

BAB II

TINAJUAN PUSTAKA

A. TELAHAH PUSTAKA

1. Tanaman Bopot

a. Klasifikasi Tanaman



Gambar 2.1 Tumbuhan Bopot (*Tabernaemontana divaricata* R. Br)

(Sumber: primer)

| | |
|--------------|--|
| Divisio | : Spermatophyta |
| Sub Division | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Ordo | : Apocynaceae |
| Familia | : Apocynaceae |
| Genus | : <i>Tabernaemontana</i> |
| Species | : <i>Tabernaemontana divaricata</i> R. Br, |
| Sinonim | : <i>Tabernaemontana coronaria</i> Willd <i>Ervatamia divaricata</i> [R] Burk. <i>Ervatamia malacensis</i> K. et G (Sejahtera, 2018). |

2. Sinonim Tanaman Bopot

Di sebagian daerah Indonesia, tanaman ini dikenal dengan berbagai nama lokal, antara lain sebagai bunga wari di Jawa, bunga

nyingin di Nusa Tenggara, kembang mentega atau kembang susu di Sunda, serta bunga manila dan bunga susong di Maluku (Sejahtera, 2018).

3. Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan Mondokaki adalah semak lurus setinggi 0,5–3 meters. Batangnya berwarna hijau kotor, bercabang, bulat, dan berkayu. Satu helai daun, berukuran panjang 5–11 cm dan lebar 1,5–4 cm, berduri menyirip, berwarna hijau, pangkal dan ujung lonjong, tepi rata, dan bertangkai menyilang di seberang. Bunga tunggal bertangkai dengan lima lobus, kelopak runcing, tabung mahkota kuning kehijauan, mahkota bersambung, dan mahkota lonjong berwarna putih terdapat di ketiak daun. Buahnya berbulu, berbentuk persegi, dan berbentuk elips. Biji berselaput berwarna merah tua, berair, panjangnya 3–7 cm. Akar tunggang, serta kuning (Sejahtera, 2018).

4. Kandungan Tanaman

Tumbuhan ini antara lain tabernaemontanin, coronarin, coronandin, drenamin, vobasin, korin, cortin, lupeol, dan tanin. Dua puluh tiga alkaloid, termasuk alkaloid aspidosperma, taberhanine, vodafone, N-methyl voafinine, voa finidine, valentine, dan alkaloid bisindole (canophyllinine), terdapat dalam ekstrak etanol daun mondokaki (Sejahtera, 2018).

Tanaman mondokaki (*Tabernaemontana divaricata*, R.Br.) adalah tumbuhan yang berkhasiat obat. Akar, batang, dan daun tanaman mondokaki merupakan komponen yang dimanfaatkan sebagai obat karena mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan polifenol (Sejahtera, 2018).

5. Manfaat Tanaman

Ketika digosokkan ke kulit, daun mondokaki memberikan rasa asam dan kesejukan yang menyegarkan. Selain menurunkan panas dan racun, tanaman ini memiliki sifat analgesik, hipotensi,

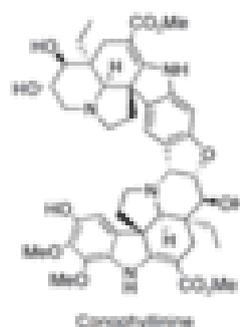
dan anthelmintik. Mondokaki memiliki beberapa kegunaan obat, termasuk sebagai analgesik, antioksidan, anti inflamasi, dan anti tumor. Selain menurunkan tekanan darah dan melebarkan pembuluh darah, mondokaki memblokir asetilkolin saraf pada tikus (Sejahtera, 2018).

6. Senyawa Kimia

a. Alkaloid

Alkaloid adalah sebagian besar bahan kimia alkaloid berasal dari tumbuhan, senyawa organik lah yang biasanya ditemukan. Alkaloid secara umum didefinisikan sebagai senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen basa.

Alkaloid memiliki beberapa ciri antara lain kristalinitas halus, rasa asam dan pahit, serta alkalinitas bebas. Alkaloid merupakan senyawa volatil yang terdapat pada tumbuhan yang bersifat racun bagi manusia namun dapat digunakan sebagai obat. Oleh karena itu, alkaloid sering digunakan dalam pengobatan, biasanya digunakan sebagai pengatur pertumbuhan, pengusir serangga, atau penarik. Alkaloid ditemukan pada tumbuhan sebagai garam organik, yang dibuat dengan mengekstraksi bahan tanaman dengan air yang diasamkan dan melarutkannya untuk membentuk garam (Lapis & Klt, n.d.).



