

AKTIVITI ANTIMIKROB EKSTRAK *Vernonia cinerea* L., *Tridax procumbens* L., DAN *Emilia sonchifolia* L. DARIPADA FAMILI ASTERACEAE

YOGA LATHA A/P LACHIMANAN

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

2009

**AKTIVITI ANTIMIKROB EKSTRAK *Vernonia cinerea* L.,
Tridax procumbens L., DAN *Emilia sonchifolia* L.
DARIPADA FAMILI ASTERACEAE**

oleh

YOGA LATHA A/P LACHIMANAN

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan
bagi Ijazah Sarjana Sains**

Jun 2009

PENGHARGAAN

Syukur kepada Tuhan yang Maha Esa kerana dengan limpah kurniaNya, dapat saya menyiapkan projek penyelidikan ini dengan jayanya.

Setinggi-tinggi penghargaan buat seorang individu yang terpenting iaitu penyelia saya yang amat saya hormati dan sanjungi, Prof. Dr. Hajah Darah Ibrahim. Tunjuk ajar, bantuan, dorongan dan motivasi serta masa dan tenaga yang telah dikorbankan oleh beliau amat saya hargai. Prof. Darah, di sini ingin saya menyusun sepuluh jari, mohon ampun dan maaf jika ada salah dan silap yang telah saya lakukan sepanjang tempoh penyelidikan ini dijalankan. Semua pertolongan dan jasa beliau tidak akan saya lupakan. Semoga beliau sentiasa dikurniakan kejayaan dariNya.

Terima kasih diucapkan kepada En. Muthu, Pn. Hajah Jamilah dan En. Johari dari Unit Elektron Mikroskop atas pertolongan dan tunjuk ajar yang diberikan semasa pengendalian TEM dan SEM dijalankan. Segala tunjuk ajar dan bantuan kalian amat saya hargai.

Juga ribuan terima kasih kepada En. Bakar dan Cik Shantini dari bahagian histologi sel haiwan yang telah banyak membantu semasa kajian histologi haiwan dilakukan.

Khas buat teman-teman seperjuangan, terima kasih kerana banyak memberi bantuan serta sokongan moral dan memahami diri di kala kesusahan. Kenangan bersama kalian akan sentiasa segar dalam ingatan saya. Jutaan terima kasih juga diucapkan kepada En. Halil yang telah banyak memberi bantuan kepada saya sepanjang tempoh penulisan tesis ini. Sokongan moral serta bimbingan yang diberikan oleh beliau amat saya hargai.

Saya juga ingin merakamkan ribuan terima kasih kepada semua staf Pusat Pengajian Sains Kajihayat dan Institut Pengajian Siswazah yang telah banyak memberi bantuan kepada saya sepanjang tempoh saya menjalankan penyelidikan ini.

Teristimewa buat ayah, abang dan adik yang tersayang, terima kasih kerana telah mencurahkan kasih sayang dan kepercayaan yang tidak berbelah bahagi kepada saya. Dorongan serta motivasi yang diberikan telah banyak membantu saya dalam mengharungi segala kesusahan yang dialami sepanjang tempoh penyelidikan ini. Kepada Dr. Sasidharan, jutaan terima kasih saya ucapkan atas segala pertolongan dan bimbingan serta motivasi yang telah diberikan. Budi baik beliau akan sentiasa saya hargai.

Akhir kata, buat semua individu yang telah memberi bantuan secara langsung dan tidak langsung, sekali lagi ingin saya merakamkan jutaan terima kasih atas segala jasa baik yang telah dicurahkan. Semoga kalian semua dikurniakan kejayaan dariNya.

YOGA LATHA LACHIMANAN
2009

DEDIKASI

***TESIS INI ADALAH BUAT KEBANGGAN AYAH EN.
LACHIMANAN NAIDU DAN MENDIANG IBU PN. LACHANI,
YANG TERSAYANG.***

KANDUNGAN	MUKA SURAT
Penghargaan	ii
Kandungan	v
Senarai Jadual	xi
Senarai Rajah	xii
Senarai Gambar Foto	xiii
Senarai Simbol Dan Singkatan	xv
Abstrak	xviii
Abstract	xx
BAB 1 PENGENALAN UMUM	1
1.1 Objektif Penyelidikan	5
BAB 2 TINJAUAN BAHAN BACAAN	
2.1 Perkembangan kajian antimikrob daripada bahan semula jadi	6
2.1.1 Antibiotik	9
2.2 Mengapa perlu antibiotik baru?	10
2.2.1 Peningkatan dalam jumlah penyakit berjangkit	10
2.2.2 Kerintangan antibiotik	12
2.2.3 Pendekatan yang diambil untuk mengatasi masalah kerintangan antibiotik	15
2.2.4 Gabungan antibiotik	16
2.2.5 Mekanisme rintangan antibiotik	17
2.2.5.1 Mekanisme genetik	17
2.2.5.2 Mekanisme biologi	19
2.2.6 Kepentingan ekonomi	20

2.3 Antibiotik dan mekanisme tindakannya	22
2.3.1 Antibiotik antibakteria	22
2.3.1.1 Pengelasan antibiotik antibakteria	23
2.3.1.2 Mekanisme tindakan antibiotik antibakteria	23
2.3.2 Antibiotik antikulat	27
2.3.2.1 Pengelasan antibiotik antikulat	28
2.3.2.2 Mekanisme tindakan antibiotik antikulat	29
2.4 Sejarah penggunaan tumbuhan sebagai agen antijangkitan	32
2.5 Sebatian kimia daripada tumbuhan	36
2.5.1 Alkaloid	37
2.5.2 Saponin	39
2.5.3 Fenol dan polifenol	39
2.5.3.1 Fenol ringkas dan asid fenolik	41
2.5.3.2 Kuinon	43
2.5.3.3 Flavonoid	43
2.5.3.4 Tanin	46
2.5.3.5 Koumarin	48
2.5.4 Terpenoid dan minyak pati	48
2.5.5 Lektin dan Polipeptida	49
2.6 Pemilihan tumbuhan bersifat perubatan	49
2.6.1 Tumbuhan ubatan di Malaysia	51
2.7 Tumbuhan Asteraceae	53
2.7.1 Kelebihan tumbuh-tumbuhan Asteraceae	53
2.7.2 Taksonomi	54
2.7.2.1 Pengelasan tumbuhan Asteraceae	54

2.7.3 <i>Vernonia cinerea</i>	54
2.7.3.1 Asal-usul dan taburan	54
2.7.3.2 Tatanama dan nama tempatan	55
2.7.3.3 Morfologi tumbuhan <i>Vernonia cinerea</i>	55
2.7.3.4 Nilai-nilai perubatan tumbuhan <i>Vernonia cinerea</i>	57
2.7.3.5 Kajian ke atas <i>Vernonia cinerea</i>	58
2.7.4 <i>Tridax procumbens</i>	59
2.7.4.1 Asal-usul dan taburan	59
2.7.4.2 Tatanama dan nama tempatan	59
2.7.4.3 Morfologi tumbuhan <i>Tridax procumbens</i>	60
2.7.4.4 Nilai-nilai perubatan tumbuhan <i>Tridax procumbens</i>	60
2.7.4.5 Kajian ke atas <i>Tridax procumbens</i>	62
2.7.5 <i>Emilia sonchifolia</i>	63
2.7.5.1 Asal-usul dan taburan	63
2.7.5.2 Tatanama dan nama tempatan	63
2.7.5.3 Morfologi tumbuhan <i>Emilia sonchifolia</i>	64
2.7.5.4 Nilai-nilai perubatan tumbuhan <i>Emilia sonchifolia</i>	64
2.7.5.5 Kajian ke atas <i>Emilia sonchifolia</i>	66

BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH

3.1 Penyampelan <i>Vernonia cinerea</i>, <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i>	67
3.1.1 Pembasuhan dan pengeringan sampel	67
3.2 Kaedah pengekstrakan dan pemfraksian dengan menggunakan pelarut yang berlainan	67

