

**PENGARUH PERKOLAT KAYU SECANG
(*Caesalpinia sappan* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus***

TUGAS AKHIR

**Oleh:
KARLINA
0310920030-92**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2008**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**PENGARUH PERKOLAT KAYU SECANG
(*Caesalpinia sappan* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus***

TUGAS AKHIR

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Kimia**

Oleh:

**KARLINA
0310920030-92**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2008**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

PENGARUH PERKOLAT KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

Oleh:

**KARLINA
0310920030-92**

**Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji
Pada tanggal.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Arie Srihardyastutie S.Si., M.Kes.
NIP.132 300 238**

**Dr.Soebiantoro, Apt.MSc
NIP. 131 124 652**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**M.Farid Rahman, S.Si, Msi.
NIP. 132 158 726**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Karlina
NIM : 0310920030-92
Jurusan : Kimia
Penulis Tugas Akhir berjudul :

PENGARUH PERKOLAT KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari tugas akhir yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,..... 2008
Yang menyatakan,

(Karlina)
NIM. 0310920030-92

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**PENGARUH PERKOLAT KAYU SECANG
(*Caesalpinia sappan* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus***

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan bakteri *S. aureus*. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi proses ekstraksi kayu secang secara perkolasi, uji fenolik, dan melakukan uji aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* pada variasi konsentrasi perkolat dari (0 % (b/v) sampai 2 % (b/v)) menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan perkolat secang berpengaruh terhadap pertumbuhan kedua bakteri, hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi perkolat secang maka semakin besar zona hambat. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa perkolat kayu secang aktif sebagai antibakteri menghasilkan diameter zona hambat terbesar 17,88 mm dan 18,39 pada konsentrasi 2 % (b/v) dan terkecil pada 0,1 % (b/v) 10,18 mm dan 10,27 mm masing-masing untuk bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Konsentrasi perkolat pada berbagai variasi dari 0 % (b/v) sampai dengan 1,0 % (b/v) menunjukkan antibakteri yang bersifat lemah dan pada konsentrasi 1,5 % (b/v) sampai dengan 2,0 % (b/v) adalah antibakteri yang bersifat sedang.



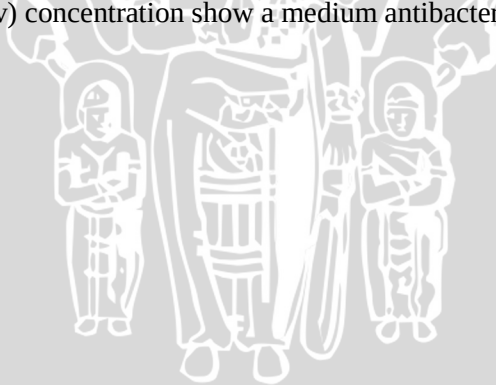
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**THE INFLUENCE OF PERCOLAT SAPPAN WOOD
(*Caesalpinia sappan* Linn) TO WARD THE OF BACTERIAL
Pseudomonas aeruginosa and *Staphylococcus aureus***

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the influence of sappan wood percolate to ward the of *P. aeruginosa* and *S. aureus* bacteria. The stages of the research were extraction process of sappan wood using percolation, phenolic test and activity test of percolate concentration from (0,1 % (w/v) up to 2 % (w/v)) to the growth of bacteria *P. aeruginosa* and *S. aureus* using the disc diffusion method. The result of this research showed that the concentration of sappan wood influence second bacteria growth, the more higher concentration of percolate the more higher block zone. The result of activity test showed that sappan wood percolation was active as antibacterial with the highest zone diameter of 17,88 mm and 18,39 mm at concentration 2 % (w/v) and the smallest at 0,1 % (w/v) 10,18 mm and 10,27 mm for *P. aeruginosa* and for *S. aureus* bacteria. The concentration of percolate in every variation from 0 % (w/v) up to 1,0 % (w/v) show a week antibacterial and at 1,5 % (w/v) up to 2,0 % (w/v) concentration show a medium antibacterial.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KATA PENGANTAR

Sesungguhnya segala pujian hanya milik Allah SWT., hidayah dan bimbingan-Nya menuntun penulis menyelesaikan Tugas Akhir ini. Sholawat dan salam untuk manusia paling mulia, Nabi akhir zaman penyempurna risalah, Rasulullah Muhammad SAW yang sejarah dan perjuangan bersama para sahabatnya memberikan motivasi yang hebat kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **PENGARUH PERKOLAT KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* .**

Tulisan ini tidak akan selesai dengan baik tanpa bantuan dari semua pihak, karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Arie Srihardyastutie S.Si.,M.Kes selaku pembimbing I yang memberikan bimbingan serta motivasi yang besar kepada penulis
2. Dr. Soebiantoro, Apt.,MSc pembimbing II yang memberikan bimbingan dengan penuh ketulusan dan kesabaran.
3. Semua dosen penguji yang memberikan kritik dan saran dalam penulisan
4. Segenap dosen dan karyawan Jurusan Kimia yang telah membantu demi kelancaran penelitian ini.
5. Bapak-Ibu, kakak2 dan adik serta keponakan-keponakan, alasan penulis bertahan dalam tugas akhir ini.
6. Rekan-rekan Mahasiswa Kimia angkatan 2003 atas dukungan, kerja sama dan semangat yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mohon kritik dan saran yang membangun untuk penyempurnaan tulisan ini. Besar harapan penulis karya kecil ini bisa bermanfaat . Amin Ya Rabbal ‘Alamin.

Malang, 2008

Penulis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Pembatasan Masalah.....	2
1.4. Tujuan Penelitian.....	2
1.5. Manfaat Penelitian.....	2

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Secang (<i>Caesalpinia sappan</i> Linn).....	3
2.1.1. Klasifikasi Tanaman Secang.....	3
2.1.2. Manfaat Tanaman Secang.....	3
2.1.3. Kandungan Kimia Tanaman Kayu Secang.....	4
2.1.3.1 Resorsin.....	5
2.1.3.2 Tanin.....	5
2.2. Tinjauan Umum terhadap Zat Antibakteri.....	6
2.3. Penghambatan Pertumbuhan Bakteri oleh Senyawa Organik.....	7
2.4. Tinjauan Umum Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	8
2.5. Tinjauan Umum Bakteri <i>S. aureus</i>	9
2.6. Metode Ekstraksi Perkolasi.....	10
2.7. Metode Difusi Cakram.....	11
2.8. Hipotesis Penelitian.....	13

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	15

3.2.1. Bahan Penelitian.....	15
3.2.2. Alat Penelitian.....	15
3.3. Tahapan Penelitian.....	15
3.4. Cara Kerja Penelitian.....	16
3.4.1. Perkolasi Kayu Secang.....	16
3.4.2. Pembuatan Larutan Perkolat Secang.....	16
3.4.3. Uji Pendahuluan Fenolik.....	16
3.4.4. Uji Aktifitas Perkolat Kayu Secang terhadap Bakteri	16
3.4.4.1. Pembuatan Media Padat	16
3.4.4.2. Peremajaan biakan murni <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i>	17
3.4.4.3. Pembuatan Larutan Bakteri <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i>	17
3.4.4.4. Uji Antibakteri.....	17
3.4.5. Analisa Data	18

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.2. Uji Pendahuluan Fenolik	19
4.3. Uji Antibakteri	21

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	29
5.2. Saran	29

DAFTAR PUSTAKA	31
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	35
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Pohon <i>Caesalpinia sappan</i> Linn.....	3
Gambar 2.2. Serutan Kayu Secang.....	4
Gambar 2.3. Struktur Resorsin.....	5
Gambar 2.4. Struktur Tanin.....	6
Gambar 2.5. Pewarnaan Gram <i>P. aeruginosa</i>	8
Gambar 2.6. Bakteri <i>S. aureus</i>	9
Gambar 2.7. Alat Perkolasi	11
Gambar 2.8. Contoh Hasil Uji Difusi Cakram	13
Gambar 4.1. Reaksi Senyawa Fenol dengan FeCl_3	20
Gambar 4.2. Reaksi Senyawa Resorsin dengan FeCl_3	20
Gambar 4.3. Reaksi Senyawa Tanin dengan FeCl_3	20
Gambar 4.4. Struktur Brasilin	21
Gambar 4.5. Struktur Brasilien.....	21
Gambar 4.6. Grafik Hubungan antara Diameter Hambat dengan Konsentrasi Perkolat Kayu Secang pada Bakteri <i>P.</i> <i>aeruginosa</i>	23
Gambar 4.7. Grafik Hubungan antara Diameter Hambat dengan Konsentrasi Perkolat Kayu Secang pada Bakteri <i>S.</i> <i>aureus</i>	24
Gambar 4.8. Mekanisme Perusakan Senyawa Fosfolipid Pada Membran Sel Bakteri oleh Senyawa Fenol	26



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Karakterisasi Kimia Kayu Secang.....	4
Tabel 2.2. Klasifikasi Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri	12
Tabel 4.1. Rata- rata Diameter Zona Hambat pada Media yang ditumbuhi Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	22
Tabel 4.2. Rata- rata Diameter Zona Hambat pada Media yang ditumbuhi Bakteri <i>S. aureus</i>	23
Tabel 4.3. Klasifikasi Respon Hambat pada Media yang ditumbuhi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> berdasarkan Prekalkulasi Ahn, <i>et al</i> (1994)	25



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	35
Lampiran 2. Diagram Kerja.....	36
Lampiran 3. Uji Statistika Terhadap Diameter Zona Hambat bakteri <i>P. aeruginos</i> dan <i>S. aureus</i>	39
Lampiran 4. Gambar Uji Antibakteri	43
Lampiran 5. Gambar Proses Ekstraksi Perkolasi	46
Lampiran 6. Gambar Alat Destilasi Evaporator Vacuum	47



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian tentang daya antimikroba dari ekstrak tanaman terhadap pertumbuhan bakteri telah banyak dilakukan. Nadzifah (2006) menguji aktifitas antimikroba dari berbagai tanaman yaitu kunyit, biji jambu, lamtoro serta pisang terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Selain itu Andriyani (2004), juga melakukan penelitian yang berhubungan dengan aktivitas antibakteri dari tanaman daun dewa terhadap beberapa bakteri patogen. Namun masih banyak spesies tanaman obat yang digunakan oleh masyarakat belum diuji lebih lanjut, sehingga belum diketahui efektivitas ekstrak dari tanaman terhadap pertumbuhan bakteri.

