

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A Tinjauan Tentang *Usnea spp*

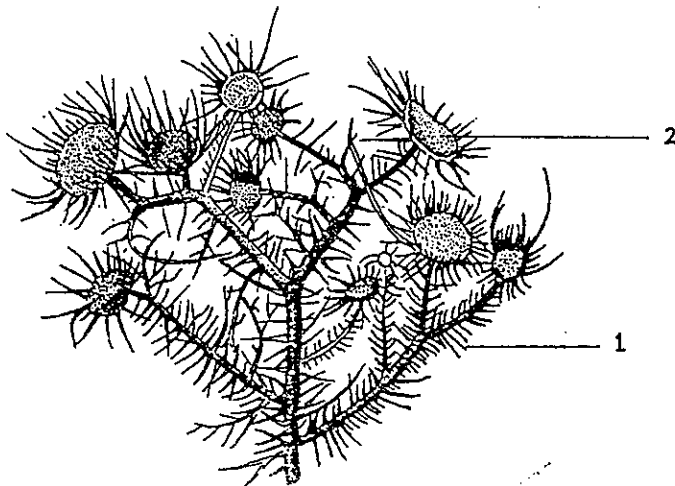
*Usnea spp* tersebar hampir di seluruh dunia di daerah-daerah pegunungan ( di atas 1000 m). Di Indonesia *Usnea spp* mudah didapat dan banyak dijual di toko jamu tradisional dengan nama daerah yang bermacam-macam, misalnya janggut rabion (Batak), Cirik Angin (Minangkabau), Tahi Angin (Melayu), Kayu Angin (Jawa Tengah), Tea Angin (Makasar), Anin Tain (Seram), Dumamaata (Halmahera), Gori Maiho (Ternate), Taen Urep (Nusa Tenggara) (Heyne, 1987)

Menurut Alexopoulos and Minis (1979) klasifikasi *Usnea spp* adalah :

- Divisio : Thalophyta
- Sub Divisio : Lichenes
- Klass : Ascholichenes
- Sub klass : Hymenoascolichenes
- Ordo : Lecanorineae
- Famili : Usneaceae
- Genus : *Usnea*
- Spesies : *Usnea spp*

*Usnea spp* termasuk tanaman epifit tahunan, hidup menempel pada pohon yang keras. Thalus seperti benang, tegak atau bergantung, tanpa rhizoid-rhizoid dan melekat

pada substrat dengan suatu cakram pelekak yang berasal dari lapisan teras (empulur).



keterangan gambar :

1. thalus
2. apothesium

Gambar 01. Morfologi tanaman Kayu Angin (*Usnea spp.*)  
(Tjitrosoepomo, 1991)

Thalus bercabang-cabang yang bentuknya seperti serabut, kulit seperti tanduk, rapuh terdiri atas hipa-hipa berdinding tebal, berseptata dan tegak lurus pada poros bujur. Lapis teras (empulur) terdiri atas dua bagian :

- Bagian luar seperti jaring laba-laba, lepas terdiri dari hifa-hifa yang berdinding tipis.
- Bagian dalam seperti tanduk, merupakan suatu bagian yang mudah dipisahkandari lapis teras yang luar.

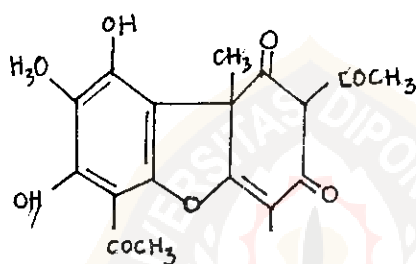
Lapis gonidia (sel-sel ganggang) melingkar membentuk silinder dan terdiri atas sel-sel proctococcus. Soredia yang tampak banyak merupakan cabang-cabang soredia (Tjitrosoepomo, 1994). Badan buah berupa apotesium yang berbentuk bulat, biasanya besar dengan tepi berambut. Askus mengandung 8 spora. Spora tidak berwarna, bulat atau lonjong, kecil, berdinding tipis (Heyne, 1987).