3.3 Penyediaan ekstrak dan mikroorganisma ujian	70
3.3.1 Penyediaan ekstrak ujian	70
3.3.2 Mikroorganisma ujian	71
3.3.2.1 Bakteria ujian	71
3.3.2.2 Kulat ujian	72
3.3.2.3 Yis ujian	72
3.3.3 Penyediaan inokulum	72
3.3.3.1 Bakteria	73
3.3.3.2 Kulat	73
3.3.3.3 Yis	74
3.4 Penentuan aktiviti antimikrob pelbagai ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>, <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i> terhadap mikroorganisma ujian	74
3.4.1 Penyaringan mikroorganisma ujian dengan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> , <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i>	74
3.5 Kesan kepekatan pelbagai ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>, <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i> terhadap mikroorganisma ujian	76
3.5.1 Penentuan Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) bagi mikroorganisma ujian	76
3.5.2 Penentuan Kepekatan Maut Minimum (MLC) bagi mikroorganisma ujian	78
3.6 Kesan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> terhadap profil pertumbuhan mikroorganisma	79
3.6.1 Kesan pelbagai kepekatan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan sel <i>Candida albicans</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	79
3.6.1.1 Penentuan corak pertumbuhan	80
3.6.1.2 Pengamatan perubahan morfologi <i>Candida albicans</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> di bawah mikroskop cahaya	80

3.6.2 Kesan penambahan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan sel <i>Candida albicans</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dalam tempoh masa penderaman yang berbeza	81
3.7 Kesan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selepas penindasan dengan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	82
3.7.1 Pengamatan menggunakan mikroskop elektron pensakan (SEM)	82
3.7.2 Pengamatan menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM)	83
3.8 Kesan kesitotoksikan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	83
3.8.1 Ujian kesitotoksikan dengan menggunakan anak udang brin (<i>Artemia salina</i>)	83
3.8.2 Kajian kesitotoksikan akut dengan menggunakan mencit	84
3.8.2.1 Penyediaan haiwan makmal untuk kajian kesitotoksikan	84
3.8.2.2 Kaedah kajian kesitotoksikan akut mencit	85
3.8.2.3 Statistik	86
3.9 Pemfraksian ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> dan penentuan komponen yang bersifat antiyis	87
3.9.1 Pemilihan fasa bergerak dengan kromatografi lapisan nipis (TLC)	87
3.9.2 Pemfraksian ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> dengan kromatografi turus untuk menentukan aktiviti antiyis	88
BAB 4 KEPUTUSAN	
4.1 PENGEKSTRAKAN	90
4.1.1 Pelbagai ekstrak daripada <i>Vernonia cinerea</i> , <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i>	90
4.2 Penentuan aktiviti antimikrob pelbagai ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>, <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i> terhadap mikroorganisma ujian	90

4.3 Kesan kepekatan pelbagai penyediaan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>, <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i> terhadap mikroorganisma ujian	102
4.3.1 Penentuan Nilai Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) dan Nilai Kepekatan Maut Minimum (MLC)	102
4.4 Kesan penambahan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> ke atas profil pertumbuhan mikroorganisma ujian	113
4.4.1 Kesan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan sel <i>Candida albicans</i>	113
4.4.1.1 Pengamatan corak pertumbuhan sel yis	115
4.4.2 Kesan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan sel <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	116
4.4.2.1 Pengamatan corak pertumbuhan sel bakteria	120
4.5 Kesan masa penambahan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan dua kali MIC	122
4.5.1 Kesan masa penambahan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan dua kali MIC ke atas pertumbuhan sel <i>Candida albicans</i>	122
4.5.2 Kesan masa penambahan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan dua kali MIC ke atas pertumbuhan sel <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	124
4.6 Kesan perubahan struktur dan morfologi mikroorganisma ujian selepas penindasan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>	124
4.6.1 Kesan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> selepas penindasan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	124
4.6.2 Kesan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selepas penindasan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	130
4.7 Keputusan ujian kesitotoksikan ekstrak metanol <i>Vernonia Cinerea</i>	134
4.8 Pemfraksian ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> dan penentuan komponen yang bersifat antiyis	139

4.8.1 Pemilihan fasa bergerak dengan kromatografi lapisan nipis	139
4.8.2 Pemfraksian ekstrak kasar metanol <i>Vernonia cinerea</i> dengan kromatografi turus untuk menentukan aktiviti antiyis	142
4.8.3 Penentuan komponen kimia dalam ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> yang bersifat antiyis	142
BAB 5 PERBINCANGAN	
5.1 Pengekstrakan	146
5.2 Penyaringan aktiviti antimikrob	149
5.3 Kesan kepekatan pelbagai ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>, <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i> terhadap mikroorganisma ujian	155
5.4 Kesan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> ke atas profil pertumbuhan <i>Candida albicans</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	163
5.5 Kesan perubahan struktur dan morfologi mikroorganisma ujian selepas penindasan oleh ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	164
5.5.1 Perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> selepas penindasan rawatan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	164
5.5.2 Perubahan struktur dan morfologi sel <i>Pseudomonas aeruginosa</i> selepas rawatan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	170
5.6 Kesan kesitotoksikan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>	171
5.7 Penyisihan sebatian bioaktif daripada ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> dengan kaedah kromatografi	175
BAB 6 KESIMPULAN UMUM DAN CADANGAN KAJIAN LANJUTAN	178
RUJUKAN	182
LAMPIRAN	203
PENERBITAN DARIPADA PENYELIDIKAN INI	

SENARAI JADUAL

MUKA SURAT

Jadual 2.1: Pengelasan antibiotik antibakteria	24
Jadual 2.2: Kumpulan utama antikulat	30
Jadual 2.3: Tumbuhan yang mempunyai aktiviti antibakteria	34
Jadual 4.1: Peratus pelbagai ekstrak yang diekstrak daripada <i>Vernonia cinerea</i> , <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i>	93
Jadual 4.2: Penyaringan aktiviti antimikrob pelbagai penyediaan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> (100 mg/ml) terhadap mikroorganisma ujian	95
Jadual 4.3: Penyaringan aktiviti antimikrob pelbagai penyediaan ekstrak <i>Tridax procumbens</i> (100 mg/ml) terhadap mikroorganisma ujian	98
Jadual 4.4: Penyaringan aktiviti antimikrob pelbagai penyediaan ekstrak <i>Emilia sonchifolia</i> (100 mg/ml) terhadap mikroorganisma ujian	100
Jadual 4.5: Nilai Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) dan Nilai Kepekatan Maut Minimum (MLC) yang ditunjukkan oleh pelbagai ekstrak <i>Vernonia cinerea</i>	105
Jadual 4.6: Nilai Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) dan Nilai Kepekatan Maut Minimum (MLC) yang ditunjukkan oleh pelbagai ekstrak <i>Tridax procumbens</i>	108
Jadual 4.7: Nilai Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) dan Nilai Kepekatan Maut Minimum (MLC) yang ditunjukkan oleh pelbagai ekstrak <i>Emilia sonchifolia</i>	111
Jadual 4.8: Ringkasan keputusan ujian kesitotoksikan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> dengan menggunakan anak udang brin	137
Jadual 4.9: Kesan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> terhadap indeks berat organ terhadap berat badan (%) dalam mencit	140
Jadual 4.10: Zon perencatan yang ditunjukkan oleh fraksi-fraksi ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> terhadap <i>Candida albicans</i>	144

SENARAI RAJAH	MUKA SURAT
Rajah 2.1: Struktur beberapa sebatian daripada kelas alkaloid	38
Rajah 2.2: Struktur beberapa sebatian daripada kelas saponin	40
Rajah 2.3: Struktur beberapa sebatian daripada kelas flavonoid	42
Rajah 2.4: Struktur beberapa sebatian daripada kelas kuinon	44
Rajah 2.5: Struktur kimia tanin	47
Rajah 2.6: Ilustrasi <i>Vernonia cinerea</i>	56
Rajah 2.7: Ilustrasi <i>Tridax procumbens</i>	61
Rajah 2.8: Ilustrasi <i>Emilia sonchifolia</i>	65
Rajah 3.1: Carta alir pengekstrakan <i>Vernonia cinerea</i> , <i>Tridax procumbens</i> dan <i>Emilia sonchifolia</i> dengan menggunakan pelbagai pelarut	69
Rajah 4.1: Profil pertumbuhan <i>Candida albicans</i> dalam ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan 0.78 mg/ml (1/2 MIC), 1.56 mg/ml (MIC) dan 3.13 mg/ml (2MIC)	114
Rajah 4.2: Profil pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dalam ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan 1.56 mg/ml (1/2 MIC), 3.13 mg/ml (MIC) dan 6.25 mg/ml (2MIC)	119
Rajah 4.3: Kesan penambahan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan 2MIC (3.13 mg/ml) ke atas pertumbuhan <i>Candida albicans</i> pada tempoh masa pengeringan tertentu	123
Rajah 4.4: Kesan penambahan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> pada kepekatan 2MIC (6.25 mg/ml) ke atas pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada tempoh pengeringan tertentu	125
Rajah 4.5: Keputusan ujian kesitotoksikan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> menggunakan anak udang brin selepas 6 jam	135
Rajah 4.6: Keputusan ujian kesitotoksikan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> menggunakan anak udang brin selepas 24 jam	136