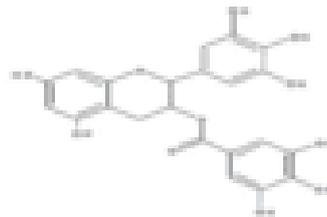
Gambar 2. 2 Alkaloid Conophyllinine

Sumber: (Sejahtera, 2018)

b. Tanin

Tanin adalah bahan kimia polifenol nabati dapat mengentalkan protein dan memberikan rasa pahit dan pengkelat. Tumbuhan mengandung tanin, yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap hama, pada berbagai komponen tanaman, termasuk kulit kayu dan daun. Seperti air teh, warnanya gelap kehitaman karena tanin yang larut dalam air. Kunyit, sejenis bahan kimia polifenol, tidak larut dalam kloroform, petroleum eter, dan benzena tetapi larut dalam gliserol, alkohol, hidro alkohol, air, dan aseton (Ivars, 2007)

Tanin terbagi menjadi tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terkondensasi terdiri dari unit flavonoid yang dihubungkan dengan ikatan karbon, sedangkan tanin terhidrolisis berikatan dengan karbohidrat membentuk jembatan oksigen (Ivars, 2007).



Gambar 2. 3 Struktur Tanin

Sumber: (Wahyuni & Ab, 2014)

c. Saponin

Busa stabil yang terbentuk setelah penambahan reagen menunjukkan bahwa senyawa saponin juga bersifat non-polar. Adanya gugus hidrofobik khususnya aglikon pada senyawa saponin memungkinkan terjadinya hal tersebut. Namun, ketika menggunakan pelarut non-polar untuk mengekstraksi sirip, jumlah bahan kimia steroid yang dihasilkan sangat sedikit, meskipun faktanya banyak dari senyawa ini terbentuk secara alami sebagai fraksi lipid dari hewan yang mengatur aktivitas biologis. Ada kemungkinan besar bahan kimia alkaloid atau

flavonoid akan terakumulasi dalam jenis pelarut ini karena menarik molekul dalam dua fase: polar dan non-polar (Iffah et al., 2018).

7. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penghilangan komponen kimia yang larut dan menggunakan pelarut cair untuk memisahkannya dari bahan yang tidak larut. Komponen aktif yang larut dan tidak larut, seperti serat, karbohidrat, protein, dll, terdapat dalam simplisia yang diekstraksi.

Ada beberapa jenis bahan kimia aktif yang terdapat pada simplisia, antara lain flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri. Kelarutan dan stabilitas senyawa ini terhadap panas, udara, cahaya, logam berat, dan keasaman akan bervariasi tergantung pada struktur kimianya. Pemilihan pelarut dan teknik ekstraksi yang tepat akan lebih mudah jika mengetahui kandungan bahan aktif dalam simplisia (Chaesaria, et al., 2018).

Langkah pertama dalam membuat ekstrak adalah membuat bubuk simplisia kering berbutir halus (penyerbukan). Meskipun semakin sulit mengekstraksi serbuk simplisia dengan meningkatnya kehalusan, prosedur ekstraksi menjadi lebih berhasil dengan meningkatnya kehalusan serbuk (Laila Nur Hidayatus Sholihin, 2016).

Berikut tata cara ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan:

- a. Mengelompokkan komponen tumbuhan (daun, bunga, dan lain-lain), mengeringkan dan menggiling bagian tumbuhan.
- b. Pilihan pelarut.
- c. Pelarut polar, air, etanol, metanol, dan lain sebagainya.
- d. Pelarut semi polar, seperti diklorometana, etil asetat, dan lain-lain
- e. Pelarut non polar n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan lain sebagainya. (Mukhtarini, 2014).

Metode-metode yang dapat digunakan:

a. Cara Dingin

- 1) Maserasi adalah ekstraksi simplisia dilakukan dengan menempatkan pelarut statis dalam wadah dan mengocok atau mengaduknya berkali-kali pada suhu kamar. Remaserasi memerlukan penambahan pelarut lagi setelah maserat disaring satu kali.
- 2) Perkolasi adalah ekstraksi yang sering dilakukan pada suhu kamar, menggunakan reservoir untuk terus menyediakan pelarut segar hingga proses ekstraksi selesai. Tahapan pertumbuhan bahan, maserasi menengah, dan perkolasi sejati yang melibatkan pelepasan atau penahanan ekstrak semuanya termasuk dalam proses perkolasi. Prosedur ini diulangi hingga ekstrak, atau perkolasi, tercapai (Sejahtera, 2018).

b. Cara Panas

- 1) Refluks adalah ekstraksi pelarut pada suhu titik didihnya, selama jangka waktu tertentu, dan dengan pendinginan balik.
- 2) Digesti adalah maserasi pada suhu lebih besar dari suhu kamar 40-50⁰ sambil diaduk terus menerus
- 3) Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada suhu setara dengan penangas air (bejana infus direndam dalam penangas air mendidih, dan suhu dipantau pada 96–98 C^o selama durasi tertentu 15–20 menit).
- 4) Dekok adalah perendaman dalam waktu yang lebih lama dan pada suhu mencapai titik didih air dapat meningkatkan efektivitas pembuatan infus.
- 5) Prinsip sokletasi adalah Setelah naik melalui pipa samping dan dikondensasikan oleh pendingin, uap cairan penyaring dialirkan ke dalam labu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Saat turun, cairan melarutkan bahan aktif dalam

bubuk. Proses ini berlanjut hingga cairan mencapai permukaan siphon, dan kemudian kembali ke labu (Sejahtera, 2018).

8. Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah metode menghilangkan bahan kimia dari ekstrak dengan mencampurkan dua jenis pelarut yang berbeda. Tiga pelarut umum untuk fraksinasi termasuk metanol, n-heksana, dan etil asetat. N-heksana digunakan untuk menarik lipid dan molekul non-polar, etil asetat digunakan untuk menarik senyawa semi-polar, dan metanol digunakan untuk menarik zat polar. Polaritas zat yang harus dipisahkan dapat disimpulkan dari prosedur ini. Sebagaimana diketahui, bahan kimia yang bersifat non polar akan larut pada pelarut non polar, sedangkan senyawa yang bersifat polar juga akan larut dalam pelarut yang bersifat polar (Ogi, 2014).

Teknik pemisahan yang paling umum adalah fraksinasi cair, yang melibatkan penggunaan dua pelarut cair untuk memisahkan komponen target tanpa membiarkannya tercampur (Ogi, 2014).

a. Partisi Ekstraksi Cair – Cair

Ekstraksi cair - cair adalah nama lain dari prosedur ekstraksi ini, itu menggunakan corong pemisah. Dalam proses yang dikenal sebagai ekstraksi cair-cair, kadang-kadang disebut corong pemisah, komponen kimia dipisahkan menjadi dua fase berbeda melalui pelarut yang tidak dapat bercampur: pelarut organik dan air. Hal ini memungkinkan pembubaran beberapa komponen pada fase pertama dan komponen lainnya pada fase kedua. Dua lapisan fase cair dibuat ketika dua fase yang mengandung komponen terdispersi diaduk dan kemudian didiamkan hingga keduanya terpisah sepenuhnya. Rasio konsentrasi yang ditetapkan akan digunakan untuk membagi komponen kimia menjadi dua fase berdasarkan tingkat polaritasnya (Yunita, 2018).

Perbedaan koefisien distribusi zat terlarut antara dua larutan yang berada dalam fasa berbeda dan tidak bercampur merupakan gagasan mendasar di balik prosedur ekstraksi cair-cair. Konsentrasi zat terlarut dalam dua fase pada kesetimbangan ditentukan oleh hukum yang berlaku ketika zat terlarut dibagi antara dua larutan campuran. Proses pemisahan unsur-unsur suatu campuran cairan dengan cara bersentuhan dengan cairan lain disebut ekstraksi cair-cair, atau sekadar ekstraksi. Oleh karena itu, ini juga dikenal sebagai ekstraksi pelarut atau ekstraksi cair. Pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan merupakan konsep operasinya (Yunita, 2018).

Corong pisah adalah peralatan laboratorium yang digunakan dalam proses ekstraksi cair-cair untuk mengisolasi zat yang terkandung dalam kombinasi dua fase pelarut yang tidak dapat bercampur dengan kepadatan yang berbeda-beda. Belahan menutupi corong pemisah berbentuk kerucut, yang memiliki sumbat di bagian atas dan bawah. Laboratorium menggunakan kaca borosilikat untuk corong pemisah dan kaca atau Teflon untuk keran. Dengan kran corong tertutup, campuran dan dua tahap pelarut ditambahkan ke corong dari atas. Untuk menggabungkan kedua bagian larutan, tutup corong dan kocok kuat-kuat. Langkah selanjutnya adalah membuka keran dan membalikkan corong untuk mengeluarkan tekanan uap yang menumpuk. Langkah selanjutnya adalah membiarkan corong tetap tegak agar kedua tahapan dapat terpisah. Setelah itu, buka sumbatnya dan putar kran corong untuk memisahkan kedua komponen larutan tersebut (Yunita, 2018).

Larutan berair membentuk satu fase, dan bahan organik lipofilik seperti eter, diklorometana, klorofenol, atau etil asetat membentuk fase lainnya. Kecuali pelarut yang mengandung atom unsur halogen, sebagian besar pelarut organik berada di

atas fasa air. Fraksi yang lebih berat akan berada di bagian bawah pemisahan, dan fraksi yang lebih ringan akan berada di atas, berdasarkan berat masing-masing fraksi. Tujuannya adalah untuk membedakan pengelompokan konten utama satu sama lain. Zat non polar akan masuk ke dalam pelarut non polar, sedangkan senyawa polar akan masuk ke dalam pelarut polar (Yunita, 2018).