Salah satu sumber daya hayati yang belum optimal dieksplorasi dan dimanfaatkan adalah tanaman secang (*C. sappan* Linn). Secara tradisional tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit seperti memar, buang air besar berdarah, batuk darah, diare, dan membersihkan gumpalan darah setelah melahirkan (Wijayakusuma, 2005). Kayu secang mengandung senyawa kimia yaitu asam galat, tanin, resin, resorsin, brasilin, brasilein, d- α -felandren, osimen, minyak atsiri (Anonim^a, 2006). Adanya senyawa fenol mengindikasikan bahwa secang dapat bersifat sebagai zat antibakteri, karena hampir semua senyawa fenol dan turunannya menunjukkan sifat antibakteri walau tidak terlalu spesifik (Gilman *et al.*, 1991) maka kemungkinan senyawa-senyawa fenol dan turunan ini diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Antibakteri merupakan zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Efektivitas daya antimikroba dari ekstrak tanaman dapat dilihat dari kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa bakteri yang sering digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas dari ekstrak tanaman yaitu *P. aeruginosa* dan *S. aureus* (Nascimento *et al.*, dalam Nadzifah (2006)).

P. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang multiresisten terhadap berbagai golongan antibiotik. Sedangkan *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan intoksikasi dan terjadinya berbagai macam infeksi seperti pada jerawat, bisul, pneumonia dan lainnya (Todar, 2005).

Salah satu cara yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup adalah metode difusi cakram. Metode ini dirancang untuk organisme yang tumbuh cepat seperti seperti *P. aeruginosa*.

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian tentang uji antibakteri tanaman secang untuk mengetahui efektivitas antimikroba perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri yaitu *P. aeruginosa* dan *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram yaitu menentukan Kadar Hambat Minimum dengan mengukur diameter zona hambat.

Perumusan masalah

- a) Bagaimana pengaruh perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa*?
- b) Bagaimana pengaruh perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*?

1.3 Pembatasan masalah

- a) Kayu secang yang digunakan adalah kayu secang kering yang diperoleh dari toko obat tradisional di kota Malang.
- b) Bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* diperoleh dari Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang.
- c) Uji antimikroba dilakukan secara in vitro.

1.4 Tujuan penelitian

- a) Mengetahui pengaruh perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.
- b) Mengetahui pengaruh perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

1.5 Manfaat penelitian

Berdasarkan hasil penelitian diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat dalam mengembangkan usaha pembuatan obat secara tradisional untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi, sehingga diperoleh alternatif untuk pengobatan terhadap infeksi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Secang (*C. sappan* Linn)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Secang (*C. sappan* Linn)

Caesalpinia sappan Linn diklasifikasikan sebagai berikut (Anonim^b, 2006) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Genus : *Caesalpinia*
Spesies : *Caesalpinia sappan*



Gambar 2.1
Pohon *C. sappan* Linn

Secang (*C. sappan* Linn) dikenal di berbagai daerah dengan nama sebagai berikut: Seupeung (Aceh); Sepang (Gayo); Sopang (Batak); Cacang (Minangkabau); Secang (Sunda); Soga Jawa (Jawa); Kayu Secang (Madura); Cang (Bali); Sepang (Sasak); Supa dan Supang (Bima); Sepel (Timor); Hong (Alor); Sepang (Bugis); Sefen (Halmahera Selatan); Sawala, Hinianga, Sinyianga, dan Singiang (Halmahera Utara); Sunyiha (Ternate); Roro (Tidore), dengan nama asing Sappan Wood (Wijayakusuma *et al.*, 1998).

2.1.2 Manfaat Tanaman Secang (*C. sappan* Linn)

Di India, Indonesia dan Filipina, kayu ini dimanfaatkan sebagai obat TBC, mencret, disentri dan obat luka (Lemmens dan Wujarni, 1991).

Bagian tanaman yang sering digunakan adalah potongan-potongan atau serutan kayu. Karakteristik mikroskopik kayu ini berbentuk potongan-potongan atau kepingan dengan ukuran sangat bervariasi atau berupa serutan-serutan keras dan padat yang berwarna merah, merah jingga dan kuning. Serbuknya berwarna merah jingga kecoklatan (Sundari dan Winarno, 1998).

Sifat kimiawi dan efek farmakologis dari kayu secang adalah, ekstrak kayu secang rasanya sepat dan tidak berberbau, dapat menghentikan pendarahan, pembersih darah, penawar racun dan antiseptik. (Anonim^b, 2006).



Gambar 2.2 Serutan Kayu Secang

2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Kayu Secang

Berdasarkan hasil penelitian Puspaningrum (2003), kandungan kimia kayu secang adalah sebagai berikut :

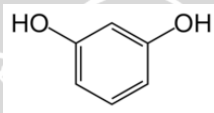
Tabel 2.1 Kandungan Kimia Kayu Secang (Puspaningrum, 2003)

No.	Karakteristik Kimia	Jumlah (%)
1.	Kadar air	8,88
2.	Kadar abu	1,30
3.	Kadar protein	2,04
4.	Kadar lemak	0,30
5.	Kadar karbohidrat	87,48
6.	Kadar tanin	0,71

Kandungan kimia dari kayu secang adalah tanin (asam tanat) asam galat, resin, resorsin, brasilin, brasilien, minyak atsiri, Pigmen sappanin (Heyne, 1987). Protosappanin, senyawa monohidroksibrasilin, turunan bensil dihidrobensofuran, senyawa $C_{16}H_{16}O_5$ dan $C_{16}H_{14}O_{16}$ mempunyai efek menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Senyawa yang telah berhasil diidentifikasi adalah Sappankhalkon, Sappanon A, Sappanon B, 3-hidroksispon B, Sappanol, Caesalpin P, dan Protosappin B (Sundari dan Winarno, 1998).

2.1.3.1 Resorsin

Resorsinol atau resorsin juga dikenal dengan sebutan-sebutan lain, yaitu: m-dihidroksibenzena. Resorsin mempunyai rumus molekul $C_6H_4(OH)_2$ merupakan senyawa yang berbentuk kristal berwarna putih, mudah terbakar, beracun dan dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Selain itu resorsin dapat digunakan sebagai salep untuk mengobati penyakit kulit kronis seperti psoriasis dan eczema dengan konsentrasi sebesar 5-10 %. Resorsin merupakan senyawa yang larut dalam alkohol, eter, air dan gliserol tetapi sedikit larut dalam kloroform. Resorsin dapat diperoleh dengan mereaksikan asam benzena meta disulfonat dengan natrium hidroksi. Struktur kimia resorsin dapat ditunjukkan pada Gambar 2.3 (Anonim^c, 2005):



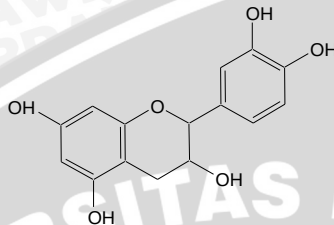
Gambar 2.3 Struktur resorsin

2.1.3.2 Tanin

Tanin mempunyai rumus molekul $C_{76}H_{52}O_{46}$ merupakan senyawa polifenol dan mengandung hidroksi fenol serta senyawa lain yang mampu membentuk kompleks yang kuat dengan protein dan makro molekul lainnya. Selain dengan protein senyawa tanin juga bergabung dengan polimer lain seperti selulosa, hemi selulosa dan protein membentuk senyawa kompleks yang tetap dan stabil. Di dalam tumbuhan letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak misalnya bila hewan memakannya maka reaksi penyamakan dapat terjadi (Harborne, 1987).

Beberapa hal yang mempengaruhi pembentukan kompleks tanin - protein adalah temperatur, pH, berat molekul dan konsentrasi pereaksi. Keasaman merupakan faktor yang penting dalam pembentukan kompleks tanin - protein dan pada pH netral protein akan lebih mudah membentuk ikatan kompleks dengan tanin. Beberapa bagian protein reaktif yang mempunyai kemampuan berikatan dengan senyawa tanin adalah ikatan peptida kelompok ionik, kelompok hidroksi serta kelompok amina. Ikatan yang dominan terjadi pada pembentukan kompleks tanin adalah ikatan

hidrogen yang terjadi antara gugus hidroksil tanin dengan ikatan peptida. Struktur kimia tanin ditunjukkan pada Gambar 2.4 (Harborne, 1987) :



Gambar 2.4 Struktur tanin

2.2 Tinjauan Umum terhadap Zat Antibakterial

Mikroorganisme dapat dihambat atau dibunuh dengan proses fisik atau senyawa kimia. Zat antimikroba diartikan sebagai senyawa yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba, sehingga senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh mikroba. Bila mikroorganisme yang dimaksud adalah bakteri maka senyawa antimikroba sering disebut dengan senyawa antibakteri (Pelzcar dan Chan, 1994).

Beberapa hal yang perlu dipertimbangkan dalam memilih zat antimikroba adalah (Pelzcar dan Chan, 1994) :

1. Jenis zat dan mikroorganisme

Zat antimikroba yang akan digunakan harus sesuai dengan jenis mikroorganismenya karena memiliki kerentanan yang berbeda-beda.

2. Konsentrasi dan intensitas zat antimikroba

Semakin besar konsentrasi zat antimikroba yang digunakan, maka semakin besar pula daya kemampuannya dalam mengendalikan mikroorganisme.

