

**KAJIAN KE ATAS AKTIVITI ANTIMIKROB EKSTRAK
TUMBUHAN *PHYLLANTHUS NIRURI* (L) DAN
WEDELIA CHINENSIS (OSBECK) MERR.**

oleh

NITHIANANTHAM KUPPAN

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

MAC 2005

'Muktikku Vittaagum Monamozhi Payilvaanei

Ettikkum Yetthum Inithey'

The whole world praises the glories of the ONE

who intones the language of Deep Silence

that leads all towards Mukti – Arut Kural

Limpahan kurnia Tuhan seluruh semesta yang Maha berkuasa dan dipuji sejak zaman berzaman oleh semua insan sebagai Shiva, Allah dan Jehowah telah membolehkan saya menyiapkan penyelidikan ini sungguhpun proses pengkajian dan pencarian rohaniah masih berterusan. Alhamdulillah! Saya mengambil kesempatan ini merakamkan jutaan terima kasih dan setinggi-tinggi penghargaan buat penyelia saya, Professor Madya Dr. Darah Ibrahim yang memahami dan telah banyak bersabar memberikan tunjuk ajar, bantuan, dorongan serta sokongan kepada saya sepanjang tempoh penyelidikan ini dijalankan. Tidak lupa juga kepada Puan Siti Nurdijati Baharuddin yang membantu dalam proses pengecaman tumbuhan. Jutaan terima kasih juga ditujukan kepada Dr. Tengku Sifzizul yang memberi nasihat dan membenarkan saya menggunakan pelbagai peralatan dan radas ujikaji di makmalnya.

Ucapan terima kasih juga kepada pihak Universiti Sains Malaysia yang bertanggungjawab membiayai pengajian saya. Penghargaan ini turut ditujukan kepada pihak Institut Pengajian Siswazah, Universiti Sains Malaysia serta kakitangann Pusat Pengajian Sains Kajihayat termasuk kakitangan Unit Mikroskop Elektron yang banyak membantu dan memberikan layanan mesra sepanjang tempoh saya bergelar siswa. Tidak lupa juga kepada Cik Diljit Kaur yang banyak memberi nasihat dan semangat sewaktu saya lemah.

saya telah mempunyai penghargaan ini buat Amma dan Appa terima yang banyak berkorban, bersabar, membiayai dan memberi sokongan yang tidak berbelah bagi. Terima kasih di atas doa dan kasih sayang anda. Tidak lupa juga kepada adik beradik Lonthambi, Kogilam dan Thambi yang sentiasa berada di sisi memberi dorongan ketika saya dalam kealpaan. Terima kasih juga buat semua teman seperjuangan di Makmal Fermentasi dan Teknologi Enzim, FETL yang sentiasa bersedia menghulurkan bantuan dan tunjuk ajar kepada saya sepanjang penyelidikan ini khasnya Abang Sasi, Kak Suraya, Kak Sumathi, Ida, Bal, Leong, Effa dan Zila.

Terima kasih yang khusus buat junior saya Yogeswaran yang membenarkan saya menggunakan komputernya untuk menjilid tesis ini serta Vijay dan Wendy Rusli atas persahabatan yang membina. Tidak lupa juga kepada 'room-mate' saya Mudassir Anwar dan semua siawa siswi India USM yang menceriakan saki-baki hidup saya di kampus.

Jasa anda semua akan ku semat di sanubari dan akan ku ingat di dalam doa.

Anbe Sivam

Hamba bagi semua Hamba Allah,

NITHIANANTHAM KUPPAN

MAC 2005

PENGHARGAAN	iii
KANDUNGAN	v
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xiv
SENARAI GAMBAR FOTO	xvi
ABSTRAK	xx
ABSTRACT	xxii
BAB 1.0 PENGENALAN	1
1.1 Pendahuluan	1
1.2 Apa Itu Ayurveda?	7
1.3 Mikroorganisma Patogen.....	9
1.3.1 Definisi, ciri-ciri umum dan klasifikasi mikroorganisma.....	9
1.3.2 Bakteria.....	10
1.3.2.1 Bakteria patogen.....	12
1.3.2.2 Ciri-ciri jangkitan penyakit yang disebabkan oleh beberapa bakteria patogen.....	15
1.3.3 Kulat.....	21
1.3.3.1 Kulat patogen.....	27
1.3.3.2 Penyakit yang disebabkan oleh kulat patogen.....	28
1.3.4 Agen antimikrob bagi penyakit-penyakit berjangkit.....	33
1.4 Kimoterapi Antimikrob.....	37
1.4.1 Sifat kimia drug dan masalah yang timbul.....	39
1.4.2 Reaksi hipersensitiviti.....	40
1.4.3 Kesan sampingan.....	40