#### B. Sifat dan Komposisi Bahan Kimia *Usnea spp*

*Usnea spp* mengandung asam usnin, babatolat, usnetin dan asam barbatin (Anonim, 1984), Disamping itu *Usnea spp.* juga mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Sharma (1992) melaporkan bahwa asam usnin yang dikandung *Usnea spp.* mempunyai potensi antibakteri yang efektif terhadap bakteri gram positif.

Kandungan asam usnin dalam *Usnea spp.* akan mengalami penurunan bila disimpan dalam keadaan basah, dan asam usnin juga dapat mengalami kerusakan oleh logam (misalnya, besi). Pada penyimpanan selama 40 hari dengan kelembaban relatif yang sesuai dan diekstrak dengan metode Marshark, menunjukkan tidak hilangnya kandungan asam usnin. Ekstraksi lichen (lumut kerak) dengan peralatan dari "stainless steel" menunjukkan persentasi hasil yang sama dengan menggunakan peralatan dari gelas (Stark, Walter and Owen, 1950).

Hasil isolasi asam usnin dari *Ramalina reticulata* oleh Marshaks dalam bentuk kristal menunjukkan sifat, dapat larut dalam aceton panas, alkohol, eter, larut sedikit demi sedikit dalam minyak panas dan tidak larut dalam air. Rumus molekulnya  $C_{18}H_{16}O_7$  dengan berat molekul 334.31 dan melebur pada suhu  $193 - 194^{\circ}C$  (Florey, Chain, Hatley, Jennings, Sounders and Abraham, 1959). Hasil penelitian lain menyebutkan bahwa sifat toksisitas asam usnin menunjukkan  $LD_{50}$  2 mg per 25 gr berat badan tikus dalam 18 jam, subkutaneus (Hale and Ahmadjian, 1973).



Gambar 02. Struktur kimia asam usnin pada *Usnea spp*  
(Hale and Ahmadjian, 1973)

### C. Tinjauan Tentang Bakteri Penguji

Bakteri merupakan organisme bersel tunggal yang hidup bebas, tanpa klorofil dan memiliki baik DNA maupun RNA; mampu menunjukkan proses-proses dasar kehidupan misalnya, tumbuh, metabolisme dan perkembangbiakkan. Sebagian besar bakteri mempunyai ukuran yang sangat kecil, hanya beberapa mikron dan mempunyai bentuk yang

bermacam-macam seperti, bulat (kokus), batang (silindris), atau spiral ada yang bergerak dengan flagel, berpili, mampu membentuk kapsul (lapisan lendir), membentuk endospora, berkembangbiak dengan pembelahan biner (Pelzcar and Chan, 1986).

Bakteri juga mempunyai dinding sel, tiap kelompok bakteri mempunyai komposisi dinding sel yang berbeda-beda, sehingga hal ini penting dalam membedakan satu kelompok bakteri dengan kelompok bakteri lainnya. Berdasarkan perbedaan komposisi dinding sel dan sifat pewarnaannya bakteri dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu, bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Pelzcar and Chan, 1986). Pada dinding sel bakteri gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang lebih tinggi dibanding gram negatif, sedang kandungan lipidanya rendah kecuali pada *Mycobacterium*. Bakteri gram positif mempunyai asam teikoat (teichos=dinding). Asam teikoat merupakan polisakarida yang bersifat asam dan mengandung ulangan rantai gliserol dan ribitol (Bibiana dan Hastowo, 1992).

Dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dibanding gram positif. Pada bakteri gram negatif mempunyai membran luar yang terdiri atas fosfolipida, polisakarida dan protein. Lipida dan polisakarida ini berhubungan erat dan membentuk struktur khas yang disebut lipopolisakarida (LPS) (Bibiana dan Hastowo, 1992).