SENARAI GAMBAR FOTO	MUKA SURAT
Gambar Foto 2.1: <i>Vernonia cinerea</i>	56
Gambar Foto 2.2: <i>Tridax procumbens</i>	61
Gambar Foto 2.3: <i>Emilia sonchifolia</i>	65
Gambar Foto 4.1: Ekstrak daripada pelarut metanol	91
Gambar Foto 4.2: Pelbagai penyediaan ekstrak yang diperolehi daripada penyediaan <i>Vernonia cinerea</i>	92
Gambar Foto 4.3: Zon perencatan ekstrak metanol daripada <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan yis ujian, <i>Candida albicans</i>	97
Gambar Foto 4.4: Penentuan MLC dan MIC ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> ke atas <i>Candida albicans</i> dengan menggunakan Teknik Kultur Tabung.	103
Gambar Foto 4.5: Kesan ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan <i>Candida albicans</i> (x1000)	117
Gambar Foto 4.6: Kesan ekstrak kasar <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (x1000)	121
Gambar Foto 4.7: Mikrograf SEM <i>Candida albicans</i> yang telah diolah dengan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> berkepekatan 100 mg/ml	127
Gambar Foto 4.8: Mikrograf TEM <i>Candida albicans</i> yang telah diolah dengan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> berkepekatan 100 mg/ml	129
Gambar Foto 4.9: Mikrograf SEM <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang telah diolah dengan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> berkepekatan 100 mg/ml	131
Gambar Foto 4.10: Mikrograf TEM <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang telah diolah dengan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> berkepekatan 100 mg/ml	133
Gambar Foto 4.11: Pemeriksaan histopatologi. (A) Ginjal, (B) Hati, (C) Paru-paru dan (D) Limpa	138

Gambar Foto 4.12: Hasil penyisihan ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i> dengan menggunakan kaedah Kromatografi Lapisan Nipis	141
Gambar Foto 4.13: Fraksi ekstrak <i>Vernonia cinerea</i> dikutip di bahagian bawah turus kromatografi	143
Gambar Foto 4.14: Zon perencatan Fraksi 17 <i>Vernonia cinerea</i> ke atas pertumbuhan yis ujian, <i>Candida albicans</i>	145

SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN

%	Peratus
°C	Darjah Celsius
C	Kloramfenikol
CFU	Unit pembentukan koloni
EB	Ekstrak butanol <i>Emilia sonchifolia</i>
EDE	Ekstrak dietil eter <i>Emilia sonchifolia</i>
EEA	Ekstrak etil asetat <i>Emilia sonchifolia</i>
EK	Ekstrak kloroform <i>Emilia sonchifolia</i>
EME	Ekstrak metanol <i>Emilia sonchifolia</i>
g	Gram
GCMS	Kromatografi gas dan spektrometer jisim
LC ₅₀	Kepekatan maut 50%
LD ₅₀	Dos membunuh 50%
M	Mikonazol
MBC	Kepekatan bakterisid minimum
mg	Miligram
MIC	Kepekatan perencatan minimum
min.	Minit
ml	Mililiter
MLC	Kepekatan maut minimum
MYC	Kepekatan yistosid minimum
NA	Agar nutrient
OD	Ketumpatan optik

R _f	Nilai relatif pergerakan
SEM	Mikroskop elektron penskanan
TB	Ekstrak butanol <i>Tridax procumbens</i>
TDE	Ekstrak dietil eter <i>Tridax procumbens</i>
TEA	Ekstrak etil asetat <i>Tridax procumbens</i>
TEM	Mikroskop elektron transmisi
TK	Ekstrak kloroform <i>Tridax procumbens</i>
TLC	Kromatografi lapisan nipis
TLC	Kromatografi lapisan nipis
TME	Ekstrak metanol <i>Tridax procumbens</i>
UV	Sinaran ultra lembayung
VB	Ekstrak butanol <i>Vernonia cinerea</i>
VDE	Ekstrak dietil eter <i>Vernonia cinerea</i>
VEA	Ekstrak etil asetat <i>Vernonia cinerea</i>
VK	Ekstrak kloroform <i>Vernonia cinerea</i>
VME	Ekstrak metanol <i>Vernonia cinerea</i>

AKTIVITI ANTIMIKROB EKSTRAK *Vernonia cinerea* L., *Tridax procumbens* L., DAN *Emilia sonchifolia* L. DARIPADA FAMILI ASTERACEAE

ABSTRAK

Kajian ini telah dijalankan untuk mengkaji kesan aktiviti antimikrob tiga jenis tumbuhan daripada famili Asteraceae iaitu *Vernonia cinerea* L., *Tridax procumbens* L., dan *Emilia sonchifolia* L. Sebanyak lima belas jenis ekstrak telah dihasilkan daripada tumbuhan *V. cinerea*, *T. procumbens* dan *E. sonchifolia*. Ekstrak yang telah dihasilkan ialah ekstrak metanol, kloroform, dietil eter, etil asetat, dan butanol. Kajian penyaringan pelbagai ekstrak ini menunjukkan aktiviti antimikrob yang signifikan terhadap bakteria Gram positif dan Gram negatif serta yis tetapi tidak terhadap kulat. Kesan kepekatan perencatan minimum (MIC) dan kesan kepekatan maut minimum (MLC) bagi ekstrak *V. cinerea*, *T. procumbens* dan *E. sonchifolia* telah ditentukan dan didapati berada dalam julat 1.56 - 100.00 mg/ml dan 3.13 - 100.00 mg/ml, masing-masing. Kajian penyaringan dan kajian kesan kepekatan ekstrak terhadap pelbagai mikroorganisma ujian menunjukkan bahawa ekstrak metanol *V. cinerea* memberikan kesan aktiviti antimikrob yang baik berbanding tumbuhan yang lain. Maka, kajian selanjutnya telah ditumpukan pada ekstrak metanol *V. cinerea*. Ekstrak metanol *V. cinerea* pada kepekatan MIC, 1/2 MIC dan 2 kali MIC didapati menindas fasa log pertumbuhan *Candida albicans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pencerapan mikroskopi pula menunjukkan bahawa ekstrak metanol *V. cinerea* mengakibatkan beberapa perubahan dalam fisiologi dan morfologi sel *C. albicans* dan *P. aeruginosa*. Daripada kajian mikroskop

elektron pensakanan (SEM) dan mikroskop elektron transmisi (TEM) didapati ekstrak metanol *V. cinerea* (100.00 mg/ml) mempunyai dua mekanisme tindakan berbeza iaitu menyerang dinding sel mikroorganisma ujian dan mengganggu sistem metabolisme mikroorganisma ujian. Kajian kesitotoksikan telah dijalankan ke atas anak udang brin dan mencit. Ekstrak metanol *V. cinerea* yang telah diuji untuk ketoksikan menggunakan anak udang brin menunjukkan nilai kepekatan maut 50 % (LC₅₀) lebih daripada 1 mg/ml dan dengan mencit menunjukkan nilai dos maut 50 % (LD₅₀) lebih daripada 2000 mg/ml. Ini membuktikan bahawa ekstrak metanol *V. cinerea* adalah tidak toksik.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *Vernonia cinerea* L., *Tridax procumbens* L., AND *Emilia sonchifolia* L. FROM ASTERACEAE FAMILY