Terjadinya proses pemisahan dapat dilakukan melalui beberapa cara, antara lain:

- 1) Adsorpsi - Adsorpsi komponen atau senyawa antara permukaan padat dan cair (antarmuka cairan padat): Untuk pemisahan yang efektif, harus ada kontak antara komponen dan adsorben serta afinitas yang berbeda terhadap komponen.
- 2) Partisi - Bahan kimia pemisah akan terbagi antara dua cairan yang tidak bercampur, yang masing-masing disebut fase diam dan fase gerak. Pemisahan ditingkatkan karena fase diam menawarkan fase gerak luas permukaan yang lebih besar.

Prinsip ekstraksi cair-cair adalah komponen kimia dipisahkan menjadi dua fase pelarut sehingga tidak bergabung untuk mencapai hal ini. dimana konstituen tertentu menghilang pada fase pertama dan yang lain pada fase kedua. Setelah itu, kedua fasa yang berisi bahan yang didistribusikan dikocok dan didiamkan hingga kedua lapisan tersebut benar-benar terpisah. Secara khusus, komponen kimia dan fase cair dipisahkan (Yunita, 2018).

b. Kromatografi

Kromatografi adalah moniker yang diterapkan pada metode pemisahan tertentu. Pada dasarnya, fase tetap (stationary) dan fase gerak (mobile) digunakan dalam semua

teknik kromatografi; mobilitas relatif kedua fase menentukan pemisahan.

Tahapan kromatografi dapat dilakukan sesuai dengan pengertian fasa tetap, yang dapat berupa zat padat atau zat cair. Gaya ini disebut kromatografi serapan bila mukanya berbentuk zat padat, dan kromatografi partisi bila mukanya berbentuk zat cair. Ada dua sistem utama kromatografi serum, yang terdiri dari kromatografi gas dan kromatografi dinding sel, dan kromatografi serum, yang terdiri dari kromatografi dinding sel dan kromatografi inti (Yunita, 2018).

9. Pelarut

Pelarut adalah salah satu elemen penting dalam prosedur ekstraksi. Karena masing-masing pelarut mempunyai selektivitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dalam bahan, jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi mempengaruhi jenis komponen aktif bahan yang diperoleh kembali. Pelarut tunggal dan campuran dapat digunakan dalam ekstraksi. Air dan etanol, air dan metanol, serta air dan eter adalah contoh pelarut campuran yang sering digunakan (Caesaria, et al., 2018).

Ada dua jenis pelarut organik, polar dan non-polar, yang dibedakan berdasarkan konstanta listriknnya. Konstanta dielektrik didefinisikan sebagai gaya yang melawan gerak dua partikel bermuatan dalam suatu molekul. Larutan yang lebih polar mempunyai konstanta dielektrik yang lebih tinggi (Caesaria, et al., 2018)

Syarat pelarut yang digunakan terdiri dari (Caesaria et al., 2018):

- a. Harus selektif, yang berarti pelarut harus melarutkan setiap bahan kimia dengan cepat.
- b. Titik didihnya tidak terlalu tinggi. Hal ini untuk memudahkan penguapan pelarut tanpa kehilangan penguapan.

- c. Pelarutnya bersifat inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan dalam minyak.
- d. Pilihlah pelarut yang titik didihnya tidak terlalu rendah namun murah dan mudah diperoleh pada suhu tinggi.

10. Biofilm

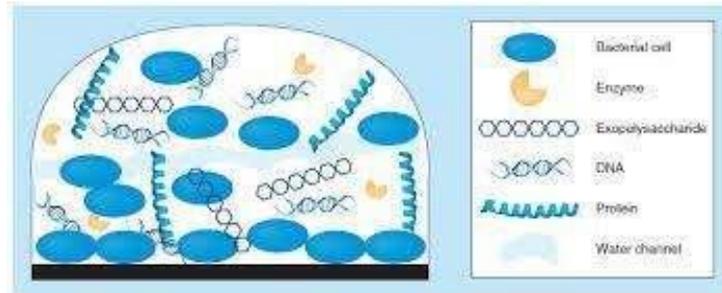
a. Definisi

Biofilm adalah lapisan yang terdiri dari kumpulan mikroorganisme dan menempel pada suatu permukaan. Matriks polimer ekstraseluler yang dibuat bakteri membentuk biofilm yang melekat. Mikroba pada lapisan biofilm seringkali berkembang biak dengan cepat membentuk koloni, terutama pada permukaan bahan basah yang kaya nutrisi (Chaerunisa, 2015).