3. Jumlah mikroorganisme

Semakin banyak mikroorganisme yang dihambat atau dibunuh, maka semakin lama waktu yang diperlukan untuk mengendalikannya.

4. Temperatur

Temperatur yang optimal dapat menaikkan efektivitas zat antimikroba.

5. Senyawa organik

Adanya senyawa organik asing dapat menurunkan efektivitas zat antimikroba, hal ini dikarenakan adanya penggabungan senyawa organik membentuk endapan sehingga zat antimikroba tidak mengikat mikroorganisme.

Sejak 1935, sejumlah besar senyawa kimia telah dikembangkan. Senyawa kimia tersebut pada umumnya dibuat secara sintesis di laboratorium, sedangkan yang lain dibuat dari hasil sampingan kegiatan metabolisme bakteri atau jamur. Senyawa kimia diberi nama umum antibiotika (Volk dan Margareth, 1993).

Kriteria senyawa kimia yang digunakan sebagai kemoterapi adalah sebagai berikut (Schlegel, 1994) :

- a. Toksisitas obat terhadap sel inang harus rendah.
- b. Inang harus tidak menjadi alergi (sangat peka) terhadap obat.
- c. Obat itu harus mencapai tempat infeksi.

2.3 Penghambatan Pertumbuhan Bakteri oleh Senyawa Organik

Antibakteri merupakan senyawa kimia yang mampu menginaktivasi bakteri. Inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri atau bahkan membunuh bakteri. Aktivitas penghambatan pertumbuhan atau pembunuhan bakteri dilakukan dengan cara merusak DNA, denaturasi protein, merusak dinding sel atau menghalangi sintesis dinding sel, pemindahan kelompok sulfhidril bebas, serta antagonisme kimiawi (Brooks *et al.*, 2001).

Pada perusakan membran sel, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran sel akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan atau bahkan kematian (Gilman *et al.*, 1991).

Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik bervariasi. Bakteri gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif meskipun beberapa antibiotik dapat bereaksi atau hanya mempengaruhi pada bakteri gram negatif (Brock dan Magidan, 1991).

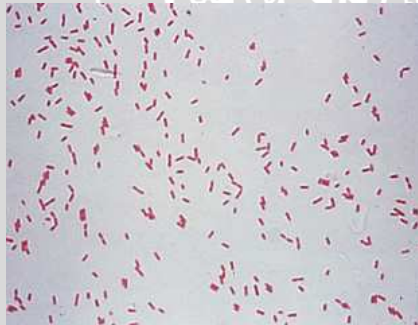
Penentuan kepekaan bakteri terhadap antimikroba dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor- faktor (Brooks *et al.*, 2001):

- Konsentrasi
- Waktu inkubasi
- Komponen media
- pH
- Aktivitas metabolik mikroorganisme.

2.4 Tinjauan Umum Bakteri *P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Todar, 2004) :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Orde	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>P. aeruginosa</i>



Gambar 2.5 Pewarnaan Gram *P. aeruginosa*

P. aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang, aerob, gram negatif dapat bergerak, pada perbenihan padat koloninya tampak berwarna hijau kebiru-biruan karena menghasilkan pigmen piosianin (Entjang, 2001). *P. aeruginosa* mempunyai ukuran antara 0,6-2 μm , terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda dan kadang-kadang dalam rantai pendek. *P. aeruginosa* tumbuh baik pada temperatur 37-42 $^{\circ}\text{C}$, pertumbuhan pada 42 $^{\circ}\text{C}$ membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* pada kelompok fluoresen (Brooks *et al.*, 2001).

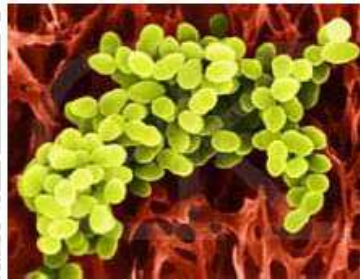
Identifikasi *Pseudomonas* dapat dilakukan dengan melihat ketidakmampuan memfermentasi laktosa, reaksi positif oksidasi, bau busuk pada buah, dan mampu tumbuh pada suhu 42 $^{\circ}\text{C}$. Fluoresen

dibawah sinar UV membantu memudahkan identifikasi koloni *P. aeruginosa*. Fluoresen juga digunakan untuk mengidentifikasi adanya *Pseudomonas* pada luka (Todar, 2004).

2.5 Tinjauan Umum Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Todar, 2005) :

Kingdom	: Monera
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>S. aureus</i>



Gambar 2.6 Bakteri *S. aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob dan anaerob, fakultatif yang mampu menfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, fosfatase, protease dan lipase. *S. aureus* mengandung lisostafin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *S. aureus* adalah haemolysin alfa, beta, gamma, delta dan epsilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Enterotoksin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksofoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar (Schlegel, 1994).

Temperatur optimum untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 35 - 37 °C dengan temperatur minimum 6,7 °C dan temperatur maksimum 45,4 °C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0-9,8 dengan pH optimum 7,0-7,5. Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya. Bakteri ini membutuhkan asam nikotinat untuk tumbuh dan akan distimulir pertumbuhannya dengan adanya thiamin. Pada keadaan anaerobik, bakteri ini juga membutuhkan urasil (Entjjang, 2001).

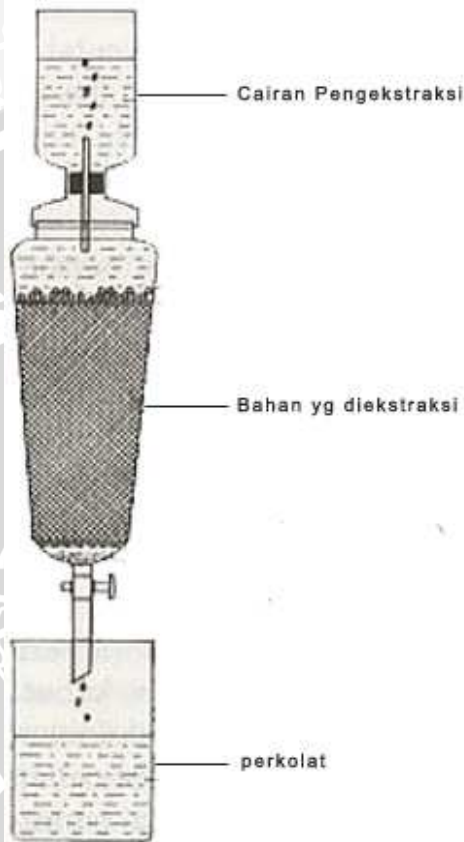
S. aureus hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan-hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *S. aureus* juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan (Todar, 2005).

2.6 Metode Ekstraksi Perkolasi

Ekstraksi perkolasi merupakan suatu cara ekstraksi dengan prinsip menambahkan pelarut pada bahan yang akan diekstrak dengan perbandingan tertentu kemudian didiamkan selama lebih kurang 3 x 24 jam selanjutnya dialirkan dengan pelarut sehingga diperoleh ekstrak (Heath dan Reinessius, 1987).

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam mengekstraksi minyak esensial, salah satunya adalah perkolasi (Anonim^d, 2006). Perkolasi (percolare = penetesan) dilakukan dalam wadah silindris atau kerucut (perkolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai (Gambar 2.7). Bahan ekstraksi dimasukkan secara kontinyu dari atas mengalir secara lambat melintasi bahan yang umumnya berupa serbuk kasar. Keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan disekelilingnya dapat diatur, maka pada perkolasi melalui pemasukan bahan pelarut yang baru dan dengan demikian suatu ekstraksi total secara teoritis adalah mungkin berkaitan dengan perbedaan konsentrasi pada posisi yang baru. Secara praktek diperoleh sampai 95 % bahan yang terekstraksi (Voigt, 1994).

Keuntungan perkolasi dibandingkan dengan distilasi dapat dilihat dari kemampuannya untuk mengekstrak minyak dari material yang keras atau liat seperti kayu, adalah efektifitas waktu yang dibutuhkan untuk perkolasi lebih singkat dibandingkan distilasi (Anonim^d, 2006).



Gambar 2.7 Alat Perkolasi

2.7 Metode Difusi Cakram

Difusi cakram merupakan metode yang paling sering digunakan untuk uji kerentanan antimikroba dan metode ini dirancang untuk organisme yang tumbuh cepat seperti *P.aeruginosa*. Metode ini di uji dengan meletakkan cakram yang terbuat dari kertas saring yang sudah ditetesi dengan supernatan sampel pada permukaan medium yang sudah diinokulasi dan jarak antara cakram yang satu dengan lainnya tidak terlalu dekat dengan tepi cawan petri. Menginkubasi medium lempeng yang telah diberi perlakuan dalam inkubator pada temperatur 37 °C selama 24 jam (Harborne, 1987).

Konsentrasi minimum penghambatan atau lebih dikenal dengan KHM (Kadar Hambat Minimum) yaitu konsentrasi terendah dari antibiotika atau antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Nilai KHM adalah spesifik untuk tiap-tiap kombinasi dari antibiotika dan mikroba (Greenwood, 1995).

KHM dari sebuah antibiotika terhadap mikroba digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba terhadap antibiotika. Nilai KHM berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM dari sebuah antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar. KHM dari sebuah antibiotika terhadap spesies mikroba adalah rata-rata KHM terhadap seluruh strain dari spesies tersebut. Strain dari beberapa mikroba adalah sangat berbeda dalam hal sensitivitasnya (Greenwood, 1995).

