkan keputihan, sakit waktu haid, obat pengatur haid (menormalkan siklus haid), obat sakit gigi, obat borok, melunakkan feces, mempercepat pembekuan darah pada luka baru dan obat untuk penyakit mulut (obat untuk kumur). Di daerah Jawa, akar teki digunakan sebagai obat kecut (anti kejang) terhadap sakit mencret

(diare) (Achyad dan Rasyidah, 2000). Ekstrak 20 % etanol umbi teki dapat berfungsi sebagai analgetik (penghilang rasa sakit) dan antipiretik (menurunkan panas badan/demam) (Sudarsono dkk., 1996). Selain itu, ekstrak etanol dari umbi teki juga berfungsi sebagai anti inflamasi (anti radang) (Raharja, 1994) dan pengurang rasa nyeri pada mencit putih (*Mus mukululus L.*) jantan (Puspitasari dkk., 2003).

d. Kandungan Kimia Tanaman

Tanaman teki (*Cyperus rotundus L.*) seperti tanaman yang lain, mempunyai banyak kandungan kimia, beberapa diantaranya menunjukkan aktivitas farmakologi, tetapi komponen yang utama adalah seskuiterpen. Seskuiterpen bersifat aromatik dan berasa pedas. Di antara seskuiterpen yang utama yang teridentifikasi dalam rimpang teki sejauh ini adalah: α -siperon, β -selinen, siperen, siperotundon, patkulenon, sugeonol, kobuson dan isokobuson. Tanaman teki (*Cyperus rotundus L.*) juga mengandung terpena yang lain, seperti yang umumnya terkandung dalam komponen tanaman pinen (sebuah monoterpena) dan beberapa turunan dari seskuiterpen, seperti siperol, isosiperol dan siperon (Dharmananda, 2005).

Akar teki mengandung alkaloid, glikosida jantung, flavonoid dan minyak atsiri sebanyak 0,3- 1% yang isinya bervariasi, tergantung daerah asal tumbuhnya. Akar yang berasal dari Jepang berisi siperol, siperen I & II, α -siperon, siperotundon dan siperolon, sedangkan yang berasal dari China berisi patkulenon dan siperen (Achyad dan Rasyidah, 2000). Dharmananda (2005) menyebutkan bahwa dalam minyak atsiri rimpang teki ditemukan adanya senyawa α -siperon, β -selinen, siperen, isosiperol, dan siperon. Minyak atsiri umbi teki yang berasal dari daerah Kayen, kabupaten Pati mengandung α -Gurjunena, β -selinen, spatulenol, (-)-kariofilena oksida dan aristolon (Astuti, 2006). Ekstrak petroleum eter umbi teki yang berasal dari daerah Kayen, kabupaten Pati mengandung α -Gurjunena (terpenoid), (-)-kariofilena oksida (terpenoid), 6-isopropenil-4-8-dimetil-naftalen-2-on (terpenoid), asam heksadekanoat (karboksilat jenuh) dan asam oktadek-9-enoat (karboksilat tak jenuh) sedangkan ekstrak etanol umbi tekinya mengandung 1,2,3-propanatriol gliserol (glikosida), 1,2,3,4-tetrahidroksibutana (glikosida), α -Gurjunena (terpenoid), (-)-kariofilena oksida (terpenoid), 6-isopropenil-4-8-dimetil-naftalen-2-on (terpenoid), asam

heksadekanoat (karboksilat jenuh) dan asam oktadek-9-enoat (karboksilat tak jenuh) (Yuliasari, 2007).

2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu komponen yang diinginkan dari penyusun-penyusun lain dalam suatu campuran berdasarkan pada perbedaan kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam bahan tumbuhan. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Metode ekstraksi yang tepat tergantung dari tekstur, kandungan air bahan tumbuhan yang akan diekstraksi dan jenis senyawa yang diisolasi. Untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (biji kering, akar maupun daun kering) pada umumnya menggunakan metode ekstraksi bersinambungan atau kontinue yang menggunakan alat soxhlet (Padmawinata, 1991).

Cara soxhletasi biasanya digunakan untuk mengekstraksi komponen kimia yang relatif tahan terhadap pengaruh pemanasan dan digunakan untuk simplisia tumbuhan dalam jumlah kecil karena terbatasnya daya tampung alat soxhlet tersebut. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses soxhletasi adalah suhu pemanasan, karena pada perlakuan suhu tinggi dapat menyebabkan terjadinya perubahan dan penguraian senyawa-senyawa yang diisolasi (Rusdi, 1990).

Cuplikan yang akan diekstrak biasanya berupa padatan yang sudah dihaluskan. Padatan ini lalu dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet. Bagian atas alat ini dihubungkan dengan pendingin, sedangkan bagian bawahnya digunakan labu alas bulat sebagai tempat pelarut. Pelarut yang ada dalam labu dipanaskan, uapnya kemudian naik dan mengembun. Setelah ruang soxhlet dipenuhi pelarut sampai batas tertentu, pelarut yang telah membawa solut akan turun ke labu pemanas. Proses ini akan berlangsung secara terus-menerus sampai mencapai 20 sirkulasi (Rusdi, 1990).

Keuntungan ekstraksi dengan soxhlet adalah dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, membutuhkan pelarut yang lebih sedikit, tidak memakan banyak waktu dalam proses pengerjaannya dan pemanasannya dapat diatur sedangkan kerugiannya adalah cara pengerjaan serta peralatan yang digunakan tidak sederhana dan rumit, selain itu karena pelarut didaur ulang, ekstrak yang terkumpul pada labu alas bulat terus-menerus dipanaskan sehingga dapat menyebabkan reaksi penguraian oleh panas (Pambayun dkk., 2007).

Teknik ekstraksi yang lain adalah maserasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk bahan dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Rusdi, 1990).

Keuntungan ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan sedangkan kerugiannya adalah tidak dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak, tahan terhadap pemanasan secara langsung, membutuhkan banyak pelarut, memakan banyak waktu dalam proses pengerjaannya dan pemanasannya tidak dapat diatur (Pambayun dkk., 2007).