Biofilm berisi kumpulan mikroba (seperti bakteri, jamur, alga, atau protozoa) yang terbungkus dalam matriks polimer yang dibuat oleh mikroba itu sendiri. Pengerangan, bakteriofag, amuba, dan biosida industri hanyalah beberapa dari pengganggu yang dapat ditahan oleh biofilm. Selain itu, dibandingkan dengan sel planktonik, sel biofilm biasanya lima belas kali lebih resisten terhadap obat. Peralatan medis, seperti kateter urin, juga dapat mengandung biofilm. Dengan demikian, biofilm menimbulkan ancaman signifikan terhadap kesehatan manusia. (Abidah, 2020).

b. Struktur Pembentuk Biofilm

Struktur pembentuk biofilm terdiri dari sel mikroba, DNA dan RNA, polisakarida, protein, dan air (Abidah, 2020).



Gambar 2. 4 Struktur Pembentuk Biofilm. Biofilm tersusun dari sel bakteri, enzim, eksopolisakarida, DNA, protein, saluran air

Sumber: (Abidah, 2020)

c. Mekanisme pembentukan Biofilm

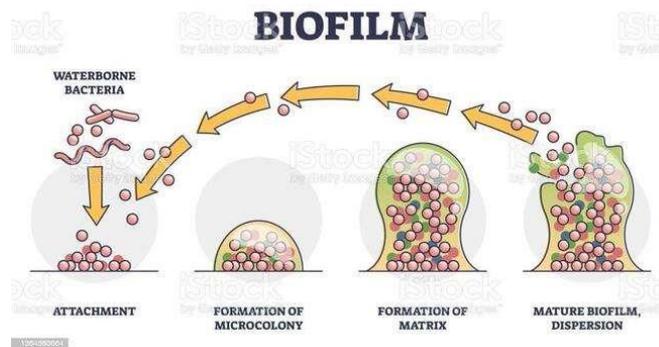
Permukaan biotik dan abiotik dapat menghasilkan biofilm. Baja tahan karat, kaca, plastik, baja, dan implan medis adalah contoh permukaan abiotik. Sementara itu, permukaan biologis termasuk jaringan hewan, kulit manusia, dan sel epitel. Permukaan bakteri dan substratum terkena gaya elektrostatik, yang dimediasi oleh adhesin, dan ini mengarah pada langkah pertama pengembangan biofilm pada permukaan abiotik. Sementara itu, hidrofobisitas membran sel mempengaruhi cara bakteri menempel pada permukaan biotik, yang sebagian besar disebabkan oleh interaksi protein bakteri dengan protein ekstraseluler atau karbohidrat pada permukaan sel/jaringan (Abidah, 2020).

Selama tahap pertama perlekatan, bakteri membentuk agregat lepas dan berkomunikasi satu sama lain melalui gaya van der Waals yang lemah untuk membubarkan diri dan kembali ke keadaan planktoniknya. Interaksi bakteri dapat terjadi di dalam atau antar spesies. Setelah itu, adhesi tertentu antara organel perlekatan (seperti flagella, fimbria, lipopolisakarida, atau protein lengket) dan permukaan akan memediasi kontak hidrofilik atau hidrofobik. Karena kontak ini, bakteri menempel pada permukaan secara permanen. Langkah selanjutnya dalam

pembuatan dan pematangan biofilm adalah bakteri mengalami perubahan fenotipik dan genotip (Abidah, 2020).

Koloni mikro muncul ketika adhesi tidak dapat diubah. Komunikasi diperlukan bagi bakteri untuk bertransisi dari sel tunggal ke koloni mikro untuk mengkoordinasikan perkembangannya. Komunikasi ini dilakukan melalui mekanisme quorum sensing, khususnya komunikasi melalui sinyal peptida dan senyawa seperti peptida peningkat kompetensi, *3,5-cyclic diguanylic acid* (c-di-GMP), farnesol, rhamnolipid, modulin larut fenol, dan sebagainya (Abidah, 2020). Kekuatan sinyal memicu aktivasi jalur genetik yang mengatur sintesis eksopolisakarida. Untuk membentuk koloni mikro, bakteri akan mulai memproduksi *extracellular polysaccharide* (EPS). Ketika koloni mikro berkembang menjadi koloni makro, mereka membentuk biofilm dengan saluran berisi cairan yang memungkinkan pertukaran produk limbah (Abidah, 2020).