ABSTRACT

This research was conducted to study the antimicrobial effect of three plant extracts of Asteraceae family namely *Vernonia cinerea* L., *Tridax procumbens* L., and *Emilia sonchifolia* L. Fifteen types of extracts were extracted from *V. cinerea*, *T. procumbens* and *E. Sonchifolia* namely methanol, chloroform, diethyl ether, ethyl acetate, and buthanol. Screening of these different extracts for antimicrobial activity showed that the extracts possess significant antimicrobial activity against Gram positive bacteria, Gram negative bacteria and yeast cells but not against the fungi tested. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum lethal concentration (MLC) values for different extract of *V. cinerea*, *T. procumbens* dan *E. sonchifolia* had been determined in the range of 1.56 - 50.00 mg/ml and 3.13 - 100.00 mg/ml, respectively. The results of the screening study and the effects of concentration of the different extracts on microorganism revealed that the methanolic extract of *V. cinerea* exhibited most significant antimicrobial activity among the three plants. Hence, further study was concentrated only on methanol extract of *V. cinerea*. Methanol extract of *V. cinerea* at the MIC, 1/2 MIC and 2 times MIC concentration can inhibit the log phase of *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa*. Microscopic studies showed that the methanol extract of *V. cinerea* caused some physiological and morphological changes in the treated cells of *C. albicans* and *P. aeruginosa*. Based on scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM) studies, the methanol extract of

V. cinerea (100.00 mg/ml) exhibited two different types of mechanisms on the tested microorganisms such as attacking the cell wall and disrupting their metabolism. The toxicity test for methanol extract of *V. cinerea* was carried out using brine shrimp lethality test and mice acute toxicity test. The methanol extract of *V. cinerea* screened for toxicity against the brine shrimp had lethality concentration of 50% (LC₅₀) value more than 1 mg/ml and screening for acute toxicity in mice had lethality dose of 50% (LD₅₀) value more than 2000 mg/ml. These findings confirmed that the crude extract of *V. cinerea* was not toxic.

BAB 1 PENGENALAN UMUM

Pada masa kini sebanyak 25-30% drug yang digunakan sebagai agen rawatan adalah berasal daripada bahan semula jadi (tumbuhan, mikrob dan haiwan). Pada abad ke-20, kimia sintesis telah mendominasi industri farmaseutikal di mana ia telah menggantikan ekstrak daripada bahan semulajadi dengan molekul sintetik. Ini telah mengurangkan populariti penggunaan bahan semulajadi sebagai agen terapi yang biasanya berasal daripada tumbuhan. Namun demikian bukti terbaru daripada firma farmasi telah menunjukkan bahawa bagi penyakit yang kompleks, bahan semulajadi masih merupakan sumber yang penting dalam penghasilan entiti kimia baru. Ini kerana ia mewakili struktur kimia yang terhasil daripada mekanisme evolusi yang melibatkan suatu jangka masa yang panjang iaitu berjuta tahun (Newman *et al.*, 2003; Boldi, 2004; Clardy & Walsh, 2004; Koehn & Carter, 2005). Daripada lebih 250 000 spesies tumbuhan yang masih hidup di muka bumi ini, sudah pasti ianya kaya dengan pelbagai bahan bioaktif. Ini kerana proses evolusi telah membiosintesis dan mengubahsuai molekul bioaktif dalam tumbuhan untuk jangka masa yang lama berbanding dengan kaedah pemprosesan sintesis di kilang farmasi yang digunakan untuk menghasilkan drug tiruan (Raskin *et al.*, 2002).

Tumbuhan ubatan mungkin telah digunakan sejak 5000 tahun dahulu oleh orang Sumeria (Swerdlow, 2000), dan rekod arkeologi pula mencadangkan mungkin lebih lama daripada itu (Raskin *et al.*, 2002). Bahan bioaktif semula jadi yang berasal daripada tumbuhan yang bersifat ubatan telah

menjadi sumber agen terapi atau rawatan yang penting bagi manusia terutamanya dalam bentuk makanan. Bahan-bahan ubatan semulajadi yang terkandung dalam tumbuhan amat berguna bagi kesihatan kerana ia dapat meningkatkan daya rintang kita terhadap penyakit, membaik pulih sistem badan dan bertindak sebagai antioksidan. Tumbuhan yang tidak toksik kepada manusia sangat sesuai jika dimakan setiap hari dalam bentuk sayur-sayuran, buah-buahan dan minuman teh herba untuk menjaga kesihatan badan dan tidak perlu diambil sebagai drug semata-mata. Antara bahan antioksidan yang terkandung dalam tumbuhan ialah flavonoid, karotenoid, vitamin dan banyak lagi. Kajian menunjukkan bahawa antioksidan ini juga mempunyai ciri-ciri seperti antikanser, antimikrob, antimutagen, kardioprotektif dan juga berperanan dalam melambatkan proses penuaan (Khokhar & Magnusdottir, 2002).

Idea asas tentang penggunaan suatu tumbuhan ubatan sebagai agen rawatan ialah untuk mengembangkannya sebagai agen terapi semulajadi yang piawai yang berkesan (yang telah dinilai secara klinikal), selamat untuk digunakan dan berkualiti tinggi. Maka, ini membuktikan bahawa penghasilan agen terapi daripada bahan semula jadi memerlukan kos yang rendah daripada drug sintetik dan ini memang sesuai untuk negara-negara membangun yang kebanyakannya merupakan negara miskin (Calixto, 2000). Pemasaran ubatan daripada tumbuhan telah berkembang secara mendadak di seluruh dunia terutamanya di negara-negara Eropah seperti Jerman, Perancis, Itali, United Kingdom, Sepanyol dan juga di Amerika Syarikat (Calixto, 2000). Mengikut Pertubuhan Kesihatan Dunia (WHO), sebanyak 65–80% daripada populasi manusia di negara-negara membangun bergantung pada tumbuhan sebagai

agen rawatan kerana kesukaran untuk mendapat rawatan ubatan moden disebabkan oleh tahap kemiskinan yang tinggi (Raskin *et al.*, 2002). Tumbuhan yang bersifat ubatan didapati sangat berkesan dalam rawatan pelbagai penyakit yang tidak dapat dirawat dengan sistem perubatan sedia ada (Vermani & Garg, 2002). Sistem perubatan daripada bahan semulajadi menjadi semakin popular kerana kesan sampingannya yang sangat sedikit, pesakit mempunyai toleransi yang tinggi, lebih murah daripada ubat yang disintesis secara kimia dan dapat diterima dengan mudah oleh pesakit kerana ia telah digunakan oleh nenek moyang mereka sejak turun temurun. Di samping itu, tumbuhan ubatan juga membantu mengimbangkan fungsi fisiologi badan manusia (Murray & Pizzorno, 1999).

Penanaman tumbuhan yang bersifat ubatan juga adalah mesra alam dan tidak seperti industri kimia yang biasanya membawa kepada pencemaran alam yang teruk (Samanta *et al.*, 2000). Penanaman tumbuhan ubatan juga boleh menjadi sumber kewangan yang penting bagi golongan petani. Tambahan pula, kebanyakan tumbuhan ubatan biasanya dapat diperolehi di dalam negara. Berdasarkan fakta-fakta di atas boleh dikatakan bahawa tumbuhan ubatan masih menjadi sumber utama yang perlu diterokai lagi dalam usaha mencari agen terapi alternatif bagi menggantikan drug yang disintesis secara kimia.

Malaysia merupakan sebuah negara yang kaya dengan pelbagai jenis spesies flora, fauna, mikroorganisma dan sumber marin. Walaupun negara ini kaya dengan sumber bahan semula jadi, tetapi bukan semua sumber

semulajadi tersebut telah digunakan sepenuhnya untuk membawa faedah kepada masyarakat. Tambahan pula aktiviti manusia yang tidak terkawal telah membawa kepada kepupusan tumbuhan yang penting dari segi perubatan. Di samping usaha kerajaan untuk melindungi biodiversiti negara ini untuk generasi akan datang, penyebaran ilmu pengetahuan tentang perubatan tradisional, terutamanya yang melibatkan tumbuhan ubatan juga adalah penting. Kajian saintifik juga harus dilakukan untuk menyediakan data saintifik bagi tumbuhan ubatan dan semua maklumat tersebut harus didokumentasikan supaya ia boleh dijadikan bahan rujukan bagi agen rawatan pada masa hadapan, terutamanya di negara-negara membangun.