3. Skrining Fitokimia

Pendekatan skrining fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan kimia dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, buah, bunga, biji), terutama kandungan metabolit sekunder yang bioaktif, yaitu alkaloid, antrakinon, flavonoid, glikosida jantung, kumarin, saponin (steroid dan triterpenoid), tanin (polifenolat), minyak atsiri (terpenoid) dan sebagainya. Adapun tujuan pendekatan skrining fitokimia adalah mengetahui kandungan bioaktif atau kandungan yang berguna untuk pengobatan dalam tumbuhan (Farnsworth, 1996).

Metode yang digunakan atau dipilih untuk melakukan skrining fitokimia harus memenuhi beberapa persyaratan antara lain sederhana, cepat, dapat dilakukan dengan

peralatan sederhana, khas untuk satu golongan, memiliki batas limit deteksi yang cukup lebar (dapat mendeteksi keberadaan senyawa meski dalam konsentrasi yang cukup kecil) (Kristanti dkk., 2008).

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia yang berbeda sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Rohman, 2007).

Fase diam yang digunakan dalam KLT berupa zat padat silika atau alumina yang mempunyai kemampuan mengabsorpsi bahan-bahan yang akan dipisahkan (sebagai adsorben) (Kristanti dkk., 2008). Fase gerak yang dipakai adalah pelarut tunggal atau campuran pelarut dengan perbandingan tertentu. Pemisahan yang bagus dapat dicari dengan mencoba-coba mengelusi dengan berbagai perbandingan campuran pelarut. Penelitian Hayani (2007) menggunakan berbagai perbandingan campuran pelarut untuk memisahkan komponen yang terdapat pada rimpang Temu Kunci dan didapatkan perbandingan campuran pelarut heksana : etil asetat 8,5 : 1,5 memberikan pemisahan yang bagus ditandai banyaknya noda yang dipisahkan.

Pemisahan dengan KLT dengan mudah dapat diamati jika senyawa yang dipisahkan berwarna. Namun, jika beberapa atau semua senyawa tidak berwarna harus dilakukan penampakan bercak. Bercak yang terbentuk berdasarkan hasil pengembangan diamati dibawah sinar tampak dan sinar UV. Jika senyawa yang diteliti mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik, bercak akan tampak gelap dengan latar belakang bersinar pada UV 254 nm. Pada UV 365 nm, bercak yang sama akan Nampak berpendar. Jika pengamatan di bawah sinar UV tidak dapat mendeteksi suatu senyawa, perlu dilakukan pengujian reaksi dengan penyemprotan atau penguapan suatu reagen. Pengujian berdasarkan warna dilakukan untuk uji kualitatif. KLT sering digunakan untuk

mencari sistem eluen untuk pemisahan campuran senyawa dengan kromatografi kolom (Padmawinata, 1985).

Analisa suatu senyawa dalam KLT biasanya dilakukan dengan dibandingkan terhadap senyawa standarnya. Pengamatannya yang lazim didasarkan pada kedudukan dari noda relatif terhadap batas pelarut yang dikenal sebagai harga R_f (*Retardation factor*) yang didefinisikan pada persamaan di bawah ini:

$$R_f = \frac{ds}{dp}$$

Dimana :

ds = Jarak yang ditempuh oleh senyawa dihitung dari pusat noda

dp = Jarak yang ditempuh oleh pelarut dihitung dari pusat noda

(Sastrohamidjojo, 2005)

Kelebihan KLT adalah dapat melakukan pemisahan senyawa yang sangat berbeda seperti senyawa organik alam dan organik sintetik, kompleks anorganik-organik dan bahkan ion anorganik dapat dilakukan dalam beberapa menit dengan alat yang harganya tidak terlalu mahal. Selain itu, KLT hanya memerlukan pelarut dan sampel dalam jumlah sedikit (beberapa mikrogram sampai lima gram) (Padmawinata, 1991).

5. Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (GC-MS)

Perkembangan teknologi instrumentasi menghasilkan alat yang merupakan gabungan dari dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling melengkapi, yaitu gabungan kromatografi gas dan spektroskopi massa yang dapat memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif tentang susunan atom dan molekul dalam zat organik. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektroskopi massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing komponen molekul yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000).

Analisa GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis campuran dalam jumlah kecil dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Agusta, 2000).

Instrumen GC-MS terdiri dari gas pengangkut (*Carrier Gas*), pengatur aliran dan pengatur tekanan, tempat injeksi, kolom serta detektor spektrometer massa. Alat GC-MS dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Alat GC-MS

Prinsip GC-MS adalah kolom dipanaskan pada suhu tertentu, demikian juga tempat injeksi dan detektor. Cuplikan yang berupa cairan, dimasukkan dengan sistem injeksi ke dalam kamar pemanas melalui sekat karet silikon dengan *syringe*. Dari kamar pemanas, gas pengangkut (H_2 , N_2 , Ar dan He) akan membawa cuplikan yang telah teruapkan masuk ke dalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen cuplikan. Kemudian komponen-komponen akan dideteksi oleh detektor. Pada sistem GC-MS ini, yang berfungsi sebagai detektor adalah spektrometer massa itu sendiri yang terdiri atas sistem ionisasi dan sistem analisis (Agusta, 2000).

Ada beberapa sistem ionisasi untuk analisis spektrometer massa. *Electron Impact ionization* (EI) adalah metode ionisasi yang umum digunakan. Sistem ionisasi yang terjadi adalah suatu molekul berbentuk gas dalam sistem hampa udara pada tekanan 10^{-4} sampai 10^{-6} mmHg pada suhu tertentu, dibombardir dengan arus elektron berenergi tinggi sekitar 70 eV sehingga terbentuk ion molekul. Ion yang terbentuk dalam ruang pengion akan dipercepat oleh suatu lempeng pemercepat ke dalam suatu medan magnet. Dalam medan magnet, ion tersebut dibelokkan sesuai dengan besarnya ion (berdasarkan perbandingan massa/muatan). Masing-masing komponen ion akan melewati celah pengumpul atau pendeteksi akan diperkuat dan akan terekam. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa merupakan grafik spektrum yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan (Agusta, 2000).