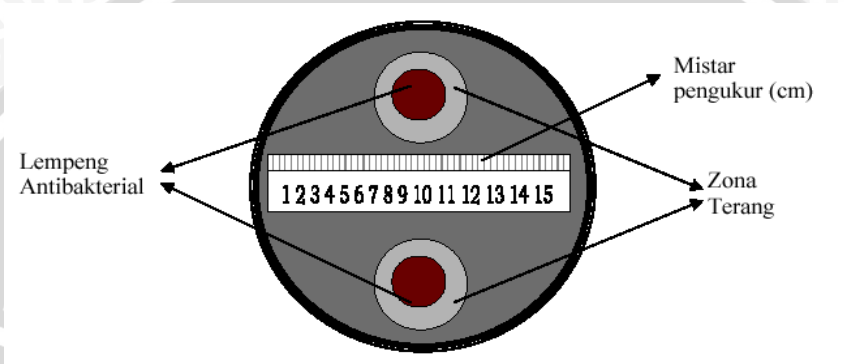
Tabel 2.2. Klasifikasi Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri (Ahn *et al.*, 1994) :

Diameter Zona terang (mm)	Respon hambatan Pertumbuhan
>20	Kuat
16-20	Sedang
10-15	Lemah
<10	Tidak ada

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona penghambatan dan harus dikontrol adalah :

- 1) Konsentrasi mikroba pada permukaan medium, semakin tinggi konsentrasi mikroba maka zona penghambatan akan semakin kecil.
- 2) Kedalamam medium pada cawan petri, semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan semakin kecil.
- 3) Nilai pH dari medium, beberapa antibiotika bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa basa kondisi alkali/basa.
- 4) Kondisi aerob/anaerob, beberapa antibakteri kerja terbaiknya pada kondisi aerob dan yang lainnya pada kondisi anaerob (Greenwood, 1995).

Metode uji antibakteri dan mikroba yang lain adalah dengan tehnik *Tube Dillution Test*. Fungsinya untuk mengetahui hasil KHM secara langsung. Metode yang lain adalah metode E-test, yang merupakan metode Uji difusi cakram yang dengan mudah dan cepat memperoleh hasil KHM (Greenwood, 1995).



Gambar 2.8 Contoh hasil uji Difusi Cakram

2.8 Hipotesis Penelitian

Secara teoritis pengukuran Kadar Hambat Minimum terhadap pertumbuhan bakteri di pengaruhi oleh konsentrasi. Maka dapat dihipotesiskan bahwa, semakin tinggi konsentrasi perkolat kayu secang maka daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri semakin besar.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, pada bulan September sampai bulan November 2007.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kayu secang yang telah diserut, nutrien agar plate, etanol 96 % (b/v), kertas saring, kertas saring Whatman no 40, akuades, bakteri *P.aeruginosa*, *S. aureus*, kertas tisu, plester bening, korek api, alumanium foil, dan plastik.

3.2.2 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat perkolasi, timbangan, seperangkat *rotary evaporator vacuum*, seperangkat alat gelas, corong pisah, rak tabung reaksi, cawan petri, penjepit, gunting, jarum inokulasi, spidol, penangas listrik, pipet, ose kawat, spatula, inkubator, autoklaf, dan penggaris.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dalam beberapa tahapan sebagai berikut:

3.3.1 Perkolasi Kayu Secang.

3.3.2 Pembuatan larutan Stok Perkolat Secang.

3.3.3 Uji Fenolik.

3.3.4 Uji Aktivitas.

3.3.4.1 Pembuatan media.

3.3.4.2 Peremajaan biakan murni *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

3.3.4.3 Pembuatan larutan Bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

3.3.4.4 Uji Antibakteri.

3.3.5 Analisa data.

3.4 Cara Kerja Penelitian

3.4.1 Perkolasi Kayu Secang

Kayu secang yang telah di potong-potong halus ditimbang sebanyak 200 g, dimasukkan dalam wadah perkolasi lalu ditambahkan etanol 96 % sebanyak 2 L hingga kayu secang terendam seluruhnya. Wadah perkolasi ditutup dan dibiarkan selama 3 hari. Alat di atur sehingga etanol yang berada di dalam corong pisah dapat dialirkan ke dalam wadah perkolasi. Penetesan larutan etanol dalam corong pisah dengan larutan ekstrak secang adalah sama. Langkah ini dilakukan hingga penetesan pada wadah perkolat tidak menunjukkan warna merah. Hasil perkolasi ditampung dalam erlenmeyer. Dipisahkan etanolnya dengan menggunakan *rotary evaporator vaccum* sehingga perkolat terpisah dan berbentuk perkolat cair yang berwarna kecoklatan.

3.4.2 Pembuatan larutan Perkolat Secang

Untuk membuat larutan perkolat secang 10 % (b/v), pertama perkolat secang ditimbang sebanyak 10 g kemudian dilarutkan dengan 60 mL akuades pada gelas kimia endapan yang terbentuk disaring. Selanjutnya dipindahkan secara kuantitatif pada labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga volume 100 mL. Perkolat secang yang digunakan divariasikan mulai dari konsentrasi 0 (kontrol) 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 dan 2,0 % (b/v) yang keseluruhannya berjumlah 9 perlakuan.

3.4.3 Uji Pendahuluan Fenolik

Perkolat secang diambil 10 mg, diencerkan dengan 5 mL akuades, kemudian ditambah dengan larutan besi (III) klorida sebanya 3 mL dan diamati perubahan warna yang terjadi pada larutan campuran tersebut.

3.4.4 Uji Aktifitas Perkolat Secang terhadap Bakteri

3.4.4.1 Pembuatan Media Padat

Sebanyak 2 g nutrient agar dicairkan dalam 100 mL akuades dan dipanaskan sampai mendidih. Larutan nutrien agar di masukkan dalam 10 tabung reaksi (masing - masing 10 mL) dan ditutup dengan kapas. Selanjutnya larutan nutrien agar dalam tabung reaksi disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 15 Psi

kemudian diletakkan dalam posisi miring selama 24 jam pada suhu ruang.

3.4.4.2 Peremajaan biakan murni *P. aeruginosa* dan *S. aureus*

Biakan murni *P. aeruginosa* dan *S. aureus* digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat agar miring dan tabung media agar ditutup dengan kapas berlemak. Selanjutnya biakan *P. aeruginosa* dan *S. aureus* diinkubasi selama 48 jam pada temperatur 37 °C.

3.4.4.3 Pembuatan larutan Bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*

Diambil 1 ose dari hasil peremajaan biakan murni *P. aeruginosa* dan *S. aureus* ditambahkan 10 mL akuades steril kemudian dicampur hingga rata.

3.4.4.4 Uji Antibakteri

Metode difusi cakram digunakan untuk menentukan zona hambat dengan menggunakan kertas saring (disk) yang telah diberi perkolat secang. Media padat yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan dan dituangkan dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan bakteri aktif *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Kertas saring yang berbentuk cakram yang sebelumnya sudah dimasukkan ke dalam perkolat secang di letakkan pada permukaan media padat. Masing - masing cawan petri diisi dengan 4 kertas saring, kemudian diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 4 x 24 jam dengan tiga kali ulangan. Kontrol adalah biakan yang tidak diberi perkolat secang, tetapi ditambahkan akuades steril sebagai pengganti perkolat secang. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter daerah jernih menggunakan penggaris. Data disajikan dalam pembahasan dan lampiran 4.

3.4.5 Analisa Data

Berdasarkan data hasil pengaruh penambahan variasi konsentrasi perkolat kayu secang terhadap aktivitas *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dapat diketahui dengan uji keragaman data yang diperoleh menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dianalisis dengan Analisa Varian (Anava) satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada tiap perlakuan dan dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5 %.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

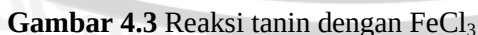
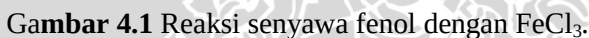
Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu secang yang selanjutnya diekstraksi dengan larutan etanol 96 % dengan memakai metode perkolasi. Hal ini bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa polar yang terkandung dalam kayu secang dan selain itu sebagai pengawet. Proses ekstraksi ini terlebih dahulu dilakukan proses perendaman yang bertujuan memecah dinding sel. Pemecahan dinding sel ini di akibat adanya perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada di sitoplasma terurai dalam pelarut organik. Selain itu dihasilkan warna yang lebih pekat apabila dibandingkan dengan sampel yang dilakukan tanpa proses ekstraksi dan perendaman. Hal ini didukung oleh penelitian (Isma, 2005) yaitu hasil ekstraksi kayu secang yang melalui proses perendaman mempunyai kadar 30 % dan untuk ekstrak secang yang tanpa proses perendaman adalah 20,1 %. Setelah 3 hari, maka proses perkolasi dapat dimulai. Laju alir pelarut dan penetesan hasil ekstraksi sekitar 28 tetes/menit ini dikarenakan proses penetesan berlangsung secara kontinyu sehingga sari dari tanaman secang dapat terekstrak dengan sempurna oleh pelarut etanol.

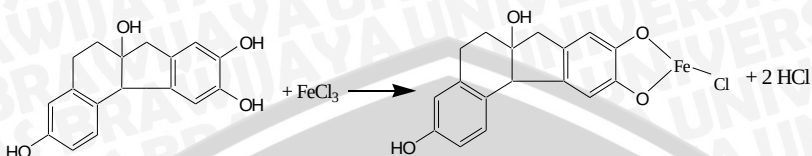
Hasil ekstraksi diperoleh perkolat yang berwarna merah. Perkolat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* bertekanan rendah sampai diperoleh perkolat pekat berwarna coklat.

Perkolat pekat yang diperoleh ditambahkan akuades sehingga diperoleh fraksi yang larut dan tidak larut dalam air. Fraksi yang larut dalam air berwarna coklat kekuningan digunakan sebagai larutan perkolat. Hal dikarenakan pada fraksi yang larut dalam air lebih cenderung memberikan indikasi adanya senyawa fenol. Selanjutnya dilakukan uji fenolik terhadap perkolat secang dan uji aktivitas terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* pada berbagai variasi.