Maka kajian ini telah dilakukan untuk menilai aktiviti antimikrob tumbuhan herba tempatan iaitu *Vernonia cinerea*, *Tridax procumbens* dan *Emilia sonchifolia* terhadap pelbagai mikroorganisma patogen yang biasanya menunjukkan kerintangan terhadap antibiotik yang sedia ada (Lynn & Keith, 1993). Tumbuh-tumbuhan ini telah dipilih untuk kajian ini kerana ia adalah sejenis herba yang mudah didapati sepanjang tahun, dan ia tidak bermusim serta ia tumbuh liar di merata tempat. Maka sumber untuk mendapatkan tumbuhan ini adalah mudah dan murah. Jika tumbuhan ini dipilih oleh firma farmaseutikal sebagai sumber untuk menghasilkan bahan bioaktif untuk rawatan penyakit bersifat jangkitan, maka ia boleh meningkatkan pendapatan para petani dan juga negara. Kajian-kajian lepas menunjukkan bahawa tumbuh-tumbuhan ini mempunyai spektrum tindakan yang luas terhadap bakteria Gram positif, Gram negatif dan yis. Disamping itu, pada kebiasaannya drug yang dihasilkan daripada bahan semula jadi seperti herba yang digunakan

dalam perubatan tradisional tidak menunjukkan kesan sampingan seperti yang ditunjukkan oleh drug yang disintesis secara kimia.

1.1 OBJEKTIF PENYELIDIKAN

Kajian ini telah dijalankan untuk melihat aktiviti antimikrob ekstrak daripada *V. cinerea*, *T. procumbens* dan *E. sonchifolia* daripada famili Asteraceae, yang tumbuh secara liar di merata tempat di Malaysia. Antara objektif penyelidikan ini ialah:

- a) Mengekstrak *V. cinerea*, *T. procumbens* dan *E. sonchifolia* dengan menggunakan pelbagai jenis pelarut.
- b) Menyaring aktiviti antimikrob ekstrak ketiga-tiga tumbuhan ke atas mikroorganisma ujian bakteria, kulat dan yis; menentukan nilai kepekatan perencatan minimum (MIC), nilai kepekatan maut minimum (MLC) dan menyediakan kelok kematian mikroorganisma patogen yang ditindak dengan ekstrak *V. cinerea*.
- c) Mengkaji kesan dan mekanisma tindakan ekstrak *V. cinerea* ke atas morfologi sel mikroorganisma.
- d) Menyediakan data ketoksikan ekstrak *V. cinerea* terhadap *Artemia salina* dan mencit *in vivo*.

BAB 2 TINJAUAN BAHAN BACAAN

2.1 Perkembangan kajian antimikrob daripada bahan semula jadi.

Sejak zaman silam lagi, bahan bioaktif berasal daripada tumbuhan ubatan telah menjadi sumber agen rawatan yang penting bagi manusia terutamanya dalam bentuk bahan makanan walaupun pada ketika itu manusia belum lagi arif tentang idea kewujudan mikrob (Rios *et al.*, 1988). Pada masa kini, drug yang digunakan sebagai agen rawatan yang berasal daripada bahan semulajadi seperti tumbuhan, mikrob dan haiwan menjadi semakin popular.

Kajian penemuan bahan antimikrob daripada tumbuhan telah banyak dilakukan. Dari zaman dahulu hingga ke alaf ini, tumbuhan telah menjadi sumber agen terapi yang utama kepada manusia. Kajian demi kajian telah dilakukan untuk membuktikan kewujudan bahan antimikrob semulajadi dalam tumbuhan terutamanya bagi tumbuhan yang telah digunakan dalam perubatan tradisional. Antaranya ialah penggunaan *bearberry* (*Arctostaphylos uva-ursi*) dan jus *cranberry* (*Vaccinium macrocarpon*) yang dilaporkan sebagai agen antimikrob yang mempunyai spektrum tindakan yang luas (Heinrich *et al.*, 2004) dalam rawatan jangkitan saluran air kencing manusia. Bawang putih (*Allium sativum*) dan pokok teh (*Melaleuca alternifolia*) juga dilaporkan mempunyai spektrum tindakan yang luas sebagai agen antimikrob (Heinrich *et al.*, 2004) dalam rawatan jangkitan saluran pernafasan, urinari, gastrointestinal dan sistem hati manusia. Sebelum penyakit malaria disahkan secara saintifik, kuinin yang diekstrak daripada pokok kinkona (*Cinchona* sp.) telah lama digunakan untuk merawat penyakit tersebut. Ini sudah jelas menunjukkan

bahawa manusia sudah lama memanfaatkan agen-agen antimikrob yang hadir dalam tumbuhan walaupun pada ketika itu mereka masih lagi belum arif tentang kewujudan mikrob tersebut.

Namun demikian, pada mulanya kaedah eksperimen untuk mengkaji aktiviti antimikrob yang berbeza yang digunakan oleh para saintis memberikan keputusan yang berbeza walaupun tumbuhan yang digunakan adalah sama (Pellecuer *et al.*, 1976). Ini jelas menunjukkan ketidakwujudan satu kaedah yang piawai untuk mengkaji aktiviti antimikrob daripada ekstrak tumbuhan pada masa itu. Walau bagaimanapun, masalah ini telah menemui jalan penyelesaian apabila kaedah pencairan kaldu dan peresapan agar diperkenalkan (Ríos *et al.*, 1988). Para saintis mendapati bahawa kaedah pencairan kaldu adalah sangat bermanfaat.

Sejarah telah membuktikan bahawa bahan antimikrob yang berasal daripada mikrob adalah sangat berkesan, contohnya penemuan penisilin yang berasal daripada kulat *Penicillium notatum*. Terdapat banyak kajian yang kini dilakukan untuk mengkaji bahan antimikrob semulajadi daripada mikroorganisma. Antaranya ialah daripada mikroorganisma daripada genus *Streptomyces*, *Nocardia* dan *Micromonospora* (Irobi *et al.*, 2000). Austin (1989) pula, pernah melaporkan bahawa terdapat sebanyak 30,000 hingga 50,000 produk semula jadi yang telah berjaya disaring daripada mikroorganisma dan didapati 10,000 daripadanya adalah aktif secara biologi.

Pelbagai jenis haiwan dan bahagian tubuh mereka sangat berguna sebagai agen rawatan semulajadi. Ekstrak kulit katak yang berasal dari Amerika Utara seperti *Rana luteiventris*, *Rana berlandieri* and *Rana pipiens* telah menunjukkan aktiviti antimikrob terhadap bakteria Gram positif *Staphylococcus aureus*, bakteria Gram negatif *Escherichia coli* dan yis *Candida albican* (Goraya *et al.*, 2000). Terdapat laporan lain yang menyatakan tentang penggunaan pelbagai bahagian tubuh badan haiwan untuk merawat pelbagai jenis penyakit seperti kanser, batu karang pada ginjal dan juga sebagai agen yang mengurangkan kandungan kolestrol dalam badan manusia (Uzun *et al.*, 2004). Contohnya, kepala ikan *Sciaena umbra* yang dicampur dengan jus limau telah digunakan untuk merawat penyakit batu karang pada ginjal manusia dan darah penyu *Testudo graeca* telah digunakan untuk merawat penyakit kanser dalam perubatan tradisional negara Turki (Uzun *et al.*, 2004).

Kebanyakan drug sintesis yang terdapat di pasaran kini juga adalah adaptasi daripada bahan semulajadi (Gilani *et al.*, 1992). Contoh-contoh drug seperti aspirin, atropin, artimesinin, kolkisin (colchicine), digoksin, efedrin, morfin, fisostigmin, pilokarpin, kuinin, kuinidin, reserpin, taksol, tubokurarin, vinkristin, dan vinblastin merupakan drug yang boleh diperolehi secara komersial dan merupakan hasil daripada bahan semulajadi (Gilani *et al.*, 1992).

Antara kumpulan utama agen antimikrob yang sangat popular digunakan untuk merawat penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisma patogen dalam bidang perubatan ialah antibiotik.

2.1.1 Antibiotik

Perkataan 'antibiotik' telah diperkenalkan oleh Waxman pada tahun 1945 apabila beliau menemui streptomisin yang dihasilkan oleh bakteria aktinomiset iaitu *Streptomyces griseus* (Betina, 1983). Antibiotik boleh didefinisikan sebagai sejenis bahan atau komponen kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisma sebagai metabolit sekunder yang boleh membunuh atau menghalang mikroorganisma lain pada kepekatan yang sangat rendah.