Sistem analisis yang umum digunakan adalah sistem kuadropol dengan empat buah batang yang mempunyai empat kutub dan terletak antara sumber ion dan detektor. Sistem pengolahan data dan identifikasi senyawa dilakukan secara komputerisasi. Hasil analisis ini diperoleh dua jenis data, yakni kromatogram dan spektra. Kromatogram memberikan informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis (jika sampel merupakan campuran). Spektra massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari masing-masing puncak pada kromatogram. Pola pemecahan atau fragmentasi molekul yang terbentuk untuk setiap komponen kimia sangat spesifik sehingga dijadikan sebagai patokan untuk menentukan struktur molekul suatu komponen kimia yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat dalam suatu bank data (Agusta, 2000).

6. Bakteri

Bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniselular, termasuk klas Schizomycetes, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai ± 10 km diatas bumi), di dalam

lumpur dan di laut. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang dan lengkung. Bakteri dapat mengalami *involusi*, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain itu dapat mengalami *pleomorfi*, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat pertumbuhan yang sesuai. Pada umumnya bakteri berukuran 0,5-10 μ (Manalu, 2003). Struktur dasar sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Dasar Sel Bakteri

Bakteri dibagi menjadi dua golongan, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang perbedaannya ditunjukkan pada Tabel 1. Perbedaan golongan bakteri ini dapat ditentukan dengan pewarnaan bakteri. Bakteri diwarnai dengan zat warna violet dan yodium, dibilas dengan alkohol, kemudian diwarnai lagi dengan zat warna merah. Struktur dinding sel akan menentukan respon pewarnaan. Bakteri gram positif yang sebagian besar dinding selnya terdiri dari peptidoglikan akan menyerap warna violet. Bakteri gram negatif memiliki lebih sedikit *peptidoglikan*, yang terletak di suatu gel *periplasmik* antara membran plasma dan suatu membran bagian luar. Zat warna violet yang digunakan dalam pewarnaan gram sangat mudah dibilas oleh alkohol pada bakteri gram negatif, tetapi selnya tetap menahan zat warna merah (Campbell *et al.*, 2003).

Tabel 1. Perbedaan bakteri gram positif dan gram negatif.

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram positif	Gram negatif
Struktur dinding sel	<ul style="list-style-type: none"> • Tebal (15 - 80 nm) • Berlapis tunggal (mono) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipis (10 - 15 nm) • Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	<ul style="list-style-type: none"> • Kandungan lipid rendah (1 - 4%) • Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri. • Memiliki asam teikoat 	<ul style="list-style-type: none"> • Kandungan lipid tinggi (11 - 22%) • Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit; merupakan sekitar 10% berat kering • Tidak memiliki asam teikoat
Kerentanan terhadap penisilin	<ul style="list-style-type: none"> • Lebih rentan 	<ul style="list-style-type: none"> • Kurang rentan
Persyaratan nutrisi	<ul style="list-style-type: none"> • Relatif rumit pada banyak spesies 	<ul style="list-style-type: none"> • Relatif sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	<ul style="list-style-type: none"> • Lebih resisten 	<ul style="list-style-type: none"> • Kurang resisten

(Pelczar dan Chan, 1986)

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. *Salmonella typhi*

Gambar 4. *Salmonella typhi*

Klasifikasi *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Protophyta
Class : Schizomycetes
Order : Eubacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*
Spesies : *Salmonella typhi*

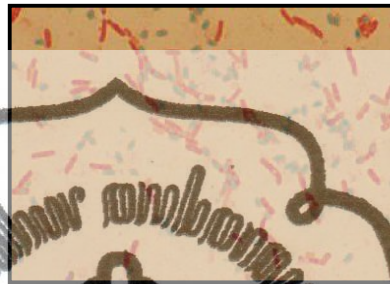
(Salle, 1961)

Salmonella typhi berbentuk batang lurus dengan ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora dan mempunyai flagel peritrikus. Bakteri ini tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15 – 41 °C (suhu pertumbuhan optimum 37,5 °C) dan pH pertumbuhan 6-8. *Salmonella typhi* dapat mati pada suhu 56 °C juga pada keadaan kering sedangkan dalam lingkungan air dapat bertahan selama 4 minggu (Syahruracman *et al.*, 1994).

Salmonella typhi sering kali patogen terhadap manusia atau binatang apabila masuk melalui mulut, ditularkan dari binatang dan produk binatang kepada manusia sehingga menimbulkan demam tifoid. Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut yang biasanya terdapat pada saluran pencernaan dengan gejala demam yang lebih dari 7 hari dan gangguan pada saluran pencernaan dengan atau tanpa gangguan kesadaran (Jawetz *et al.*, 2005). Gejala dini penyakit demam tifoid adalah demam, perut kembung, sukar buang air besar, pusing, lesu, tidak bersemangat, tidak nafsu makan, mual, muntah. Diare biasanya terjadi selama minggu kedua dan mungkin terdapat darah dalam tinja dan apabila tidak segera diobati, demam tifoid dapat menyebabkan kematian (Pelczar dan Chan, 1988). *Salmonella typhi* memiliki 3 macam antigen yaitu antigen O (somatik berupa kompleks polisakarida), antigen H (flagel), dan antigen Vi (Jawetz *et al.*, 2005). Antigen O tahan terhadap pemanasan 100 °C, alkohol dan asam sedangkan antigen H rusak pada pemanasan 60 °C, alkohol dan asam. Antigen Vi merupakan polimer dari polisakarida yang bersifat asam bagian yang paling luar kuman dan dapat rusak pada pemanasan 60 °C dengan penambahan fenol dan asam (syahruracman *et*

al., 1994). Serum penderita demam tifoid akan terbentuk antibodi terhadap ketiga macam antigen tersebut.

b. *Bacillus cereus*



Gambar 5. *Bacillus cereus*

Klasifikasi *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus cereus*

(Salle, 1961)

Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif, aerob fakultatif dan dapat membentuk spora. Selnya berbentuk batang besar dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya. Sporanya resisten terhadap perubahan lingkungan, tahan terhadap panas kering dan desinfektan kimia tertentu dalam waktu yang cukup lama dan dapat bertahan selama bertahun - tahun pada tanah yang kering. Genus *Bacillus* lazim terdapat dalam tanah, air, udara dan tumbuh - tumbuhan. Basil saprofit ini menggunakan sumber nitrogen dan karbon sederhana untuk pertumbuhannya. Keberadaan *Bacillus cereus* dalam jumlah besar (lebih dari 10^6 organisme/g) dalam makanan merupakan indikasi

adanya pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri secara aktif, dan berpotensi membahayakan kesehatan. *Bacillus cereus* dapat tumbuh dalam makanan dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan.