4.2 Uji Pendahuluan Fenolik

Menurut Anonim^a (2006), kayu secang mengandung zat kimia yaitu resorsin, brasilin, brasilien, asam galat dan tanin merupakan turunan senyawa fenol yang dapat bersifat sebagai zat antibakteri.





Gambar 4.4 Reaksi brasilin dengan FeCl₃

Hasil uji fenolik menunjukkan bahwa dalam reaksi antara larutan perkolat dengan larutan FeCl₃ menghasilkan reaksi positif yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari coklat kekuningan menjadi coklat kehijauan. Perubahan warna ini disebabkan oleh adanya gugus *o*-dihidroksi benzen (katekol) pada struktur senyawa tanin yang ditunjukkan pada Gambar 4.3 (Geissman, 1962). Kemudian reaksi gugus OH pada posisi meta ditunjukkan oleh reaksi antara senyawa resorsin dengan larutan FeCl₃ pada Gambar 4.2. Reaksi positif yang ditunjukkan oleh senyawa turunan fenol mengindikasikan bahwa kayu secang diduga bersifat sebagai zat antibakteri. Brasilin merupakan komponen terbesar dari kayu secang yang memiliki 4 gugus hidroksi struktur senyawa aromatisnya.

4.3 Uji Antibakteri

Uji aktivitas perkolat secang sebagai bahan zat antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan parameter yang digunakan yaitu penentuan diameter hambat dengan satuan mm.

Hasil pengujian daya hambat terhadap *P. aeruginosa* dan *S. aureus* menunjukkan hasil yang berbeda pada setiap perlakuan. Tabel 4.1 dan 4.2 menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk pada variasi konsentrasi dari 0 sampai 2,0 % (b/v).

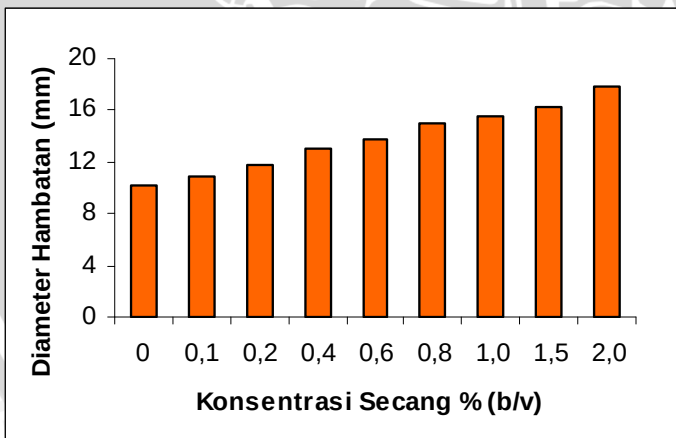
Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 2,0 % (b/v) dengan nilai diameter hambat 17,88 mm dan diameter terkecil terdapat pada konsentrasi 0,1 % (b/v) dengan nilai 10,96 mm terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0 sampai dengan 0,6 %, 1,5 % dan 2,0 % (b/v) bakteri memberikan nilai hambat yang berbeda nyata, sedangkan dari konsentrasi 0,8 % dan 1,0 % (b/v) tidak memberikan hasil yang berbeda nyata.

Tabel 4.1. Rata - rata diameter zona hambat pada media yang ditumbuhi Bakteri *P. aeruginosa*.

Konsentrasi Perkolat Secang % (b/v)	Rata-Rata (mm)
0	10,18 ^a
0,1	10,96 ^b
0,2	11,81 ^c
0,4	13,02 ^d
0,6	13,8 ^e
0,8	15,04 ^f
1,0	15,51 ^f
1,5	16,26 ^g
2,0	17,88 ^h

Keterangan : Angka - angka dalam satu kolom yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95 % dengan metode uji Duncan.

Perkolat kayu secang pada konsentrasi 0,1 % berbeda nyata dengan kontrol (0 %), hal ini menunjukkan perkolat kayu secang memberikan nilai hambat mulai dari konsentrasi 0,1 % (b/v) dan seiring dengan meningkatnya konsentrasi, maka daya hambat yang dihasilkan juga semakin besar.



Gambar 4.5 Grafik hubungan antara diameter hambat dengan konsentrasi perkolat secang pada bakteri *P. aeruginosa*.

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.5 dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi perkolat kayu secang, maka daya hambat yang dihasilkan juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Greenwood (1995) dan Pelzcar (1994) yang menyatakan bahwa bila semakin besar konsentrasi antimikroba, maka zona hambat yang terbentuk juga akan semakin besar.

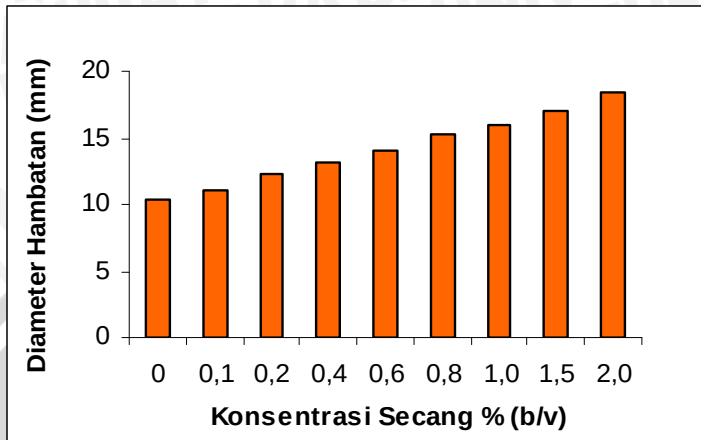
Tabel 4.2 menunjukkan rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* dimana zona hambat yang terbesar terdapat pada konsentrasi 2,0 % (b/v) dengan nilai 18,39 mm sedangkan untuk diameter hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 0,1 % dengan nilai hambat sebesar 11,14 mm.

Tabel 4.2. Rata- rata diameter zona hambat pada media yang ditumbuhi bakteri *S. aureus*.

Konsentrasi Perkolat Secang % (b/v)	Rata-rata (mm)
0	10,27 ^a
0,1	11,14 ^b
0,2	12,27 ^c
0,4	13,22 ^d
0,6	14,05 ^e
0,8	15,28 ^f
1,0	15,93 ^g
1,5	17,03 ^h
2,0	18,39 ⁱ

Keterangan : Angka - angka dalam satu kolom yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama menunjukkan beda nyata pada taraf kepercayaan 95 % dengan metode uji Duncan.

Grafik pada Gambar 4.6 dapat dilihat bahwa dengan semakin besar konsentrasi perkolat kayu secang, maka daya hambat terhadap bakteri semakin besar. Hal ini didukung dengan pernyataan Pelzcar (1994), bahwa semakin besar konsentrasi zat antimikroba yang digunakan, maka semakin besar pula kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.



Gambar 4.6 Grafik hubungan antara diameter hambatan dengan konsentrasi perkolat secang pada bakteri *S. aureus*.

Hasil uji Duncan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* menunjukkan bahwa kontrol (0 %) berbeda nyata dengan konsentrasi 0,1 % sampai dengan 2,0 % (b/v). Hal ini menunjukkan bahwa perkolat kayu secang memberikan daya hambat mulai dari konsentrasi 0,1 % (b/v) dan seiring dengan makin besarnya konsentrasi antimikroba, maka daya hambat yang dihasilkan semakin besar.

Berdasarkan data Tabel 4.1 dan 4.2 serta Gambar 4.5 dan 4.6 pada *P. aeruginosa* dan *S. aureus*, menunjukkan bahwa antara bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* memiliki daya hambat yang berbeda nyata dengan kontrol mulai dari konsentrasi 0,1 % (b/v). Hal ini menunjukkan bahwa sensitivitas bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* adalah sama.

Menurut Prekalkulasi Ahn *et al.*, (1994), bahwa daya hambat perkolat kayu secang mulai dari konsentrasi 0,1 % sampai 1,0 % (b/v) merupakan antibakteri yang bersifat lemah, baik pada bakteri *P. aeruginosa* maupun *S. aureus*. Sedangkan pada konsentrasi 1,5 % dan 2,0 % (b/v), perkolat kayu secang merupakan zat antibakteri yang bersifat sedang didalam menghambat bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

Berdasarkan kedua data diatas maka dapat diklasifikasikan respon hambat yang berdasarkan prekalkulasi Ahn *et al.*,(1994) yang ditunjukkan oleh Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Klasifikasi respon hambat pada media yang ditumbuhi bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* menurut Ahn *et al.*, (1994).

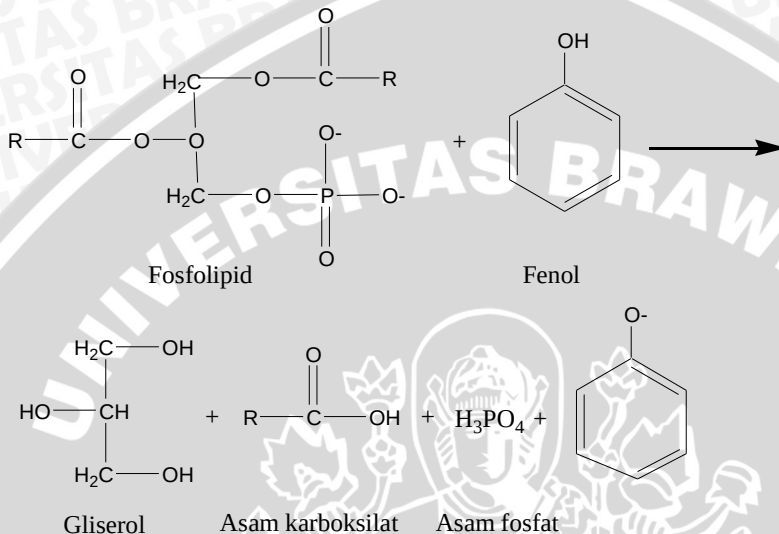
Konsentrasi Perkolat Kayu Secang % (b/v)	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
0	-	-
0,1	+	+
0,2	+	+
0,4	+	+
0,6	+	+
0,8	+	+
1,0	+	+
1,5	++	++
2,0	++	++

Keterangan : - = tidak ada respon hambat; += respon hambat lemah; ++ = respon hambat sedang.