Antibiotik tidak memainkan peranan yang penting dalam pertumbuhan organisma hidup tetapi memainkan peranan yang sangat penting dalam sistem pertahanan organisma hidup. Oleh itu, antibiotik dapat dipisahkan daripada bahan metabolit primer seperti asid amino, glukosa dan lipid yang memainkan peranan yang penting dalam pertumbuhan sesuatu organisma. Kajian yang dilakukan pada masa kini menunjukkan tumbuhan merupakan sumber bahan metabolit sekunder yang baik (Halberstein, 2005).

Walaupun kebanyakan antibiotik kini disintesis secara kimia tetapi usaha penghasilan antibiotik daripada sumber lain seperti tumbuhan masih lagi diteruskan. Bahan kimia yang diekstrak daripada tumbuhan yang dapat membunuh atau menghalang pertumbuhan bakteria patogen boleh dikatakan sebagai agen antijangkitan. Walaupun terdapat beribu jenis antibiotik di pasaran, namun usaha untuk mendapatkan antibiotik yang baru masih lagi dijalankan oleh penyelidik dan ahli sains di seluruh dunia untuk mencari

antibiotik atau agen antijangkitan baru daripada pelbagai sumber semulajadi seperti tumbuhan, mikroorganisma, haiwan dan lain-lain lagi.

2.2 Mengapa perlu antibiotik baru?

2.2.1 Peningkatan dalam jumlah penyakit berjangkit

Penularan penyakit berjangkit yang disebabkan oleh bakteria, kulat, virus dan parasit masih merupakan satu ancaman utama kepada kesihatan awam walaupun kini bidang perubatan telah mencapai kemajuan yang amat memberangsangkan (Cos *et al.*, 2006). Sejak tiga dekad yang lalu, ahli sains telah melihat suatu peningkatan yang dramatik dalam peningkatan dalam kerintangan mikrob terhadap agen antimikrob yang sedia ada yang di pasaran. Kerintangan antibiotik dan kemunculan penyakit berjangkit yang baru telah menggalakkan ahli sains untuk mencari agen antimikrob yang baru daripada pelbagai sumber semula jadi. Kandidiasis oral merupakan satu penyakit jangkitan-bersama umum yang selalu dihubungkan dengan penyakit HIV/AIDS. Lebih kurang 90% daripada individu yang telah dijangkiti HIV pernah mengalami sekurang-kurangnya satu episod kandidiasis sepanjang jangkitan tersebut. *Candida albicans* adalah agen etiologi yang sentiasa dihubungkan dengan jangkitan sebegini (Mrudula & Maeve, 2008).

Faktor penyebab utama yang menyebabkan peningkatan dalam penularan penyakit berjangkit yang boleh menyebabkan maut masih lagi kabur. Perubahan dalam sifat dan demografi manusia (contohnya peningkatan dalam penggunaan kemudahan asuhan kanak-kanak telah meningkatkan risiko

jangkitan penyakit otitis media); perkembangan teknologi dan industri; pembangunan ekonomi dan penggunaan tanah yang pernah didiami oleh haiwan; pelancongan dan perdagangan antarabangsa; dan ketidakcekan dalam pengurusan kesihatan awam adalah antara faktor yang menyumbang kepada penularan beberapa penyakit berjangkit yang baru serta penularan semula penyakit berjangkit yang pada mulanya dianggap telah berjaya dikawal (Institute of Medicine, 1992). Penyakit TB (tuberkulosis), malaria dan kolera telah menular dengan luasnya sejak tahun 1973, dan kadang-kala dalam keadaan yang lebih virulen (CDC, 1994). Lebih daripada 30 agen pembawa penyakit yang baru telah dikenalpasti sejak tahun 1973 (CDC, 1999b). *Escherichia coli* pada mulanya telah menjangkiti manusia pada tahun 1980an dan seterusnya mencetuskan penularan beberapa jenis penyakit dan juga penyakit boleh menyebabkan maut akibat daripada air dan makanan yang tercemar. Penggandaan import makanan di Amerika Syarikat sejak 5 tahun kebelakangan ini telah menyumbang kepada berjuta-juta penyakit yang diakibatkan oleh makanan dan juga kematian, dan kebanyakannya merupakan patogen yang baru dikenalpasti (FSFFM, 1997). Pada tahun 1993, sejenis hantavirus yang baru yang menyebabkan kematian akibat daripada sindrom pulmonari telah dikenalpasti di kawasan barat daya Amerika Syarikat (Khan *et al.*, 1996). Pada tahun 1977 pula, sejenis strain avian influenza telah banyak membawa maut di kalangan penduduk Hong Kong (Marwick, 1998). Kes pertama virus West Nile yang menjangkiti manusia telah dikenalpasti pada tahun 1999 dan telah direkodkan di hemisfera barat (CDC, 1999a). Pada tahun 2000 pula, sejenis virus demam berdarah yang dikenali sebagai virus Whitewater Arroyo telah menyebabkan kematian di California (Enserink, 2000).

Krisis penularan penyakit berjangkit di Amerika Syarikat telah membuka dua haluan yang baru. Pada tahun 1996, satu haluan terus telah diwujudkan untuk memberi fokus yang lebih mendalam terhadap polisi penularan penyakit berjangkit. Ini dilakukan dengan memberikan pemerhatian yang lebih teliti terhadap penyakit tersebut dan menerusi suatu pengawalan yang berterusan terhadap keselamatan makanan. Jabatan Sains dan Teknologi telah mewujudkan suatu kuasa interagensi untuk menangani masalah penularan penyakit berjangkit secara global. Kesan daripada agen jangkitan dan kegawatan ekonomi disebabkan oleh AIDS, TB dan malaria telah menjadi satu agenda yang penting dalam kemuncak ekonomi antarabangsa sejak 4 tahun kebelakangan ini. Jabatan Perhubungan Antarabangsa Amerika Syarikat telah mewujudkan beberapa rancangan yang strategik termasuk dalam pengawalan kesihatan manusia dan pengurangan penularan penyakit berjangkit serta usaha untuk membanteras AIDS.

2.2.2 Kerintangan antibiotik

Kejadian kerintangan terhadap antibiotik telah menjadi salah satu sebab utama kenapa banyak kajian dilakukan untuk mencari dan membangunkan antibiotik-antibiotik yang baru (Lynn & Keith, 1993). Kerintangan mikroorganisma Gram positif, terutamanya *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* dan *Enterococcus* kini semakin meningkat terhadap beberapa kelas antibiotik. Sementara itu, bakteria Gram negatif seperti *Pseudomonas*, *Serratia* dan *Acinetobacter* pula semakin menunjukkan

kerintangan terhadap beberapa jenis antibiotik yang lain (Grayson *et.al.*, 1990). Baru-baru ini kemunculan strain virulen bagi bakteria *Mycobacterium tuberculosis* yang rintang terhadap sekumpulan antibiotik yang digunakan dalam rawatan pesakit AIDS dan juga penagih dadah amat mengejutkan kerana ada kemungkinan penyakit TB ini boleh merebak semula dan memberi ancaman kepada seluruh masyarakat dunia.

Bahaya daripada penularan penyakit berjangkit yang baru dan yang berulang berkait rapat dengan peningkatan bakteria yang rintang terhadap antibiotik (Institute of Medicine, 1998). Pemilihan drug bagi rawatan terhadap jangkitan penyakit kini menjadi semakin terhad dan dalam sesetengah kes, ia hampir tidak wujud. Kesan ekonomi yang disebabkan oleh rintangan antimikrob adalah penting. Anggaran kos setahun bagi rintangan antimikrobial di hospital yang disebabkan oleh *S. aureus* ialah sebanyak USD 122 juta dan bagi jangkitan yang berasal dari hospital atau lebih dikenali sebagai jangkitan nosokomial pula ialah sebanyak USD 4.5 bilion (Institute of Medicine, 1998). Pada tahun 1992, kira-kira 19 000 kematian telah diakibatkan oleh jangkitan nosokomial secara langsung dan ini seterusnya menyumbang kepada 11 jenis punca utama kematian di Amerika Syarikat (Institute of Medicine, 1992). Di unit rawatan rapi, 28% daripada jangkitan nosokomial telah menunjukkan rintangan terhadap rawatan antibiotik yang utama (Institute of Medicine, 1998). Lebih daripada 90% strain *S. aureus* yang terdapat di hospital-hospital di Amerika Syarikat mempunyai rintangan terhadap antibiotik penisilin dan β -laktam (Institute of Medicine, 1998). Di Malaysia pula, rintangan *S. aureus* terhadap antibiotik penisilin telah direkodkan sebanyak 77% pada tahun 2007

(Anonymous, 2007). Enterokokus merupakan jangkitan nosokomial yang paling umum dan vankomisin selalunya merupakan satu-satunya agen yang berkesan.