Keracunan makanan karena *Bacillus cereus* mempunyai dua bentuk yang berbeda, jenis muntah (*emetic type*) yang berkaitan dengan nasi yang tercemar dan jenis diare (*diarrheal type*) yang berkaitan dengan daging dan saus. *Bacillus cereus* menghasilkan beberapa enterotoksin, penyebab diare yang lebih bersifat keracunan daripada infeksi lewat makanan. Bentuk muntah bermanifestasi sebagai mual, muntah dan kejang otot perut, kadang-kadang diare dapat sembuh sendiri, dengan masa penyembuhan yang terjadi dalam 24 jam. Ini dimulai 1-5 jam setelah makan nasi dan kadang-kadang makan mie. Bila sejumlah besar nasi dimasak dan dibiarkan dingin perlahan-lahan, spora *Bacillus cereus* bertunas dan sel vegetatif menghasilkan toksin selama fase log pertumbuhan atau selama sporulasi. Bentuk diare memiliki masa inkubasi 1-24 jam dan terlihat sebagai diare yang terus-menerus disertai nyeri dan kejang otot, jarang terjadi demam dan muntah (Jawetz *et al.*, 2005).

Bacillus cereus adalah penyebab penting dari infeksi mata, keratitis berat, *endoftalmitis* dan *panoftalmitis*. *Bacillus cereus* juga berhubungan dengan infeksi local dan infeksi sistemik, termasuk *endokarditis*, *meningitis*, *osteomielitis* dan *pneumonia* (Jawetz *et al.*, 2005).

c. *Escherichia coli*



Gambar 6. *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Protophyta
Phylum : Schizomycetea
Class : Schizomycetes
Order : Eubacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

(Salle, 1961)

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang lurus dan bergerak dengan flagel peritrik atau tidak dapat bergerak. Ukuran sel umumnya berdiameter 0,5 μm dan panjang 1-3 μm . Koloni berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa menjadi asam dan gas, serta bersifat aerob dan anaerob (Jawetz *et al.*, 2005).

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat dalam usus halus manusia, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. Tempat yang paling sering terkena infeksi bakteri *Escherichia coli* adalah saluran kemih, saluran empedu dan tempat lain di rongga perut. Bakteri ini menghasilkan enterotoksin penyebab diare. *Escherichia coli* memproduksi enterotoksin yang tahan panas yang dapat menyebabkan diare ringan, sedangkan enterotoksin yang tidak tahan panas dapat menyebabkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus dan menghambat absorpsi Natrium. *Escherichia coli* adalah penyebab yang paling banyak dari infeksi sistem saluran kencing dan jumlah untuk infeksi saluran kencing pertama kurang lebih 90 % pada wanita muda. Gejala dan tanda-tanda meliputi frekuensi kencing, *dysuria* (susah buang air kecil), *hematuria* (ada darah dalam urine), *pyuria* (ada pus dalam urine). Selain itu, *Escherichia coli* dapat mencapai aliran darah dan menyebabkan sepsis. Sepsis dapat terjadi setelah infeksi sistem saluran kencing. *Escherichia coli* merupakan penyebab utama penyakit meningitis pada bayi yang baru lahir (Jawetz *et al.*, 2005)

d. *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 7. *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Salle, 1961)

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas di alam dan biasanya ada di lingkungan lembab di rumah sakit. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif, terlihat sebagai bentuk tunggal, berpasangan dan kadang-kadang membentuk rantai yang pendek, berbentuk batang, ukurannya $0,6 \times 2 \mu$ (Jawetz et al., 2005). Bakteri ini juga tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari, 2005).

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu $37-42^{\circ}\text{C}$, pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakan spesies ini dari spesies *Pseudomonas* yang lain. Bakteri ini bersifat oksidase positif dan tidak meragikan karbohidrat tetapi banyak strain/ galur mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya

berdasarkan pada bentuk koloni, sifat oksidasi positifnya, adanya pigmen yang khas dan pertumbuhan pada suhu 42°C. Untuk membedakan *Pseudomonas aeruginosa* dari *Pseudomonas* yang lainnya berdasarkan aktifitas biokimia membutuhkan tes dengan substrat yang banyak (Jawetz et al., 2005).

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka baru dan luka bakar yang menghasilkan nanah berwarna hijau biru (borok), meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal, infeksi saluran kencing jika masuk melalui kateter dan pneumonia nekrotika bila terjadi penyerangan pada saluran pernafasan. Pada bayi dan orang lemah, *Pseudomonas aeruginosa* mungkin masuk aliran darah dan mengakibatkan sepsis yang fatal (Jawetz et al., 2005).

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Pratiwi (2008) faktor tersebut dapat dibedakan menjadi faktor fisika dan faktor kimia.

Faktor fisika yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah faktor kondisi lingkungan hidup bakteri seperti temperatur, tekanan osmotik, pH dan oksigen.

1. Temperatur

Temperatur menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Pada temperatur yang sangat tinggi akan terjadi denaturasi protein yang tidak dapat balik, sedangkan pada temperatur yang sangat rendah aktivitas enzim akan terhenti. Bakteri membutuhkan temperatur tertentu agar pertumbuhannya optimal. Umumnya bakteri patogen membutuhkan temperatur sekitar 37° C sesuai dengan temperatur tubuh.