Adanya perbedaan komposisi dan struktur dinding sel, akan menyebabkan kedua kelompok bakteri ini memberikan respon yang berbeda terhadap berbagai perlakuan seperti pewarnaan gram, tekanan mekanis dan fisik, pemberian enzim, desinfektan dan antibiotik-antibiotik tertentu. Beberapa perbedaan sifat-sifat bakteri gram positif dan gram negatif dapat dilihat pada Tabel berikut ini :

Tabel 1. Perbedaan relatif bakteri gram positif dan gram negatif (Pelczar, Reid and Chan, 1977).

ciri-ciri	perbedaan sifat	
	gram positif	gram negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80nm) berlapis tunggal	tipis (10-15nm) belapis tiga
komposisi dinding sel	kandungan lipid rendah (1 - 4%)	kandungan li- pid (11-22%)
Kerentanan terhadap penicilin	lebih rentan	kurang rentan
persyaratan nutrisi	relatif lebih rumit	relatif seder- hana
resistensi terhadap gangguan fisik	lebih resisten	kurang resis- ten

## 1. *Pseudomonas aeruginosa*

### 1.1. Sistematika

Divisio	:	Bacteria
Klass	:	Schizomycetes
Ordo	:	Pseudomonadales
Familia	:	Pseudomonadaceae
Genus	:	<i>Pseudomonas</i>
Spesies	:	<i>Ps. aeruginosa</i>

(Murray, Brenner, Bryant, Holt, Krieg, Moulder, Pfenning, Sneath and Staley, 1984)

Ciri-ciri *Ps. aeruginosa*, Bentuk batang pendek, 0.5 - 0.8 x 1.5 - 3.0  $\mu\text{m}$ , dapat tunggal, berkelompok, atau dalam bentuk rantai pendek, dapat bergerak (motil) dengan flagel polar monothrichous, tidak membentuk kapsul, tidak menunjukkan adanya fase istirahat, termasuk gram negatif. (Buchanan and Gibbson, 1974). Dalam kultur cair menyebabkan kekeruhan yang pekat dan membentuk selaput, sedang dalam medium agar terlihat koloni besar, keruh, tak teratur dengan konsistensi seperti mentega, dan baunya seperti bau tanah atau tikus (Gupte, 1992).

Bersifat obligat aerobik, metabolisme dengan respirasi (tidak fermentatif), dapat tumbuh dengan baik pada pH netral atau basa (7 - 8), temperatur optimal 37°C, dapat tumbuh pada suhu 41°C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 4°C. Dapat ditemukan pada tanah, air, pembalut luka

bakar dan infeksi saluran kemih (Buchanan and Gibbson 1974).

*Ps. aeruginosa* bersifat patogen, biasanya menjadi penyebab infeksi sekunder pada luka, luka bakar, tukak menahun pada kulit yang menyebabkan luka bernanah dan peradangan. Disamping itu dapat pula sebagai penyebab infeksi nosokomial dan menyebabkan infeksi pada bayi (Jawetz and Melnick, 1982)

Banyak galur *Ps. aeruginosa* dapat menghasilkan eksotoksin in vitro dan mungkin in vivo, yang dapat menghambat sintesis protein dan menyebabkan nekrosis jaringan (Jawetz and Melnick, 1982). Disamping itu dapat menghasilkan piosianin yaitu pigmen yang dapat berdifusi ke sekitar media dan dapat larut dalam air (Buchanan and Gibbson, 1974).

## 2. *Escherichia coli*

### 2.1. Sistematika

Divisio	: Bacteria
Klass	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>E. coli</i>

(Murray *et al*, 1984)



Ciri-ciri *E. coli*, Bentuk batang pendek, berukuran 1,1 - 1,5 x 2,0 - 6,0  $\mu\text{m}$ , dapat dalam bentuk tunggal atau berkelompok, bergerak dengan flagel peritrichous, tidak berspora, dapat membentuk kapsul, berfili, termasuk gram negatif (Murray *at al*, 1984). Dalam kultur cair menunjukkan kekeruhan yang merata, sedang dalam media agar koloni terlihat halus, bentuk bulat bergaris tengah 1-3 mm, licin, tak berwarna, tepi rata, konsistensi seperti mentega dan koloni mudah diemulsikan (Gupte, 1992).

Bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pada kondisi anaerob energi diperoleh dengan fermentasi. Tumbuh pada kisaran suhu antara 20<sup>o</sup> - 40<sup>o</sup>C dan optimum pada suhu 37<sup>o</sup>C (Buchanan and Gibson, 1974).