Vankomisin dahulunya merupakan drug yang paling berkesan bagi rintangan metisilin terhadap *S. aureus*. Namun demikian, pada tahun 1997, penurunan keupayaan vankomisin terhadap strain *S. aureus* telah dilaporkan di Jepun dan di Amerika Syarikat (Cohen, 2000). Dalam persekitaran hospital, bakteria Gram-negatif menjadi semakin rintang dalam julat spektrum sefalosporin yang lebih luas (Cohen, 2000).

Rintangan antibiotik yang semakin meningkat terutamanya bagi antibiotik yang diperlukan oleh komuniti semakin mendapat perhatian. Sebelum tahun 1987, rintangan antibiotik *Streptococcus pneumoniae* (pneumokokus) adalah sangat jarang, namun demikian dalam sesetengah komuniti hampir 40% strain ini kini rintang terhadap penisilin (CDC, 1997). Di antara tahun 1993 dan 1997, kekerapan rintangan penisilin telah meningkat daripada 14% kepada 25%. Pneumokokus merupakan penyebab utama pneumonia, meningitis dan jangkitan dalam darah bagi orang dewasa, dan otitis media di kalangan kanak-kanak. Peningkatan dalam rintangan antibiotik telah membawa kepada kewujudan strain-strain yang hanya berkesan terhadap vankomisin (Cohen, 2000). Kebanyakan patogen yang lain termasuklah agen pembawa malaria, tuberkulosis, gonorrhoea, dan salmonela kini menjadi semakin rintang terhadap terapi piawai.

Kelekaan yang berkaitan dengan penyakit berjangkit pada tahun 1960an dan keyakinan umum terhadap antibiotik yang sedia ada telah menyebabkan kelewatan penghasilan agen antimikrob yang baru, walaupun kemajuan dalam sains pada ketika itu telah banyak menyumbang kepada inovasi dalam bidang farmaseutis.

Suatu pendekatan terapeutis yang baru haruslah dilakukan. Selagi tiada penemuan antibiotik baru yang dapat mengatasi masalah kerintangan, rawatan empirik selalunya bergantung kepada penggunaan antibiotik berspektrum sempit (Marr *et al.*, 1988). Penggunaan antibiotik berspektrum sempit dapat mengurangkan masalah terjadinya kerintangan (Marr *et al.*, 1988).

2.2.3 Pendekatan yang diambil untuk mengatasi masalah kerintangan antibiotik.

Beberapa pendekatan telah diambil untuk mengatasi masalah kerintangan. Salah satu daripadanya ialah penghasilan analog bagi drug antibiotik yang sedia ada dan yang mempunyai aktiviti terhadap mikroorganisma yang rintang (Lynn & Keith, 1993). Sebagai contoh, antibiotik seperti eritromisin yang telah diubahsuai struktur kimianya telah menunjukkan kemampuan untuk mengatasi kerintangan strain mikroorganisma terhadap antibiotik makrolida-linkosamida-streptogramin B (MLS) melalui mekanisme metilasi, iaitu penambahan kumpulan metil pada ribosom yang akan mengganggu fungsi normal ribosom (McMurry *et al.*, 1982). Kehilangan protein porin pada membran luar bakteria Gram negatif menyebabkan ia lebih rintang

terhadap beberapa kelas antibiotik (Nikaido, 1988). Ahli kimia telah berjaya mengubahsuai struktur kimia drug antibiotik ini agar ia dapat menembusi periplasma bakteria rintang tersebut melalui saluran transmembran (Lynn & Keith, 1993). Sebagai contoh, antibiotik sefalosporin yang dapat menembusi bakteria Gram negatif terutamanya *Pseudomonas* melalui mekanisme penyerapan katekol (*catechol-scavenging*) iaitu sejenis agen antioksidan (Curtis *et al.*, 1988; Nikaido & Rosenberg, 1990; Silley *et al.*, 1990). Kebanyakan antibiotik yang dihasilkan melalui bahan semulajadi yang telah diketahui kewujudannya kurang mendapat perhatian untuk kajian selanjutnya akibat daripada kekurangan maklumat tentang spektrum tindakan dan toksisitinya (Lynn & Keith, 1993). Sebagai contoh, antibiotik daripada kumpulan makrolida seperti spiramisin terbukti aktif terhadap strain mikroorganisma yang rintang terhadap MLS (Arthur & Courvalin, 1986).

2.2.4 Gabungan antibiotik

Apabila mekanisme kerintangan yang terjadi pada peringkat molekul dapat dikenalpasti, adalah mungkin suatu terapeutik gabungan yang spesifik dapat dirangka atas dasar antagonisme dan dengan mengambil kira faktor-faktor penyebab kerintangan yang utama. Contohnya, gabungan antibiotik amoksisilin-asid klavulanik digunakan untuk mengatasi kerintangan yang terjadi kepada amoksisilin berbanding dengan jika ianya digunakan bersendirian. Antibiotik karbepenam seperti SF-2103A (Wright & Gambino, 1984), karpetimisin A dan B (Kobayashi *et al.*, 1982) dan penem BRL-42715

(Coleman *et.al.*, 1989) telah dilaporkan berguna jika digunakan secara gabungan dengan sefalosporin iaitu sejenis antibiotik yang berspektrum luas.

2.2.5 Mekanisme rintangan antibiotik

Dua jenis mekanisme utama yang menyebabkan kerintangan bakteria terhadap drug ialah mekanisme genetik dan mekanisme biologi (Alanis, 2005).

2.2.5.1 Mekanisme genetik

Untuk berlakunya kerintangan terhadap sesuatu antibiotik kehadiran dua elemen penting adalah diperlukan: Pertama, kehadiran bahan antibiotik yang merencatkan kebanyakan daripada bilangan mikrob yang hadir dalam sesuatu koloni bakteria atau koloni yang heterogen. Kedua, terdapat sekurang-kurangnya satu bakterium yang mempunyai gen penentu yang rintang terhadap antibiotik tersebut (Levy & Marshall, 2004). Jika ini berlaku, bakteria yang mempunyai gen yang menunjukkan kerintangan akan hidup tetapi bakteria yang lain akan dibunuh oleh antibiotik tersebut. Gen daripada bakteria ini akan dipindahkan pula kepada bakteria lain supaya bakteria lain yang normal juga dapat menunjukkan kerintangan terhadap antibiotik (Levy & Marshall, 2004). Antara proses pemindahan gen bakteria yang rintang kepada bakteria yang lain ialah seperti berikut:

1. Konjugasi

Konjugasi merupakan kaedah pemindahan gen rintang yang biasa ditunjukkan oleh bakteria. Konjugasi biasanya berlaku dengan bantuan plasmid apabila dua bakteria berhubung dengan pembentukan pilus seks (struktur berbentuk tiub) yang membenarkan pemindahan gen rintang tersebut (Alanis, 2005).

2. Transformasi

Transformasi berlaku apabila terdapat DNA bakteria yang bebas yang wujud akibat daripada kematian dan pemecahan sel bakteria yang sangat dekat dengan sel bakteria lain yang hidup. DNA yang bebas itu akan masuk ke dalam sel bakteria yang hidup dan bersatu dengan DNA bakteria tersebut.

3. Transduksi

Transduksi adalah mekanisme genetik yang ketiga. Ia biasanya melibatkan vektor seperti virus yang dapat menjangkiti bakteria, misalnya bakteriofaj. Virus yang mempunyai gen yang menunjukkan kerintangan akan menjangkiti bakteria lain dan memasukkan bahan genetiknya ke dalam DNA bakteria tersebut. (Alanis, 2005).