2. Tekanan osmosis

Mengingat sifat-sifat bakteri juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmosis, maka bakteri dalam pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis. Apabila sel berada pada media yang bersifat *hipertonis*, sel bakteri akan terhidrasi atau kerap disebut sebagai peristiwa *plasmolisis*. Bila sel berada pada media yang bersifat *hipotonis*, maka akan terjadi peristiwa *plasmoptilis* yaitu bahan yang memiliki tonisitas rendah akan masuk ke dalam membran sel yang mengakibatkan sel menggelembung dan akhirnya pecah.

3. pH

pH merupakan indikasi konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen menyebabkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel.

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH netral. Namun ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH alkalis, yakni *vibrio* membutuhkan pH antara 8 – 10 untuk pertumbuhan yang optimal.

4. Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen, dikenal mikroorganisme yang bersifat *aerob* dan *anaerob*. Mikroorganisme *aerob* memerlukan oksigen untuk bernafas sedangkan mikroorganisme *anaerob* tidak memerlukan oksigen untuk bernafas. Adanya oksigen pada organisme *anaerob* akan menghambat pertumbuhannya.

Faktor kimia yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah komponen-komponen kimia atau nutrisi dan media kultur.

1. Nutrisi

Suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan haruslah ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, vitamin dan garam.

2. Media Kultur

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat makanan yang diperlukan untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme dalam rangka isolasi memperbanyak perhitungan dan pengujian sifat fisiologik suatu mikroorganisme.

Menurut kandungannya nutrisinya, media dapat dibedakan menjadi beberapa macam antara lain:

a. Media kompleks (*complex media*)

Media kompleks merupakan media yang umumnya diperlukan karena kebutuhan nutrisi organisme tertentu tidak diketahui. Contoh dari media ini adalah *Nutrient Agar (NA)*, *Nutrien Broth (NB)*, *Tryptic Soya Broth (TSB)* dan *Tryptic Soya Agar (TSA)*.

b. Media selektif (*selective media*)

Media selektif merupakan media yang berfungsi mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu dengan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang lain.

c. Media diferensial (*differential media*)

Media ini digunakan untuk membedakan suatu kelompok mikroorganisme dan bahkan dapat digunakan untuk identifikasi suatu mikroorganisme tertentu. Contoh media ini adalah media agar darah yang mampu membedakan antara bakteri hemolitik dan bakteri non hemolitik dengan mengetahui sifat lisis erosit dari mikroorganisme tersebut.

d. Media khusus

Media khusus adalah media untuk bakteri anaerob. Biasanya ke dalam media tersebut ditambahkan bahan yang dapat mereduksi O_2 seperti sistein dan asam askorbat dengan cara pengikatan kimia.

Sterilitas media merupakan suatu syarat yang penting dalam pengujian aktivitas antibakteri suatu bahan. Pemeriksaan mikrobiologi tidak mungkin dilakukan apabila media yang digunakan tidak steril, karena mikroorganisme yang diuji atau diisolasi tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah mikroorganisme tersebut berasal dari material yang diperiksa ataukah hanya kontaminan (Jawetz *et al.*, 2005).

7. Antibiotik

Antibiotik merupakan sekelompok senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, Khususnya dalam proses infeksi. Beberapa kelompok utama antibiotik kimiawi adalah: fenol dan persenyawaan fenolat (fenol, *o*-kresol, *m*-kresol, *p*-kresol dan *o*-fenilfenol), alkohol (etil alkohol dan metil alkohol), halogen dan persenyawaannya (iodium, gas klor dan hipoklorit), logam berat dan persenyawaannya (merkuri, perak dan tembaga) serta aldehid (glutaraldehid dan formaldehid). Senyawa yang mengandung turunan hidrokarbon teroksigenasi merupakan antibiotik alami yang memiliki efek antibakteri. Suatu antibiotik haruslah memiliki toksisitas yang selektif untuk digunakan sebagai zat

kemoterapeutik. Artinya, zat tersebut harus dapat menghambat atau mematikan parasit dan tidak merusak sel inang. Selain itu, antibiotik harus mampu menembus sel dan jaringan inang serta tidak mengubah mekanisme pertahanan alamiah sel inang tersebut (Pelczar *et al*, 1986).

Toksitas selektif mungkin merupakan fungsi reseptor spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat-obatan, atau bisa karena hambatan biokimia yang bisa terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu:

a. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel.

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel, yang mengelilingi secara lengkap sitoplasma membran sel. Dinding ini mempertahankan bentuk mikroorganisme dan melindungi sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik didalam dan diluar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara konstan akan mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga akan menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan akan menyebabkan pemecahan osmotik, sehingga bakteri akan mati.

b. Penghambatan terhadap fungsi membran sel.

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif membawa fungsi transpor aktif dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Antibakteri akan berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membran bakteri akan pecah yang menyebabkan kematian bakteri.

c. Penghambatan terhadap sintesis protein (penghambatan translasi dan transkripsi material genetik).

Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom-mRNA. Walaupun manusia mempunyai ribosom, tetapi ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri, bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom. Sub unit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimianya,

dan spesifikasi fungsinya berbeda, bisa untuk menerangkan mengapa antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia.

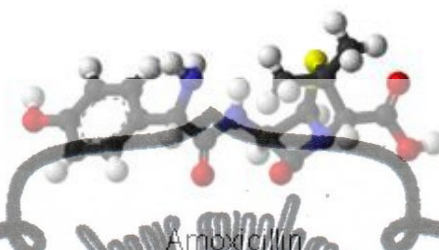
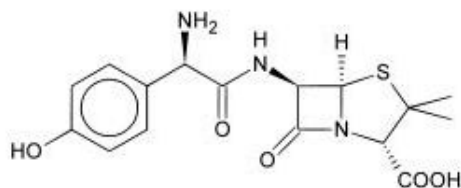
d. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Penghambatan proses pembentukan dapat terjadi pada tempat-tempat tertentu. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Karena pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein, obat akan berikatan sangat kuat pada enzim *DNA Dependent RNA Polymerase* bakteri. Jadi ini menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

Berbagai jenis antibiotik sintesis telah dikembangkan untuk melawan infeksi bakteri. Masing-masing golongan antibiotik sintetik mempunyai target penghambatan yang berbeda. Antibiotik yang dapat mempengaruhi dinding sel adalah penisilin, monobaktam, karbapenem, vankomisin, sefalosporin, isoniazid dan basitrasin. Antibiotik sintesis yang dapat menghambat sintesis protein bakteri adalah kloromfenikol, tetrasiklin, aminoglikosida dan makrolida. Antibiotik yang dapat menghambat fungsi membran sel adalah nistatin dan polimiksin sedangkan antibiotik yang dapat menghambat sintesis asam nukleat diantaranya quinolon dan rifampin (Pratiwi, 2008).