Koloni mikro akan terus tumbuh dan menjadi dewasa. pH, oksigen, suplai karbon, osmolaritas, suhu, konsentrasi elektrolit, dan jenis permukaan semuanya mempengaruhi pematangan ini. Biofilm menjadi lebih rumit dan padat saat mencapai kematangan. Biofilm akan mendekati titik kritis dan keseimbangan dinamis dimana pada saat itu pasokan nutrisi dan pH akan semakin menurun, dan penumpukan pO_2 atau toksisitas metabolik juga akan terjadi. Hal ini memicu penyebaran biofilm. Pada titik ini, bakteri akan berhenti mengkode gen yang mengkode fimbria atau *eksopolisakarida* dan sebaliknya akan mengatur lebih banyak gen yang mengkode flagela dan protein kemotaktik yang diperlukan untuk kelangsungan hidup sel planktonik. Setelah itu, bakteri akan keluar dari biofilm dan kembali ke keadaan planktonik (Abidah, 2020).



Gambar 2. 5 Tahap pembentukan biofilm. 1) Pelekatan awal, 2) Pertumbuhan dan ekspresi faktor pelekatan, 3) Produksi EPS dan proses *quorum sensing*, 4) Pematangan biofilm, 5) Dispersi biofilm

Sumber: (Istockphoto)

d. Uji Pembentukan Biofilm

1) Metode Tabung

Metode tabung adalah teknik kualitatif yang mengamati garis biofilm yang tumbuh di dinding dan dasar tabung untuk mengidentifikasi biofilm. Jika garis terlihat di bagian bawah tabung dan di dinding, maka sedang terjadi produksi biofilm. Nilai berikut digunakan untuk menunjukkan jumlah biofilm yang terbentuk: 1 untuk biofilm lemah atau tidak ada biofilm, 2 untuk biofilm sedang, dan 3 untuk biofilm kuat atau tinggi (Abidah, 2020).

2) Metode Congo Red Agar

Metode Congo Red Agar (CRA) menggabungkan pendekatan untuk identifikasi biofilm kualitatif yang melibatkan pemantauan perubahan warna pada koloni bakteri. Agar nomor 1 (10 g/L), sukrosa (50 g/L), *brain heart infusion broth* (37 g/L), dan Congo Red indicator (8 g/L) merupakan media CRA. Pada pelat CRA, bakteri disuntikkan, kemudian dikultur secara aerobik selama 24 jam pada suhu 37 °C. 24 koloni pembentuk biofilm diidentifikasi berdasarkan warna hitam dan konsistensi kering seperti

kristal. Koloni yang tidak menghasilkan biofilm ditampilkan dalam warna merah jambu atau merah. (Abidah, 2020).

3) Metode Microtiter plate (MtP)

Metode microtiter plate merupakan metode kuantitatif yang menjadi standar dalam pendeteksian biofilm. Biofilm yang terbentuk diukur menggunakan alat pembaca microplate (microELISA). Pendekatan ini efektif dalam menyaring uji antibiofilm terhadap biofilm yang dihasilkan oleh bakteri. Sebagai kontrol negatif, media digunakan sebagai blank. Nilai Optical Density (OD) pada blank digunakan untuk menentukan apakah isolat menghasilkan biofilm. Jika nilai OD isolat melebihi nilai OD blank, maka isolat tersebut diklasifikasikan sebagai bakteri pembentuk biofilm (Abidah, 2020).

4) PCR

PCR dapat diterapkan melalui berbagai metode, termasuk real-time PCR, PCR konvensional, atau PCR multiplex. Metode-metode ini digunakan untuk mendeteksi apakah bakteri yang diuji mengekspresikan gen yang terkait dengan pembentukan biofilm (Abidah, 2020).

11. Mikroorganisme

a. *Pseudomonas Aeruginosa*

1) Klasifikasi (Garrity, 2004)

| | |
|--------|---------------------------------|
| Domain | : Bacteria |
| Filum | : Proteobacteria |
| Kelas | : Gammaproteobacteria |
| Bangsa | : Pseudomonadales |
| Suku | : Pseudomonadaceae |
| Marga | : Pseudomonas |
| Jenis | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

2) Sifat dan morfologi

Pseudomonas aeruginosa menggambarkan bakteri Gram-negatif yang berbentuk tunggal, batang lurus atau melengkung, dan tidak berbentuk heliks. Ukuran umumnya berkisar antara 0,5 hingga 1,0 mikrometer. Bakteri ini memiliki kemampuan bergerak dengan flagel yang terletak di ujung sel, bisa satu atau lebih dari satu. Mereka tidak menghasilkan selaput luar (selongsong prosteka) dan tidak memiliki tahap istirahat yang dikenal. Bakteri ini bersifat kemoorganotrof, menggunakan senyawa organik sebagai sumber karbon dan energi. Metabolismenya biasanya melibatkan respirasi dan bukan fermentasi. Beberapa dapat menjadi kemolitotrof fakultatif, yang artinya mereka dapat menggunakan H₂ sebagai sumber energi. Bakteri ini menggunakan oksigen molekuler sebagai penerima elektron universal, dan beberapa dapat melakukan denitrifikasi dengan menggunakan nitrat sebagai penerima elektron pilihan (Pelczar. Michael J. and Chan. E.C.S 2008).