Berdasarkan hasil uji aktivitas, menunjukkan bahwa perkolat secang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya daerah bening disekitar cakram (artinya tidak ada pertumbuhan bakteri). Sehingga dari pengamatan diameter zona hambat pada masing-masing cakram diketahui KHM (Kadar Hambat Minimum) tertinggi perkolat secang adalah pada konsentrasi 2,0 % (b/v) dan terendah pada konsentrasi 0,1 % (b/v) terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

Konsentrasi perkolat secang memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* sedangkan terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* tidak berbeda nyata, dikarenakan *S. aureus* merupakan bakteri gram positif dan *P. aeruginosa* gram negatif, selain itu karena perbedaan struktur dinding selnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1993) bahwa bakteri yang termasuk gram positif cenderung lebih sensitif dibandingkan dengan gram negatif disebabkan susunan dinding sel bakteri gram positif umumnya lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri gram negatif, sehingga lebih mudah ditembus oleh antimikroba. Bakteri gram positif 90 % kandungan dinding selnya adalah peptidoglikan.

Sedangkan bakteri gram negatif komponen dinding selnya mengandung 5-20 % peptidoglikan selebihnya terdiri dari protein lipopolisakarida dan lipoprotein.



Gambar 4.7 Mekanisme perusakan senyawa fosfolipid pada membran sel bakteri oleh senyawa fenol.

Mekanisme penghambatan atau kematian mikroba akibat suatu senyawa kimia disebabkan oleh beberapa hal yaitu kerusakan dinding sel, kebocoran membran sitoplasma serta penghambatan sintesis protein. Dimana secara kimia membran sitoplasma terdiri atas fosfolipida yang mengandung gliserol, asam lemak dan fosfat serta protein yang terpadu didalamnya (Volk dan Margareth, 1993). Adanya senyawa tersebut akan menyebabkan interaksi dengan fosfolipida sehingga fosfolipida tidak mampu melaksanakan fungsinya dengan baik dan akan mengalami kerusakan. Bila fosfolipida itu rusak dan tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma hingga membran sitoplasma menjadi bocor. Bocornya membran sitoplasma menyebabkan zat-zat yang diperlukan untuk metabolisme sel bakteri akan terbuang keluar dan dapat mencegah masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi, akibatnya bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Maka dapat dianalogikan senyawa fenol yang terkandung dalam kayu

secang yang memiliki gugus OH akan melakukan mekanisme penghambatan pertumbuhan yang sama.

Perkolat kayu secang yang memiliki sifat hipertonis (dengan sedikit kandungan air) bila dibandingkan dengan lingkungan dalam tubuh *P. aeruginosa* dan *S. aureus* akibatnya terjadi efek osmosis terhadap *P. aeruginosa* dan *S. aureus* yang ditandai dengan keluarnya cairan dari dalam tubuh kuman ke lingkungan luar. Selain itu kandungan air yang sedikit dalam perkolat kayu secang tidak mencukupi kebutuhan *P. aeruginosa* dan *S. aureus* untuk kelangsungan hidupnya. Hal-hal tersebut mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan *P. aeruginosa* dan *S. aureus* bahkan dapat menyebabkan kematian dari *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Perkolat kayu secang dari 0 % (b/v) sampai dengan 2,0 % (b/v) menunjukkan adanya pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dengan nilai hambat terbesar 17,88 mm, semakin besar konsentrasi perkolat secang, maka daya hambat yang dihasilkan semakin besar juga.
2. Perkolat kayu secang dari 0 % (b/v) sampai dengan 2,0 % (b/v) menunjukkan adanya pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan nilai hambat terbesar 18,39 mm, semakin besar konsentrasi perkolat secang, maka daya hambat yang dihasilkan semakin besar juga.

5.2 Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perkolat kayu secang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri, oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut mengenai pemurnian senyawa yang terkandung dalam perkolat kayu secang.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, Y.j., S.H. Chae, I.H. Joeng and D.H. Choi, 1994, **Growth Inhibiting Effect of Coptis Japonica root-derived Isoquinoline Alkaloid on Human Intestinal Bacteria**, Journal of Agriculture and Food Chemistry, vol.VII, hal. 25
- Andriayani, F., 2004, **Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstraksi Daun Dewa (*Gynura pseudochina*) Segar dan Bubuk Daun Dewa**, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, hal.1-2
- Anonim^a, 2006, **Konsumen**, <http://suaramerdeka.com/news.htm>, diakses tanggal 09 Agustus 2006
- Anonym^b, 2006, **Sappanwood**, http://en.wikipedia.org/wiki/Caesalpinia_sappan, diakses tanggal 13 Oktober 2006
- Anonim^c, 2005, **Resorsin**, <http://www.infoplese.com/ce6/sci/A0847807.html>, diakses tanggal 8 Februari 2006
- Anonim^d, 2006, **Varying Methods Used to Extract Essential Oils** http://www.scentedvisions.com/home/index.php?option=com_content&task=view&id=15&Itemid=42, diakses tanggal 20 September 2006
- Brock, T.D., and M.T. Madigan, 1991, **Biology of Microorganism**. 6th edition, Prentice Hall internasional, Inc, Illionis, hal. 338-342
- Brooks G.F., Butel J.S., and Morse S.A., 2001, **Jawetz, Melnick dan Alderberg's Mikrobiologi Kedokteran**, buku 1, Salemba Medika, Jakarta, hal. 235
- Dewi, A.S., 2004, **Identifikasi dan Studi Aktivitas Antioksidatif Flavonoid dari Ekstrak Etanol 70% Propolis Lebah *Apis mellifera***, *Skripsi*, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang, hal. 29

Entjang, Indah., 2001, **Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan**, PT Citra Aditya Bakti. Bandung, hal. 78-79

Fardiaz, Srikandi, 1993, **Analisis Mikrobiologi Pangan**, Raja Grafindo Perkasa, Jakarta, hal. 65-67

Geissman, T.A., 1962, **Principles Of Organic Chemistry**, University Of California, Los Angeles, hal. 656-659

Gilman, A.G., T. Rall. Nies, and P. Taylor, 1991, **The Pharmalogical Basic of Theraupetics**, Pengamongan Press In, New York, hal. 246-252

Greenwood, 1995, **Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test**, Antimicrobial and Chemoterapy, hal. 105

Harborne, J. B., 1987, **Metode Fotokimia: Penentun cara Modern Menganalisis Tumbuhan**, Edisi Kedua, ahli Bahasa : Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung, hal. 68- 101

Heath, J.B., and G., Reinessius, 1987, **Flavor Chemistry and Technology**, Van Nostrand reinhold co, New York, hal. 199-200

Heyne, 1987, **Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II**, Terjemah badan Litbarg Kehutanan Jakarta, Departemen Kehutanan, Jakarta, hal. 70-72

Isma, Novianti, 2005, **Pengaruh Cara Ekstraksi dan Penambahan Na-CMC terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Sirup Berbasis Kayu Secang (*C.sappan Linn*)**, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, hal. 25-26

Lemmen, R.H.M.J., and Wujarni, N., 1991, **Plant Resources of SoutheastAsia No.3 : Dye and Tanin Producing Plant Wageningen**. The Netherland : Pudoc/Prosea. Netherland, hal. 114-120

- Nadzifah, R., 2006, **Potensi Ekstrak Kayu Tanaman Obat Sebagai Antibakteri**, *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang, hal. 1-2 ; 35-36
- Pelzcar, M. J., dan Chan, E. C. S., 1994, **Dasar-Dasar Mikrobiologi**, Penerjemah : Hadieotomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., Jilid 2, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, hal. 447-506
- Puspaningrum. R., 2003, **Pengaruh Ekstrak Kayu Secang Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Limpa Tikus dan Sel Kanker K-563 Secara In Vitro**, *Skripsi*, IPB, Bogor, hal. 26
- Schlegel, H.G., 1994, **Mikrobiologi Umum**, edisi keenam, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal. 234
- Sundari, D.W.L., dan Winarno, M.W., 1998, **Informasi Khasiat Kimiawan Fitokimia Tanaman Secang (*Caesalpania sappan Linn*)**, Warta Tumbuhan Obat Indonesia 4, hal. 1-5
- Todar, Kenneth, 2005, ***Staphylococcus aureus***, <http://textbookofbacteriology.net/Staphylococcus.html>, University Of Wisconsin-Madison Department Of Bacteriology, Diakses tanggal 20 September 2006, hal. 1-3
- Todar, Kenneth, 2004, ***Pseudomonas aeruginosa***, <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>, University Of Wisconsin-Madison Department Of Bacteriology, Diakses tanggal 20 September 2006, hal. 1-5
- Voigt, Rudolf, 1994, **Buku Pelajaran Teknologi Farmasi**, edisi 5, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal. 223
- Volk, W.A., dan Margareth F.W., 1993, **Mikrobiologi Dasar**, Edisi kelima. Jilid I : Markham, Penerbit Erlangga, Jakarta, hal. 123-129
- Wijayakusuma, H.H.M, S. Dalimarta, dan A.S. Wirian., 1998, **Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia**, Jilid 4, Pustaka Kartini, Jakarta, hal. 24