*E. coli* dapat ditemukan pada bagian akhir intestinum (usus besar) hewan-hewan berdarah panas, bersifat patogen opportunistik (misal infeksi saluran urine pada manusia, "mastitis" pada sapi) (Buchanan and Gibson, 1974). Beberapa strain menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas dan enterotoksin yang tahan panas yang dapat menyebabkan diare ringan pada bayi (Jawetz and Melnick, 1982).

### 3. *Staphylococcus aureus*

#### 3.1. Sistematika

Divisio	:	Bacteria
Klass	:	Schizomycetes
Ordo	:	Eubacteriales
Familia	:	Micrococcaceae
Genus	:	Staphylococcus
Spesies	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

(Murray *et al.*, 1984).

Ciri-ciri *S. aureus*, Bentuk bulat dengan diameter 0,8 - 1,0  $\mu\text{m}$ , terdapat dalam bentuk tunggal, berpasangan atau berkelompok seperti buah anggur, beberapa strain mempunyai kapsul, tidak dapat bergerak (non motil), tidak membentuk spora, termasuk gram positif (Buchanan and Gibson, 1974). Dalam kultur cair pertumbuhan pertama menyebabkan kekeruhan, selanjutnya menjadi bening, deposit mudah disuspensikan, berpigmen kuning emas. Pada Medium agar koloni terlihat, bulat, cembung, licin, berkilat, keruh, tepi rata dan mudah diemulsikan (Gupte, 1992).

Bersifat aerob atau anaerob fakultatif, dapat memfermentasi glukosa, laktosa, maltosa, dan manitol, tumbuh pada kisaran suhu antara 6,5 - 46<sup>o</sup>C dan optimum pada suhu 30 - 37<sup>o</sup>C, pH antara 4,2 - 9,3 dan optimum antara 7,0 - 7,5. Dapat diisolasi dari nanah pada luka, membran hidung, folikel rambut dan kulit. Bersifat

patogen yang potensial dan menyebabkan infeksi yang luas seperti bisul bernanah, "meningitis", "Furunculosis", "osteomytis", luka bernanah dan menyebabkan keracunan pada makanan karena mampu memproduksi enterotoksin (Buchanan and Gibson, 1974).

Dinding sel tersusun atas dua komponen yaitu peptidoglikan dan asosiasi asam theikoat. Biasanya sensitif terhadap antibiotik seperti  $\beta$ -laktam dan makrolide, tetrasiklin, novobiosin, dan kloramfenikol, tetapi resisten terhadap polimiksin, sensitif terhadap antibakteri seperti phenol dan derivatnya (Buchanan and Gibson, 1974).

#### 4. *Bacillus subtilis*

##### 4.1. Sistematika

Divisio	: Bacteria
Klass	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: <i>B. subtilis</i>

(Murray *et al*, 1984).

Ciri-ciri *B. subtilis*, Bentuk batang pendek, jarang dalam bentuk rantai, dapat bergerak dengan flagel lateral,

dapat membentuk endospora, termasuk gram variabel . Koloni dalam medium agar bulat, tidak teratur, permukaan pudar, menjadi tebal dan buram, mungkin berkerut dan warnanya menjadi krem atau coklat. Dalam medium cair tampak pudar, berkerut, sedikit keruh atau tidak (Buchanan and Gibson, 1974).

Bersifat aerob atau fakultatif anaerob, suhu maksimum pertumbuhan 45 - 55°C, minimum 5 - 20°C, tumbuh pada pH 5,5 - 8,5. Dapat membentuk pigmen pulcherimin atau melanin dalam koloni atau dekat medium. Dapat memproduksi antibiotik polipeptida, antibiotik ini muncul ketika pertumbuhan mencapai tingkat sporulasi (Buchanan and Gibson 1974). Tidak mampu membentuk toksin, beberapa jenis membentuk hemolisin yang dapat larut, bersifat patogen oportunistis, menyebabkan infeksi pada telur dan septikemia. Dapat mencemari botol transfusi darah sehingga melisiskan sel darah (Gupte, 1992).

### **C. Metode Ekstrak dan Isolasi senyawa aktif dari *Usnea spp.***

Sejalan dengan penelitian tentang aktivitas zat aktif dari Lichen (lumut kerak), telah dilakukan pengestrakan dan isolasi senyawa antimikrobia dari beberapa tanaman Lichen antara lain dari *Ramalina reticulata* oleh Marshaks yang selanjutnya metode pengestrakan ini dikenal dengan metode Marshaks.