8. Amoksisilin

Amoksisilin merupakan salah satu antibiotik sintetik turunan penisilin yang memiliki spektrum luas dimana aktif terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Struktur kimia amoksisilin ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur kimia amoksisilin

Amoksisilin merupakan antibiotik yang tahan terhadap asam tetapi tidak tahan terhadap penisilinase. Beberapa keuntungan penggunaan amoksisilin dibanding ampisilin adalah absorpsi obat dalam saluran pencernaan lebih sempurna, sehingga kadar amoksisilin dalam darah lebih tinggi. Amoksisilin sering digunakan untuk pengobatan infeksi saluran pernafasan, saluran empedu, meningitis dan saluran infeksi karena *Salmonella sp*, seperti demam tipoid. Efek terhadap *Bacillus dysentery* lebih rendah dibanding ampisilin karena lebih banyak obat yang diserap oleh saluran cerna (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Difusi amoksisilin ke jaringan-jaringan dan cairan-cairan tubuh lebih baik. Amoksisilin dapat pula menyebabkan gangguan-gangguan usus dan kulit tetapi lebih jarang daripada ampisilin (Tjay dan Rahardja, 2002).

Amoksisilin dan ampisilin merupakan antibiotik turunan penisilin yang mempunyai aktivitas dan spektrum penghambat yang sama, yaitu dapat menghambat kerja enzim transpeptidase dengan cara mengikat enzim melalui ikatan kovalen sehingga mencegah pembentukan dinding sel bakteri (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

9. Uji Aktivitas Antibakteri

Menurut Pratiwi (2008), pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode sebagai berikut:

a. Metode difusi

1. Metode silinder

Silinder steril diletakkan diatas permukaan agar yang telah diolesi suspensi bakteri, kemudian zat aktif yang akan diuji dimasukkan ke dalam silinder tersebut. Diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37 °C kemudian diukur diameter hambat dengan menggunakan jangka sorong.

2. Metode lubang (perforasi)

Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45 °C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL, kemudian diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

3. Metode cakram kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antibakteri sejumlah tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan agar padat yang telah diolesi bakteri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas.

b. Metode dilusi

1. Metode pengenceran tabung

Antibakteri disuspensikan pada media cair atau agar dengan pH 7-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri yang telah disuspensikan dengan NaCl steril atau dengan TSB (*Tryptic Soy Broth*), yang tiap milimeternya mengandung kurang lebih 10^5 - 10^6 bakteri. Suspensi zat antibakteri dimasukkan ke dalam suspensi bakteri uji. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam dan diamati pertumbuhan bakteri.

Pengamatan pertumbuhan bakteri berdasarkan pada kekeruhan suspensi. Tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang lebih bening menunjukkan bahwa zat antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang diuji.

2. Metode pengenceran agar

Zat antibakteri dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu serendah mungkin ($\pm 45^{\circ}\text{C}$) dengan menggunakan berbagai konsentrasi aktif, larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya.

10. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Uji Potensi

Konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil (pengenceran terbesar) suatu obat yang masih menghambat pertumbuhan bakteri. KHM sangat penting untuk menentukan dosis efektif terkecil dari obat dan memberikan indeks perbandingan dengan obat yang lain.

Uji potensi suatu sampel (zat antibakteri) bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kekuatan atau daya aktivitas antibakteri sampel tersebut bila dibandingkan terhadap suatu zat pembanding. Metode yang digunakan adalah dengan cara membandingkan respon yang dihasilkan oleh zat antibakteri yang diperiksa terhadap respon suatu zat antibakteri pembanding. Respon tersebut berupa hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji.

Uji potensi suatu sampel dapat dilakukan dengan cara membuat suatu grafik atau kurva standart dari zat pembanding, dimana logaritma konsentrasi zat pembanding diplotkan terhadap sumbu x dan diameter daerah hambat diplotkan terhadap sumbu y, sehingga diperoleh persamaan garis linier. Berdasarkan persamaan garis linier tersebut, nilai diameter daerah hambat pada konsentrasi yang telah ditetapkan disubstitusikan ke y maka akan diperoleh nilai x. Antilog dari nilai x merupakan nilai konsentrasi sampel yang setara dengan zat pembanding, sehingga dapat ditetapkan nilai uji banding sampel terhadap zat pembanding, yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Nilai uji banding} = \frac{\text{Konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{Konsentrasi sampel sebenarnya}} \times 100 \%$$

B. Kerangka Pemikiran

Obat antibakteri bermanfaat untuk mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen. Penggunaan terus menerus suatu obat antibakteri dapat menyebabkan bakteri patogen resisten terhadap obat tersebut, selain efek samping yang ditimbulkannya. Suatu senyawa aktif baru, yang berasal dari tumbuhan obat yang berpotensi sebagai antibakteri sangat dibutuhkan sebagai alternatif baru obat antibakteri.

Tanaman teki (*Cyperus rotundus* L.) terutama umbinya memiliki kemampuan sebagai obat bagi beberapa penyakit termasuk juga sebagai antibakteri. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus* L.). Terutama aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen gram positif : *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah mengisolasi, mengidentifikasi, uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) kemudian dilanjutkan uji potensi antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) dibandingkan dengan antibiotik sintetik seperti amoksisilin.