Wijayakusuma, H.H.M., 2005, **Sehat Dengan Secang.**

<http://www.suarakarya-online.com/news.html?id=59719>,

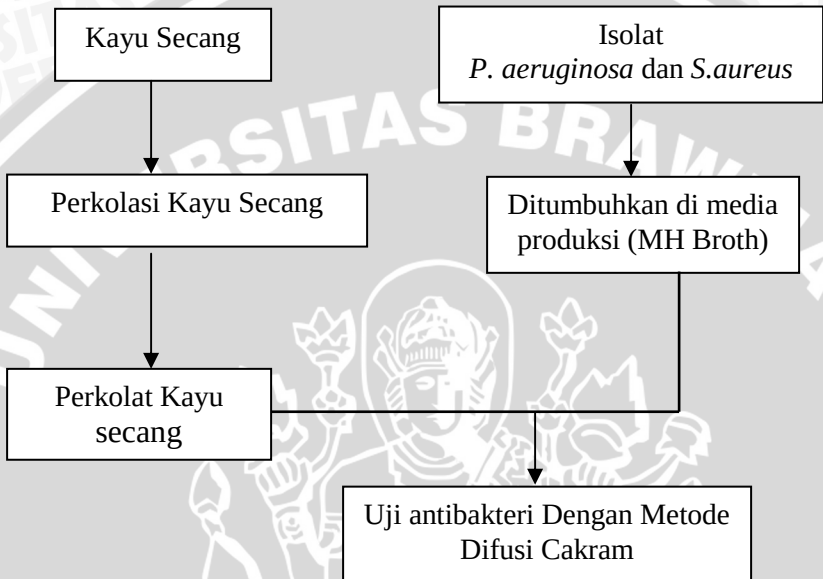
diakses tanggal 10 September 2006, hal. 36

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



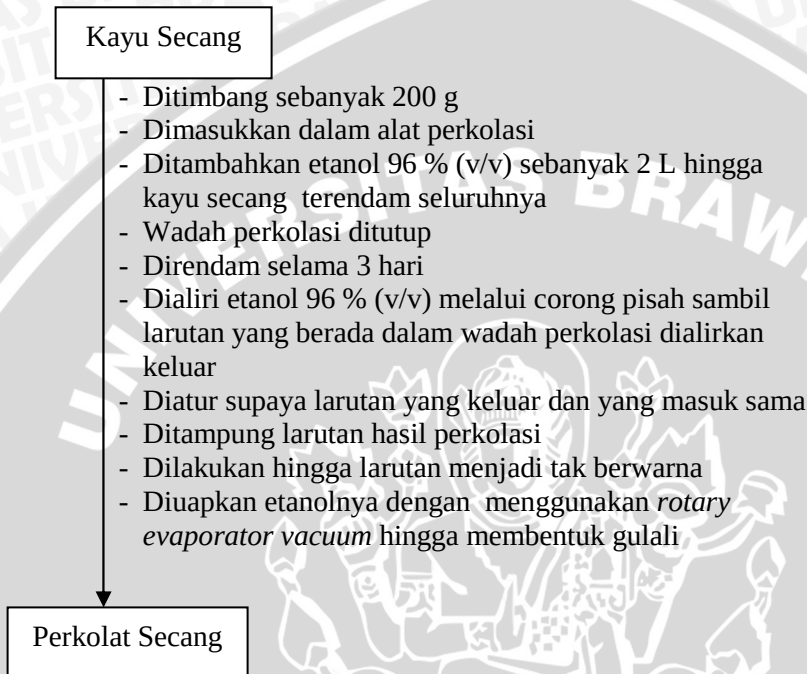
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

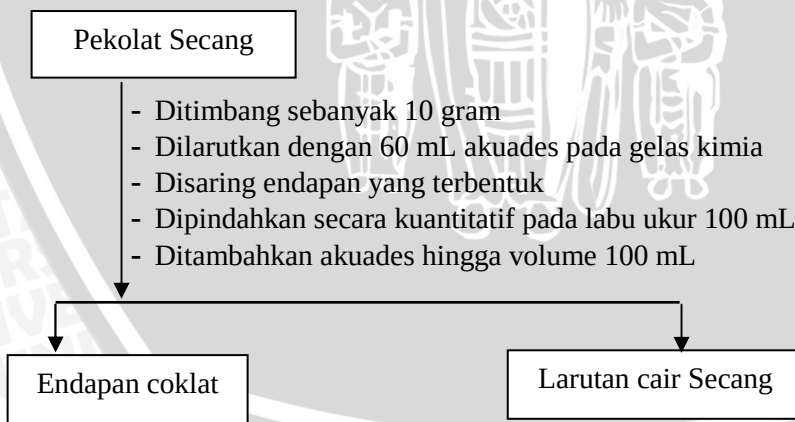


Lampiran 2. Diagram Kerja

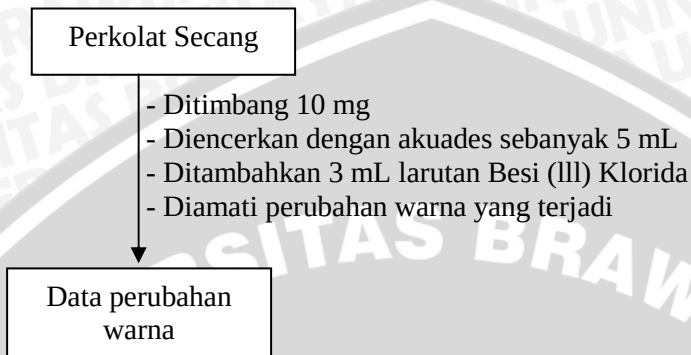
2.1 Perkolasi Kayu Secang



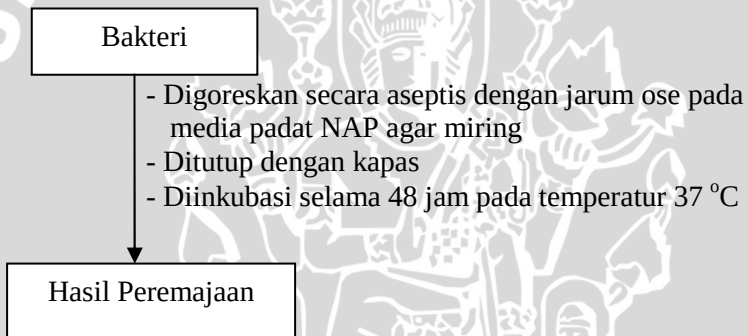
2.2 Pembuatan Larutan cair Perkolat Secang



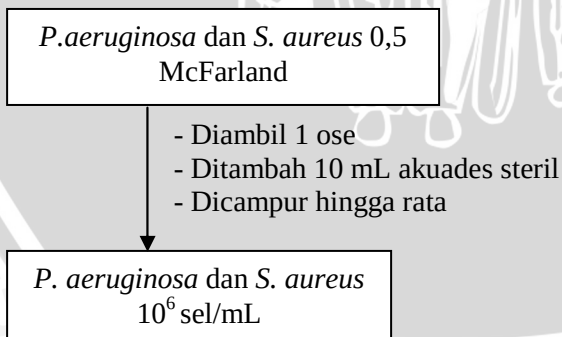
2.3 Uji Fenolik



2.4 Peremajaan biakan murni *P. aeruginosa* dan *S. aureus*



2.5 Pembuatan Larutan Bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* 10^6 sel/mL



2.6 Pembuatan Nutrient Agar Plate

Nutrien Agar

- Ditimbang sebanyak 2 gram
- Dicairkan dalam 100 mL akuades dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk
- Dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 10 mL dan ditutup dengan kapas
- Disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121 °C tekanan 15 Psi selama 15 menit
- Didinginkan dalam keadaan miring selama 24 jam.

Media Padat NAP

2.7 Uji Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

Media padat

- Dipanaskan hingga mencair
- Didinginkan pada dan dituangkan dalam cawan petris steril.
- Ditambahkan 0,1 mL larutan bakteri aktif *P.aeruginosa* dan *S. aureus* dihomogenkan dan dibiarkan memadat
- Diberi kertas saring yang telah diserapkan pada perkolat secang dan diletakkan pada permukaan media padat
- Diinkubasi pada temperatur 37 °C selama 24 jam
- Diukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan penggaris.

Data diameter hambat

Lampiran 3. Uji Statistika Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

Tabel L. 3.1 Hasil analisa data Pengaruh Konsentrasi Perkolat Secang Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *P. aeruginosa*.

Bakteri	Diameter Zona Hambat								
	0%	0,1%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%	1,0%	1,5.%	2,0%
1	10,23	10,55	11,22	12,45	13,23	15,15	15,36	16,79	18,23
2	10,25	11,33	12	13,4	14,15	15	15,33	15,98	17,42
3	10,06	11	12,21	13,23	14,02	14,99	15,86	16,02	18
Total	30,54	32,88	35,43	39,08	41,4	45,14	46,55	48,79	53,65
Rata-Rata	10,18	10,96	11,81	13,02	13,8	15,04	15,51	16,26	17,88

Tabel L. 3.2 Hasil analisa data Pengaruh Konsentrasi Perkolat Secang Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *S. aureus*.