2.2.5.2 Mekanisme biologi

Walaupun gen yang menunjukkan kerintangan dapat dipindahkan kepada bakteri lain, tetapi kejayaannya dalam pembentukan bakteri rintang antibiotik hanya berlaku jika gen tersebut dapat mengekspreskan dirinya iaitu ia dapat tumbuh dengan kehadiran gen yang menunjukkan kerintangan dalam DNANYA. Gen ini akan mengakibatkan tindakan biologi yang akan menghentikan aktiviti antibiotik. Terdapat banyak mekanisme biologi seperti (Alanis, 2005):

1. Menyahaktifkan enzim dan memusnahkan drug

Antara contoh mekanisme ini ialah antibiotik β -laktamase yang dihasilkan oleh kebanyakan bakteri stafilokokus, yang mampu mentakaktifkan sebahagian besar antibiotik penisilin dan kebanyakan sefalosporin (Jacoby & Munoz-Price, 2005)

2. Mengurangkan perlonggokan drug

Keadaan ini menyebabkan membran sel bakteri tidak telap dan menyebabkan peningkatan efluks berlaku. Ini bermakna mekanisme pengangkutan efluks adalah lebih kuat daripada mekanisme pengangkutan influks yang membawa masuk antibiotik (Hooper, 2005). Mekanisme efluks yang pertama dilaporkan berlaku terhadap antibiotik tetrasiklin dan makrolida (Roberts, 1996; Leclercq, 2002).

3. Penukaran tapak pengikatan

Pada mikroorganisma yang bersifat rintang antibiotik, tapak pengikatan drug boleh diubahsuai supaya mikroorganisma tidak mempunyai afiniti terhadap drug tersebut. Contoh bagi mekanisme ini ialah modifikasi protein yang berikat dengan penisilin atau modifikasi yang menyebabkan berlakunya kerintangan antibiotik fluorokuinolon (Sefton, 2002; Levy & Marshall, 2004).

4. Pembentukan lintasan alternatif metabolit

Bakteria yang rintang dapat menghasilkan enzim yang terubahsuai, iaitu hanya mempunyai sedikit afiniti terhadap drug atau tiada langsung.

2.2.6 Kepentingan ekonomi

Seiringan dengan arus perubahan dunia, kini minat yang mendalam terhadap usaha penghasilan antibiotik baru daripada sumber tumbuhan atau bahan semula jadi menjadi semakin meluas. Minat ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor seperti pengguna menganggap bahawa penggunaan bahan semulajadi seperti herba adalah lebih selamat daripada drug sintesis, ketidakpuasan terhadap ubat sintesis yang biasanya membawa banyak kesan sampingan dan keprihatinan terhadap kos perbelanjaan untuk perubatan, di mana bahan semulajadi adalah lebih murah berbanding drug sintesis (Iwu *et al.*, 1999). Hasil jualan bahan semulajadi yang semakin memberangsangkan dapat dilihat sejak kebelakangan ini. Hasil jualan produk herba di bawah

kategori industri makanan tambahan pada tahun 2004 telah mencapai USD 60 bilion secara keseluruhan diperingkat dunia dan di Amerika Syarikat sahaja, jualannya telah mencapai USD 20 bilion dolar (Savaiano, 2006). Industri ini dijangka akan mencapai pertumbuhan sekitar 15 – 20% dalam alaf baru (Iwu *et al.*, 1999). Oleh yang demikian, banyak tumbuhan yang tumbuh secara liar di hutan perlu ditanam secara domestik untuk memenuhi permintaan daripada pengguna. Ini secara tidak langsung akan meningkatkan hasil pendapatan para petani sesebuah negara dan seterusnya menyumbang kepada pembangunan ekonomi negara (Iwu *et al.*, 1999).

Keperluan agen antimikrob yang dihasilkan daripada tumbuhan semakin meningkat di pasaran. Jika ditinjau dari segi agen antijangkitan yang berdasarkan bahan botani, *Hydrastis* telah mencatatkan jualan sebanyak 4.7% pada tahun 1995 (Gruenwald, 1997). Manakala agen antijangkitan telah mencatatkan hasil jualan sebanyak 24% daripada jumlah hasil jualan pasaran farmaseutis (Bureau of Census, 1994).

Kajian yang serupa juga telah dijalankan terhadap hasil jualan *Hypericum* (St. John's Wort) di pasaran. *Hypericum* merupakan herba antivirus, ia juga digunakan sebagai agen antitekanan (*antidepressant*). Pada tahun 1995 ia belum lagi menjadi herba yang popular di pasaran sehinggalah ke tahun 1997, di mana ia telah mencatat hasil jualan yang sangat tinggi di pasaran (Gruenwald, 1997). Maklumat ini jelas menunjukkan masa depan yang cerah bagi industri antibiotik daripada sumber bahan semulajadi.

2.3 Antibiotik dan mekanisme tindakannya

Antibiotik telah banyak memberikan sumbangan yang berkesan dan positif terhadap rawatan penyakit yang disebabkan oleh jangkitan mikroorganisma patogen pada manusia dan haiwan. Bagi rawatan kanser, konsep asas yang digunakan untuk semua rawatan kemoterapi ialah ketoksikan memilih. Antibiotik digunakan sebagai agen kemoterapi dengan memusnahkan mikroorganisma sasaran tanpa merosakkan perumah (Brock *et al.*, 1989).

Secara umumnya antibiotik dapat dibahagikan kepada beberapa kategori, bergantung kepada mikroorganisma yang boleh ditindak olehnya. Antibiotik antibakteria dan antikulat adalah dua jenis antibiotik yang sangat terkenal (Prescott *et al.*, 1996). Antibiotik mempunyai mekanisme tindakan yang khusus terhadap mikroorganisma yang tertentu dan bertindak dengan kaedah yang berbeza.

2.3.1 Antibiotik antibakteria

Antibiotik antibakteria adalah sebatian-sebatian yang dihasilkan oleh sesuatu mikroorganisma yang dapat merencat atau membunuh sel-sel bakteria. Antibiotik antibakteria digunakan untuk menghalang pertumbuhan sel bakteria, iaitu dengan mengganggu fungsi fisiologi serta morfologinya. Agen-agen yang merencat pertumbuhan sel bakteria dikenali sebagai agen bakteriostat, contohnya kloramfenikol, manakala agen-agen yang membunuh

sel bakteria dikenali sebagai agen bakterisid, contohnya penisilin. Apabila dos atau kepekatan sesuatu agen bakterioostat ditingkatkan, ia boleh bertindak sebagai agen bakterisid. Sesetengah agen bakterisid boleh bertindak terhadap endospora rehat tetapi agen bakterioostat tidak memberi kesan terhadap endospora rehat tersebut (McClane & Mietzner, 1999).

2.3.1.1 Pengelasan antibiotik antibakteria

Secara amnya, pengelasan antibiotik antibakteria dilakukan berdasarkan struktur kimia dan juga tapak sasarannya. Jadual 2.1 menunjukkan pengelasan antibiotik yang dilakukan berdasarkan struktur kimia.

2.3.1.2 Mekanisme tindakan antibiotik antibakteria

Sasaran tindakan antibakteria yang penting adalah dinding sel, membran sel, proses biosintesis protein, dan sintesis asid nukleik. Beberapa agen antibakteria pula dapat bertindak kerana agen ini menyamai faktor yang penting bagi pertumbuhan mikroorganisma patogen, yang diperlukan dalam metabolisme sel bakteria tersebut (Garrod *et al.*, 1981). Mekanisme tindakan antibiotik antibakteria terbahagi kepada beberapa kategori iaitu:

1. Perencatan sintesis dinding sel

Dinding sel bakteria terdiri daripada rantai polisakarida yang dirangkai bersilang dengan rantai peptida dalam satu konfigurasi yang dikenali sebagai

Jadual 2.1: Pengelasan antibiotik antibakteria

Kumpulan	Contoh
Antibiotik antibakteria β -laktam	Penisilin; kloksasilin; ampisilin; sefalosporin
Makrolida	Erithromisin
Aminoglikosida	Gentamisin; kanamisin; amikasin
Tektrasiklin	Tetrasiklin; deoksisiklin; minosiklin
Polipeptida	Vankomisin
Sulfonamida	Sulfadiazin, trimetoprim
Linkosamida	Linkomisin; klindamisin
Fluorokuinolon	Enrofloksasin
Lain-lain	Kloramfenikol Nitrofurantoin Isoniazid