Metode isolasi yang digunakan adalah soxhletasi dengan pelarut petroleum eter. Ekstrak yang diperoleh dianalisis dengan skrining fitokimia dengan plat KLT untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung didalamnya kemudian dilanjutkan dengan GC-MS untuk mengidentifikasi komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus* L.). Data yang diperoleh dari analisis dengan GC-MS adalah sebagai berikut: dari kromatogram GC akan diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi sedangkan dari spektra MS akan didapatkan struktur senyawa dengan membandingkannya dengan data sekunder dari literatur. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar sehingga diperoleh diameter zona hambat. Hasil uji difusi yang menunjukkan adanya suatu hambatan pada pertumbuhan bakteri, kemudian

dilanjutkan dengan membuat variasi konsentrasi ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) sehingga akan diperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif sedangkan *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif. *Bacillus cereus* merupakan penyebab keracunan makanan, diare, infeksi mata, keratitis berat, endoftalmitis, panoftalmitis, pneumonia, osteomielitis, meningitis dan endokarditis. *Salmonella typhi* dapat menyebabkan penyakit demam tifoid dengan gejala dini antara lain demam, mual, muntah-muntah, tidak nafsu makan, lesu dan diare. *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit diare, infeksi pada saluran kencing yang ditandai dengan susah buang air kecil dan ada darah dalam urine. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan penyakit pneumonia nekrotika serta menginfeksi darah yang menimbulkan sepsis yang fatal, mata, saluran kencing dan luka bakar yang menghasilkan nanah (borok) (Jawetz *et al.*, 2005). Penyakit akibat bakteri *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan masalah utama kesehatan masyarakat. Masyarakat Indonesia, khususnya Jawa secara empiris telah menggunakan umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) sebagai obat penyakit yang disebabkan oleh bakteri-bakteri diatas seperti demam, diare, infeksi pada saluran kencing yang ditandai dengan susah buang air kecil dan luka bakar yang menghasilkan nanah (borok) (Yuliasari, 2007). Namun pengobatan secara medis menggunakan antibiotik sintetik seperti amoksisilin untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Oleh karena itu, dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk mengetahui potensi ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen gram positif: *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* serta dilakukan uji potensi antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dibandingkan dengan amoksisilin sehingga diperoleh data nilai uji banding.

C. Hipotesis

1. Ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dapat diisolasi dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut petroleum eter.
2. Komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) teridentifikasi dengan analisis data skrining fitokimia dengan plat KLT serta analisis data GC-MS meliputi senyawa terpenoid, karboksilat jenuh dan tak jenuh.
3. Ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen gram positif : *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Potensi ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) sebagai antibakteri dapat dibandingkan dengan amoksisilin dengan cara membuat kurva standar dari amoksisilin dimana logaritma konsentrasi amoksisilin diplotkan terhadap sumbu x dan diameter daerah hambat (DDH) diplotkan terhadap sumbu y sehingga diperoleh persamaan garis linier, kemudian nilai diameter daerah hambat (DDH) pada konsentrasi yang telah ditetapkan disubstitusikan ke y maka akan diperoleh nilai x dan antilog dari nilai x adalah nilai konsentrasi sampel yang setara dengan amoksisilin, kemudian dihitung nilai uji bandingnya dengan cara konsentrasi sampel yang setara dengan amoksisilin dibagi dengan konsentrasi sebenarnya dan dikalikan 100%.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental dalam laboratorium. Isolasi ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan metode soxhletasi dengan pelarut petroleum eter. Identifikasi komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan analisis data skrining fitokimia dengan plat KLT dan data GC-MS. Uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan metode difusi agar, selanjutnya dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji potensi antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dibandingkan dengan amoksisilin.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober 2010 – Maret 2011 di Laboratorium Kimia Dasar FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Sub Lab Biologi Laboratorium Pusat Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.

C. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat soxhlet, satu set alat *rotary evaporator*, timbangan elektrik (*Analytical Balance Denver Instrument*), *heating mantel* (J.P. SELECTA.,s.a), GC-MS (QP2010S SHIMADZHU), autoklaf (J.P. SELECTA *Hotcold M*), Inkubator suhu 0-10°C (J.P. SELECTA *Hotcold M*), Inkubator suhu 37°C (J.P. SELECTA *Hotcold M*), *hot plate-stirer* (IKA Labortechnik), plat KLT GF 254, gelas beker 250 ml (pyrex), gelas ukur 10 ml dan 50 ml (pyrex), tabung reaksi (pyrex), klem, statif, selang air, *waterpump*, mikro pipet digital 2-20 µl, 20-200 µl dan

100-1000 μ l, oven, cawan petri, botol duran, jarum ose, pembakar spirtus, spatula logam, pervisorator diameter 6 mm, jangka sorong kaliber dan *hair dryer*.

2. Bahan-bahan yang digunakan

a. Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) yang diperoleh dari daerah Piyungan, Kabupaten Bantul.

b. Bahan kimia

Aquades, alkohol 70%, petroleum eter p.a (Merck), aseton p.a (Merck), etanol p.a (Merck), KOH (Merck), H_2SO_4 p.a (Merck), dietil eter p.a (Merck), *n*-heksana p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), HCl p.a (Merck), kloroform p.a (Merck), CH_3COOH anhidrat p.a (Merck), serbuk vanillin p.a (Merck), silika gel 60 *for column* (Merck) dan DMSO.

c. Bahan bukan kimia

Kapas, kertas saring biasa, kertas saring whatman 42, kertas lakmus dan alumunium foil.

d. Bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri gram positif: *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif: *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

e. Media bakteri

Media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *Nutrien Agar* (Merck)

f. Zat pembanding antibakteri

Zat pembanding yang digunakan adalah amoksisilin murni (Merck).

D. Prosedur Penelitian

1. Determinasi bahan awal

Determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dibagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Determinasi berdasarkan pada pengamatan ciri mikroskopis serbuk umbi teki (*Cyperus rotundus L.*).