3) *Pseudomonas aeruginosa* terhadap biofilm

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm dalam berbagai situasi dan kondisi lingkungan (Wahyudi et al., 2019). Proses pembentukan biofilm pada *P. aeruginosa* dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk komposisi nutrisi seperti karbohidrat dan protein, kondisi lingkungan seperti pH dan suhu pertumbuhan, serta adanya senyawa inhibitor lainnya (Wahyudi et al., 2019).

b. *Escherichia Coli*

1) Klasifikasi (Garrity, 2004)

Domain : Bacteria
Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria
Bangsa : Enterobacteriales
Suku : Enterobacteriaceae
Marga : Escherichia
Jenis : *Escherichia coli*

2) Sifat dan morfologi

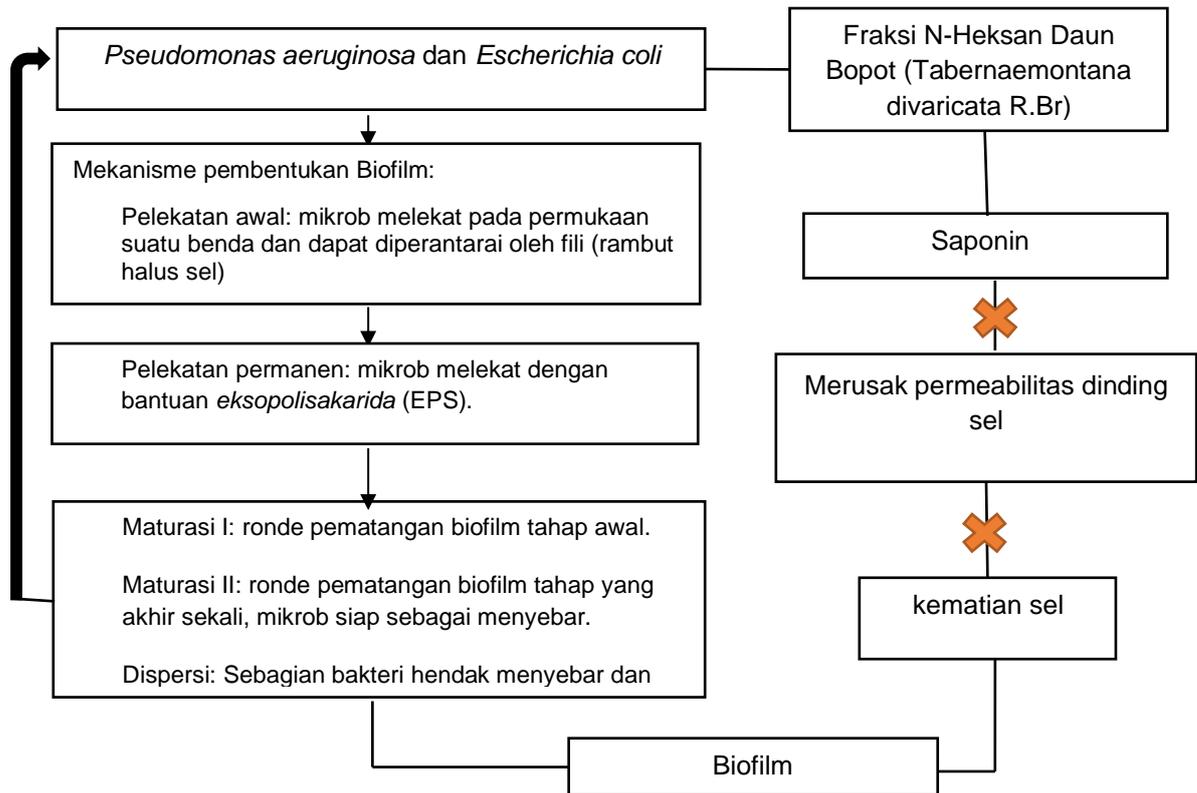
Escherichia coli Ini menggambarkan bakteri Gram-negatif yang berbentuk batang lurus, dengan ukuran sekitar 1,1-1,5 mikrometer x 2,0-6,0 mikrometer. Bakteri ini bisa motil dengan flagel peritrikus atau non-motil. Pertumbuhannya mudah diobservasi pada medium nutrisi sederhana. Beberapa galur bakteri ini dapat fermentasi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas, sementara ada juga yang tidak memfermentasi glukosa dan maltosa. Bakteri ini biasanya dapat ditemukan dalam usus mamalia dan memiliki kondisi pertumbuhan optimal pada suhu 37°C (Pelczar, 2008).