Bakteri	Diameter Zona Hambat								
	0%	0,1%	0,2%	0,4%	0,6%	0,8%	1,0%	1,5%	2,0%
1	10,25	11,12	12,45	13,35	14,15	15,75	16,25	17,45	18,95
2	10,25	11,33	12,13	13,22	14	15,1	15,7	16,55	18,21
3	10,32	10,99	12,25	13,1	14,02	14,99	15,86	17,11	18,01
Total	30,82	33,44	36,83	26,57	42,17	45,84	47,81	51,11	55,17
Rata-Rata	10,27	11,14	12,27	13,22	14,05	15,28	15,93	17,03	18,39

Tabel L. 3.3 Tabel Anova

Sumber Keragaman		db	JK	KT	F _{hit}	Sig.
<i>P. aeruginosa</i>	Perlakuan	8	158,885	19,861	125,863	0,000
	Galat	18	2,840	0,158		
	Total	26	161,726			
<i>S.aereus</i>	Perlakuan	8	177,590	22,199	256,162	0,000
	Galat	18	1,560	0,087		
	Total	26	179,150			

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

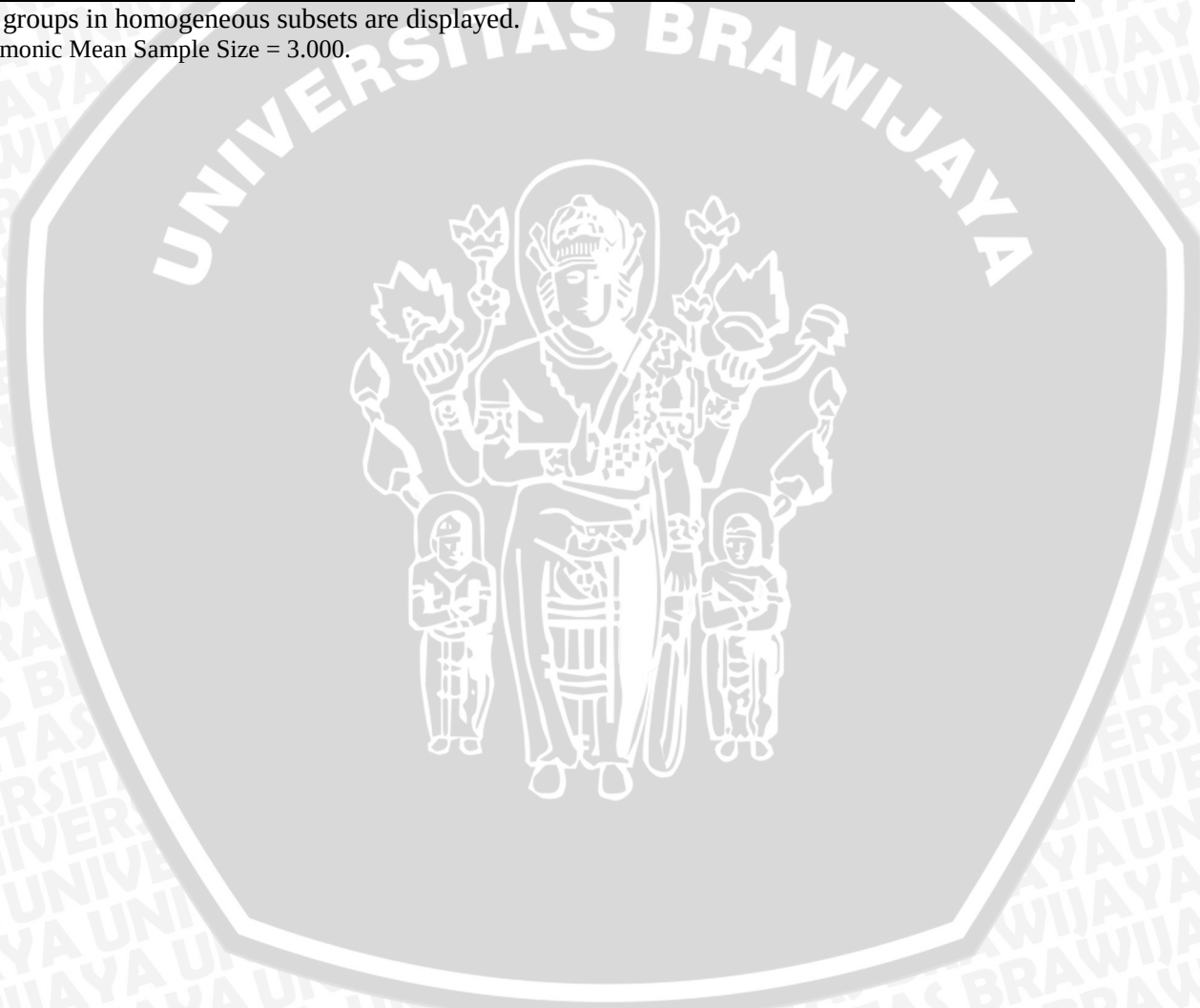


Tabel L. 3.4 Tabel Uji Duncan Terhadap Diameter Hambat oleh Bakteri *P.aeruginosa*.

Konsentrasi	N	Subset for alpha =0,05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	10,18							
0.1	3		10,96						
0.2	3			11,81					
0.4	3				13,02				
0.6	3					13,80			
0.8	3						15,04		
1.0	3						15,51		
1.5	3							16,26	
2.0	3								17,88
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,165	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



Tabel L. 3.5 Tabel Hasil Uji Duncan terhadap diameter hambat oleh Bakteri *S. aureus*.

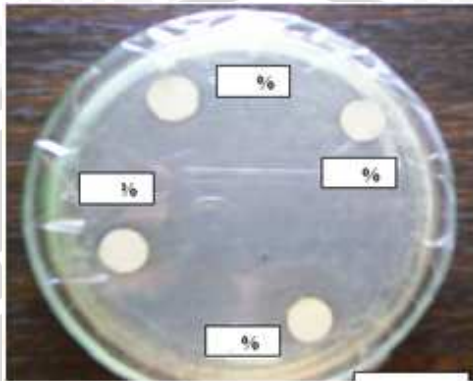
Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0,05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	3	10,27								
0.1	3		11,14							
0.2	3			12,27						
0.4	3				13,22					
0.6	3					14,05				
0.8	3						15,28			
1.0	3							15,93		
1.5	3								17,03	
2.0	3									18,39
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

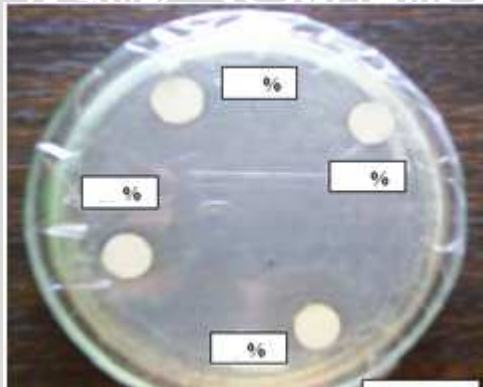
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



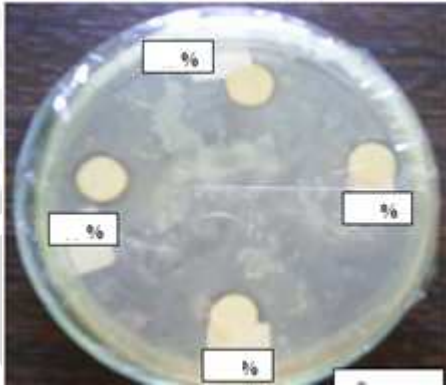
Lampiran 4. Gambar Uji Antibakteri



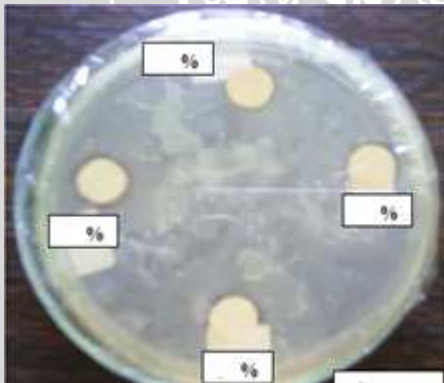
Gambar L 4.1 Zona hambat pada media yang ditumbuhi *P. aeruginosa* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi perkolat kayu secang 0; 0,1; 0,2 dan 0,4 % (b/v).



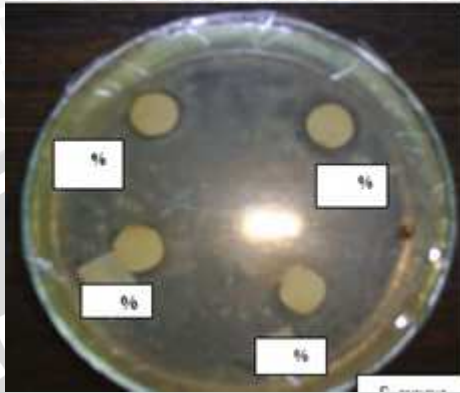
Gambar L 4.2 Zona hambat pada media yang ditumbuhi *S. aureus* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi perkolat kayu secang 0; 0,1; 0,2 dan 0,4 % (b/v).



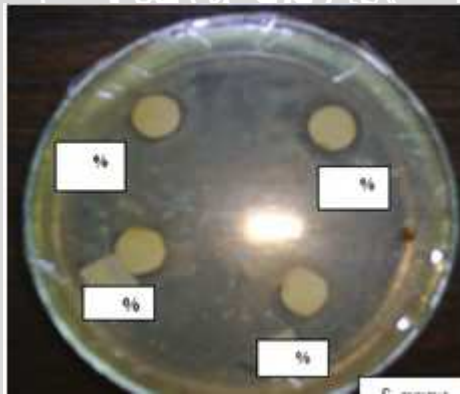
Gambar L 4.3 Zona hambat pada media yang ditumbuhi *P. aeruginosa* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi perkolat kayu secang 0; 0,4; 0,6 dan 0,8 % (b/v).



Gambar L 4.4 Zona hambat pada media yang ditumbuhi *S. aureus* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi perkolat kayu secang 0; 0,4; 0,6 dan 0,8 % (b/v).



Gambar L 4.5 Zona hambat pada media yang ditumbuhi *P. aeruginosa* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi perkolat kayu secang 2,0; 1,5; 1,0; dan 0,8 % (b/v).



Gambar L 4.6 Zona hambat pada media yang ditumbuhi *S. aureus* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi perkolat kayu secang 2,0; 1,5; 1,0 dan 0,8 % (b/v).

Lampiran 5. Gambar Proses Ekstraksi Perkolasi



Corong Pisah

Labu Perkolasi

Erlemeyer

Lampiran 6. Gambar Alat Rotari evaporator vacuum.



Labu Distilasi

Labu Distilat

Kolom Distilasi