2. Persiapan sampel

Umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dicuci, dipotong-potong kemudian diangin-anginkan sampai layu kurang lebih satu hari dan dioven pada suhu 50°C selama 24 jam. Tujuan dari pengeringan ini adalah untuk mengurangi kadar air dalam umbi teki, mendapatkan bahan yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) kering kemudian dibuat dalam bentuk serbuk. Tujuan dari pembentukan serbuk adalah untuk memperbesar luas permukaan umbi teki, sehingga dalam proses ekstraksi nanti interaksi antara pelarut dengan sampel lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak sempurna.

3. Ekstraksi sampel

Serbuk kering umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) diekstraksi dengan alat soxhlet dengan pelarut petroleum eter selama 20 sirkulasi dengan suhu pada kisaran 60-70°C. Ekstraksi soxhletasi dengan petroleum eter bertujuan untuk mengambil komponen non polar dari sampel umbi teki (*Cyperus rotundus L.*). Selanjutnya ekstrak yang terkumpul dievaporasi sampai kering dan diperoleh ekstrak petroleum eter pekat dan digunakan sebagai sampel untuk proses selanjutnya.

4. Identifikasi komponen kimia

Ekstrak petroleum eter pekat yang diperoleh kemudian di skrining fitokimia dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan dianalisis dengan GC-MS yang bertujuan untuk mengidentifikasi komponen kimianya.

5. Uji aktivitas ekstrak petroleum eter

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan tahap kerja sebagai berikut:

a. Sterilisasi alat

Alat yang digunakan untuk aktivitas antibakteri disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121°C selama kurang lebih 20 menit.

b. Pembuatan media agar miring

NA (*Nutrien Agar*) ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades, dipanaskan diatas *hotplate - stirer* sampai mendidih dan terbentuk larutan agar yang berwarna kuning bening. Larutan agar tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml dan ditutup dengan kapas serta alumunium foil. Tabung reaksi yang berisi larutan agar disterilkan pada suhu 121°C selama 20 menit dalam autoklaf. Selanjutnya ditempatkan pada rak miring dan didiamkan sampai padat pada suhu kamar.

c. Pembuatan biakan bakteri

Sebanyak 1 ose isolat bakteri digoreskan pada media agar miring dengan pola zig-zag, masing-masing bakteri dibuat 3 biakan bakteri. Proses ini dilakukan dalam keadaan steril pada ruang isolasi dengan sinar UV. Biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

d. Uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter

NA (*Nutrien Agar*) ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades, dipanaskan, *distirer* diatas *hotplate stirer* sampai mendidih sehingga terbentuk larutan agar yang berwarna kuning bening. Larutan NA tersebut dimasukkan ke dalam botol duran. Tabung reaksi disiapkan, masing-masing diisi dengan 3 ml aquades dan ditutup rapat dengan kapas dan alumunium foil untuk pembuatan suspensi bakteri. NA (*Nutrien Agar*) yang telah dimasukkan dalam botol duran, aquades dalam tabung reaksi, cawan petri yang telah dibungkus kertas dan alat-alat yang akan digunakan dalam uji antibakteri (pervorator, spatula, tip) disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit dalam autoklaf.

Sebanyak 1 ose bakteri dimasukkan dalam aquades steril dan diaduk sampai larutan keruh. Suspensi bakteri sebanyak 100 µl dimasukkan ke dalam cawan petri yang steril ditambah dengan 15 ml NA steril pada suhu 40 - 42°C (tidak terlalu panas dan tidak terlalu dingin), kemudian digoyangkan dengan pola angka delapan supaya bakteri dan NA (*Nutrien Agar*) tercampur rata. Campuran agar dan suspensi bakteri didiamkan ± 15 menit sampai agar memadat. Agar padat dibuat sumuran dengan menggunakan perforator berdiameter 6 mm dengan jarak lubang yang sama, kemudian dimasukkan ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*)

dengan konsentrasi tertentu v/v dan larutan kontrol negatif (DMSO) kedalam tiap-tiap lubang sebanyak 20 µl dengan menggunakan mikropipet. Cawan petri kemudian di inkubasi di dalam inkubator bersuhu 37 °C selama 24 jam.

Pengamatan zona penghambat sampel terhadap pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan mengukur diameter zona bening disekitar sumuran dengan jangka sorong digital.

e. Penentuan KHM ekstrak petroleum eter

Ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) konsentrasi 100% yang menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, dibuat variasi konsentrasi secara menurun dengan pelarut DMSO yang selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dari masing-masing konsentrasi tersebut untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimumnya (KHM).

f. Penentuan nilai uji banding

Uji potensi dilakukan dengan cara membuat suatu grafik atau kurva standart dari amoksisilin, dimana logaritma konsentrasi amoksisilin diplotkan terhadap sumbu x dan diameter daerah hambat diplotkan terhadap sumbu y, sehingga diperoleh persamaan garis linier. Berdasarkan persamaan garis linier tersebut, nilai diameter daerah hambat pada konsentrasi yang telah ditetapkan disubstitusikan ke y maka akan diperoleh nilai x. Antilog dari nilai x merupakan nilai konsentrasi sampel yang setara dengan amoksisilin, sehingga dapat ditetapkan nilai uji banding sampel terhadap amoksisilin, yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Nilai uji banding} = \frac{\text{Konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{Konsentrasi sampel sebenarnya}} \times 100 \%$$

E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Penelitian ini akan menghasilkan beberapa data. Data yang diperoleh pada saat analisis komponen kimia ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dengan GC-MS adalah sebagai berikut: dari kromatogram GC akan diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi sedangkan dari spektra MS akan didapatkan struktur senyawa dengan membandingkannya dengan data sekunder dari literatur. Analisa senyawa dengan metode skrining fitokimia dengan plat KLT didapatkan penampakan sejumlah noda, harga Rf dan data golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*).

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar pada ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dari masing-masing bakteri uji dan amoksisilin didapatkan data diameter daerah hambat pada konsentrasi tertentu. Adanya hambatan yang ditunjukkan dengan diameter daerah hambat, maka dilanjutkan dengan menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji potensi. Pada uji potensi, aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) dibandingkan terhadap amoksisilin sehingga akan diperoleh data nilai uji banding.