3) Escherichia coli terhadap biofilm

Escherichia coli E. coli memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm selama fase pertumbuhannya sebagai strategi pertahanan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti ketersediaan nutrisi yang rendah, kadar oksigen yang berkurang, dan paparan antibiotika. Proses ini melibatkan pembentukan EPS. Oleh karena itu, E. coli yang berada dalam bentuk biofilm cenderung lebih resisten terhadap efek antibiotika dan desinfektan dibandingkan dengan yang hidup secara planktonik (Beloin et al, 2010)

B. KERANGKA TEORI PENELITIAN

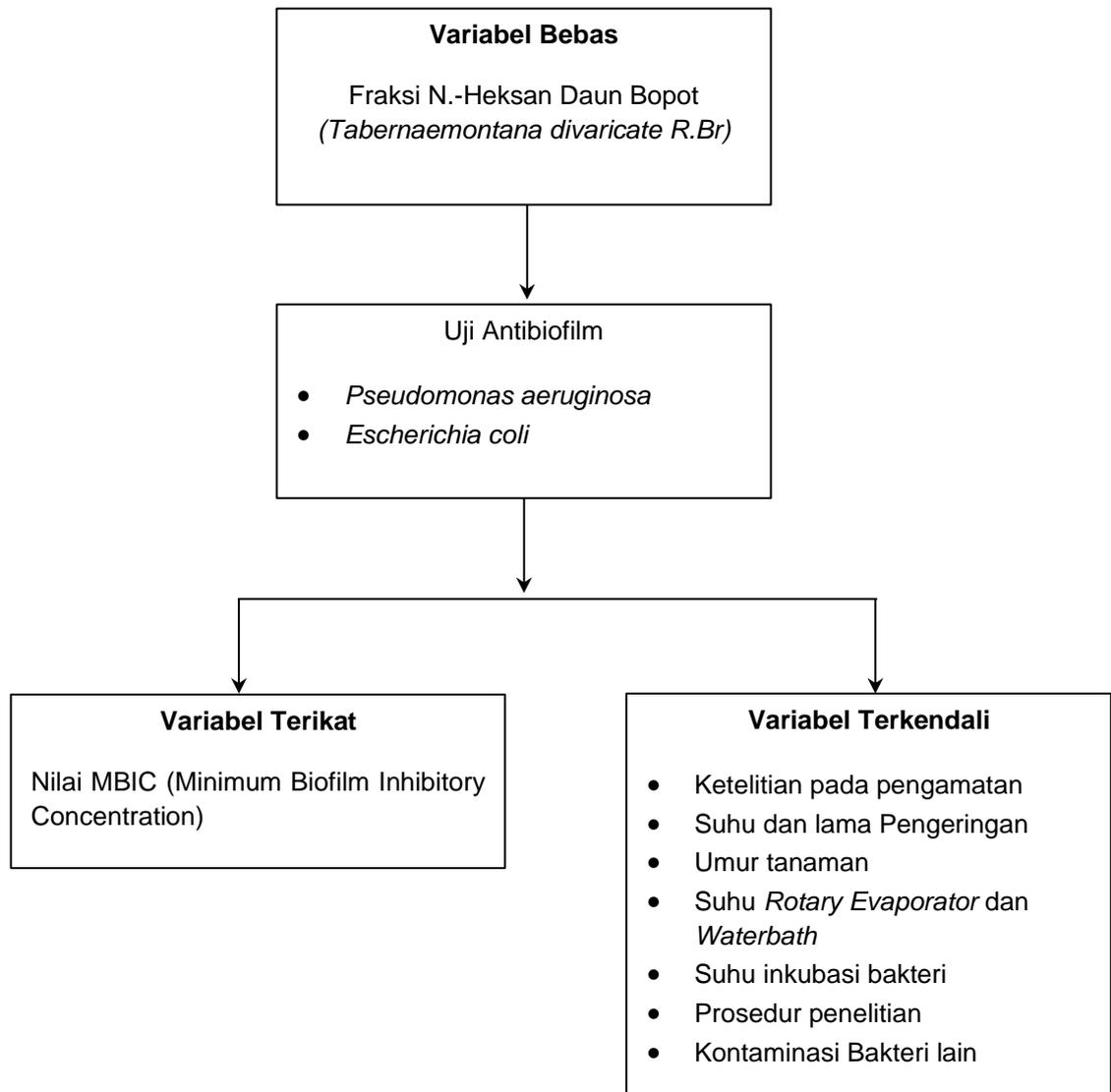
Tabel 2.1 Kerangka Teori Penelitian



Keterangan:  = Menghambat

C. KERANGKA KONSEP PENELITIAN

Tabel 2.2 Kerangka Konsep Penelitian



D. HIPOTESIS

Fraksi N-Heksan dari ekstrak daun bopot (*Tabernaemontana divaricata R.Br*) memiliki aktivitas mikroorganisme dan biofilm terhadap bakteri monomikroba *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*.