Komponen aktif dari lumut kerak dapat diekstrak dengan beberapa pelarut seperti, eter, kloroform, ethyl alkohol. Pengekstrakan dilakukan dengan menggiling sejumlah bahan (lichen) basah dalam gelas mortir, kemudian diberi pelarut secukupnya. Suspensi ini kemudian disentrifugasi dan cairan bening yang terpisah dipipet kemudian dimasukkan ke dalam labu kecil yang dihubungkan dengan peralatan destilasi hampa udara untuk menghilangkan pelarutnya pada suhu rendah. Residu yang terbentuk dilarutkan dalam buffer fosfat dengan pH 7,4. Untuk langkah isolasi dilakukan dengan melarutkan endapan hijau yang terbentuk dari hasil ekstrak ke dalam acetone mendidih dan kemudian disaring untuk selanjutnya dipadatkan, pada proses pendinginan kristal kuning terpisah (Florey *et al.*, 1959).

#### **D. Tinjauan Tentang Zat Antimikrobia**

##### **1. Konsep dan definisi**

Antibiotika adalah senyawa yang diproduksi dari hasil metabolisme sel hidup yang dalam kadar sangat rendah ( $\mu\text{g/ml}$ ) dapat menghambat proses kehidupan mikrobia (Sardjoko, 1991).

Dari segi daya kerjanya, zat antimikrobia dapat dibedakan dalam kelompok antimikrobia bakterostatik dan antimikrobia bakterisid. Antimikrobia bakterostatik

menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri, sedang antimikrobia bakterisid bekerja mematikan bakteri. Pada dosis rendah antimikrobia bakterisid dapat bersifat bakteriostatik atau tidak sama sekali, dan sebaliknya antimikrobia yang bersifat bakteriostatik bersifat bakterisid pada dosis tinggi (Wattimena, Nelly, Widiyanto, Sukendar dan Soemardji, 1991).

## 2. Metode Uji Zat Antimikrobia

Produk anabolik dari bermacam-macam bakteri, kapang, algae dan substansi yang kompleks dari tumbuhan berbunga dapat ditunjukkan sifat antibiotiknya dengan mudah bila sejumlah kecil material aktif ditest terhadap mikrobia dengan prosedur yang sesuai (Sardjoko, 1991).

Dua metode yang umum digunakan untuk pengujian antibiotik secara mikrobiologi adalah dengan metode Cylinder-Plate dan metode Turbidimetri.

### 1. Metode Cylinder-Plate

Pada prinsipnya uji antibiotik dengan metode ini dipusatkan pada kemampuan larutan antibiotik untuk berdifusi dari tempat penyimpanan (Cylinder dari gelas/baja, atau mangkuk porselin maupun paper disk) ke sekitar media. Diameter daerah hambat yang ditunjukkan oleh hasil tergantung pada konsentrasi antibiotik.

Pada metode Cylinder-Plate dapat digunakan cakram kertas yang mengandung antibiotik atau Cylinder baja/kaca

yang diletakkan pada kultur padat yang telah ditanami dengan kultur uji, kemudian antibiotik diteteskan ke dalam cylinder, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 sampai 24 jam. Daerah bening sekeliling antibiotika menunjukkan hambatan pertumbuhan mikrobia (Pelzcar *et al*, 1977 ; Wattimena *et al*, 1991).

## 2. Metode Turbidimetri

Metode ini didasarkan pada kenyataan bahwa sebagian atau seluruh mikrobia yang diuji akan terhambat pertumbuhannya dalam kultur cair yang mengandung sejumlah antibiotik. Dalam metode ini digunakan sejumlah tabung yang diisi dengan medium cair yang telah diinokulasi bakteri uji dan ditambah sejumlah zat antimikrobia (antibiotik) dalam jumlah yang bervariasi. Setelah inkubasi 24 jam pada suhu optimal, kekeruhan dalam masing-masing tabung diamati dan dibandingkan dengan larutan standar. Pengamatan dilakukan dengan spektrofotometer (Pelzcar *et al*, 1977 ; Sardjoko, 1991).