1.5	Penggunaan Sebatian Semulajadi Daripada Tumbuhan Dalam Rawatan Penyakit.....	46
1.5.1	Kelebihan dan Keburukan Penggunaan Tumbuhan Sebagai Sumber Ubatan.....	47
1.5.2	Sebatian Daripada Tumbuhan Dan Kegunaannya.....	48
1.5.3	Latar Belakang Kajian Antimikrob Daripada Sumber Tumbuhan.....	52
1.6	Objektif Penyelidikan.....	55
BAB 2.0 BAHAN DAN KAEDAH		57
2.1	Pengumpulan dan Penyediaan Sampel	57
2.1.1	Pengumpulan Sampel	57
2.1.2	Penyediaan Sampel	57
2.2	Aktiviti antimikrob ekstrak tumbuhan tempatan terhadap mikroorganisma patogen	61
2.2.1	Penyediaan Ekstrak Tumbuhan Menggunakan Pelarut Etanol Dan Air Suling	61
2.2.2	Penyediaan mikroorganisma ujian	65
2.2.3	Penentuan Kerentanan Patogen Terhadap Ekstrak Kasar Etanol Dan Akuas	67
2.2.4	Penyediaan Bahan Ekstrak Menggunakan Pelarut Metanol	68
2.2.5	Penentuan Kerentanan Patogen Terhadap Ekstrak Kasar Etanol	69
2.2.6	Penyediaan Bahan Ekstrak Menggunakan Pelarut Heksana	69
2.2.7	Penentuan Kerentanan Patogen Terhadap Ekstrak Kasar Heksana ..	72
2.2.8	Penentuan Kepekatan Perencatan Minimum (MIC)	72
2.2.9	Penentuan Kepekatan Bakterisid Minimum (MBC)	74

Morfologi Patogen	74
2.3.1 Kesan Ekstrak Ke Atas Profil Pertumbuhan Patogen	75
2.3.1.1 Kesan Ekstrak Ke Atas Profil Pertumbuhan Patogen Dengan Nilai Kepekatan Ekstrak <MIC, MIC dan >MIC.....	75
2.3.1.2 Kesan Penambahan Ekstrak Ke Atas Profil Pertumbuhan Patogen Dengan Kepekatan Ekstrak Pada Nilai MIC Pada Tempoh Pengeraman Tertentu.....	78
2.3.2 Kesan Ke Atas Struktur Sel Patogen.....	81
2.3.2.1 Pengamatan Kesan Ke Atas Pendegenerasian Struktur Sel Patogen Oleh Ekstrak Dengan Mikroskop Beza Fasa.....	81
2.3.2.2 Pengamatan Kesan Ke Atas Pendegenerasian Struktur Sel Patogen Oleh Ekstrak Dengan Mikroskop Elektron Penskakan (SEM)	81
2.3.2.3 Pengamatan Kesan Ke Atas Pendegenerasian Struktur Sel Patogen Oleh Ekstrak Dengan Mikroskop Elektron Transmisi (TEM)	82
2.4 Aktiviti Antimikrob Daripada Fraksi-fraksi Ekstrak Terhadap Patogen	83
2.4.1 Penyisihan Ekstrak Kepada Fraksi-Fraksi	83
2.4.2 Penentuan Kerentanan Patogen Terhadap Fraksi-Fraksi Ekstrak	85
2.5 Keselamatan Penggunaan Ekstrak Sebagai Agen Terapi	85
2.5.1 Ujian Kesan Kesitotoksikan Ekstrak Dengan Menggunakan Anak Udang Brin (BSLT)	85
BAB 3.0 KEPUTUSAN	87
3.1 Penyaringan Aktiviti Antimikrob Ekstrak Kasar Tumbuhan Terhadap	

3.2	Penyaringan Aktiviti Antimikrob Ekstrak Kasar Metanol Tumbuhan Terhadap Mikroorganisma Patogen	94
3.3	Penyaringan Aktiviti Antimikrob Ekstrak Kasar Heksana Tumbuhan Terhadap Mikroorganisma Patogen.....	98
3.4	Penentuan Kepekatan Perencatan Minimum (MIC)	103
3.5	Penentuan Kepekatan Bakterisid Minimum (MBC)	110
3.6	Kesan antimikrob Ekstrak Ke Atas Profil Pertumbuhan Patogen Dengan Nilai Kepekatan Ekstrak <MIC, MIC dan >MIC	117
3.7	Kesan Penambahan Ekstrak Ke Atas Profil Pertumbuhan Patogen Dengan Kepekatan Ekstrak Pada Nilai MIC Pada Tempoh Pengeraman Tertentu	133
3.8	Perubahan Struktur dan Morfologi Mikroorganisma Ujian Selepas Rawatan Ekstrak Metanol <i>W. chinensis</i>	141
3.8.1	Pengamatan Menggunakan Mikroskop Beza Fasa	142
3.8.1.1	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>B. cereus</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	142
3.8.1.2	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>S. aureus</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	145
3.8.1.3	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>C. albicans</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	150
3.8.1.4	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>S. cerevisiae</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	154
3.8.2	Pengamatan Menggunakan Mikroskop Elektron Pensakanan (SEM)	161
3.8.2.1	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>B. cereus</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	161
3.8.2.2	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>C. albicans</i> setelah	

	dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	160
3.8.3	Pengamatan Menggunakan Mikroskop Elektron Transmisi (TEM)	175
3.8.3.1	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>B. cereus</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	175
3.8.3.2	Perubahan morfologi dan struktur sel <i>C. albicans</i> setelah dirawat dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i>	179
3.9	Aktiviti Antimikrob Daripada Fraksi Ekstrak Tumbuhan <i>Wedelia chinensis</i> dan <i>Phyllanthus niruri</i>	185
3.9.1	Hasil Penyisihan Ekstrak Kepada Fraksi-Fraksi	185
3.9.2	Kesan Antimikrob Fraksi-Fraksi Yang Dihasilkan Oleh Pelarut	193
3.9.3	Pengecaman Dan Perbandingan Sebatian-Sebatian Yang Hadir Dalam Ekstrak Terpilih	196
3.10	Ujian Kesitotoksikan Ekstrak Dengan Menggunakan anak Udang Brin (BSLT)	198
BAB 4.0	PERBINCANGAN	202
4.1	Pengekstrakan	202
4.2	Penyaringan Aktiviti Antimikrob Ekstrak kasar Tumbuhan Terhadap Mikroorganisma Patogen	206
4.3	Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) dan Kepekatan Bakterisid Minimum (MBC)	212
4.4	Aktiviti Ekstrak Ke Atas Pertumbuhan Patogen	219
4.5	Perubahan Struktur dan morfologi Patogen Selepas Didedahkan Kepada Ekstrak	225
4.6	Penentuan Aktiviti Antimikrob Daripada Fraksi-Fraksi Ekstrak Tumbuhan Terhadap Patogen	233
4.7	Kesan Kesitotoksikan Ekstrak Tumbuhan	239

BAB 3.0 KESIMPULAN DAN CADANGAN	242
RUJUKAN	245
LAMPIRAN	271

Jadual 1.1	:	Bilangan Spesies Tumbuhan Yang Telah Dikaji Secara Fitokimia Dan Sekurang-kurangnya Satu Jenis Aktiviti Biologi, Seperti Pada Disember 1995, Pangkalan Data Napralert	6
Jadual 1.2	:	Beberapa kesan eksotoksin bakteria	13
Jadual 1.3	:	Beberapa bakteria patogen yang penting dan penyakit yang boleh disebabkan olehnya	14
Jadual 1.4	:	Beberapa penyakit yang disebabkan oleh kulat	30
Jadual 1.5	:	Ciri-ciri infeksi oleh beberapa dermatofit	35
Jadual 1.6	:	Mekanisme tindakan agen kemoterapi antimikrob	38
Jadual 1.7	:	Mekanisme kerintangan antibiotik pada <i>K. pneumoniae</i>	45
Jadual 2.1	:	Bahagian-bahagian sampel tumbuhan yang diasingkan	60
Jadual 2.2	:	Senarai spesies mikroorganisma patogen yang diuji untuk menentukan kerentanan patogen terhadap ekstrak kasar	66
Jadual 2.3	:	Ringkasan pengekstrakan yang dilakukan dengan menggunakan pelarut akuas dan tiga pelarut organik pada bahagian tertentu sampel tumbuhan	71
Jadual 2.4	:	Patogen dan ekstrak yang terpilih untuk ujian penentuan kepekatan perencatan minimum (MIC)	73
Jadual 2.5	:	Kepekatan Ekstrak Yang Digunakan Dengan Nilai <MIC, MIC Dan >MIC Untuk Ujian Profil Pertumbuhan Bakteria Patogen Yang Diuji	76
Jadual 2.6	:	Kepekatan Ekstrak Yang Digunakan Dengan Nilai <MIC, MIC Dan >MIC Untuk Ujian Profil Pertumbuhan Yis Yang Diuji	77
Jadual 2.7	:	Kepekatan ekstrak yang digunakan pada nilai MIC untuk ujian profil pertumbuhan bakteria patogen yang diuji pada tempoh penderaman tertentu	79
Jadual 2.8	:	Kepekatan ekstrak yang digunakan pada nilai MIC untuk ujian profil pertumbuhan yis yang diuji pada tempoh penderaman tertentu	80
Jadual 2.9	:	Senarai pelarut-pelarut serta nisbah yang digunakan dalam sistem pelarut yang digunakan untuk penyisihan ekstrak kepada fraksi-fraksi	84

Jadual 3.1	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol beberapa bahagian tumbuhan terhadap mikroorganisma patogen ujian	88
Jadual 3.2	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh ekstrak akuas beberapa bahagian tumbuhan terhadap mikroorganisma patogen ujian	89
Jadual 3.3	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh kawalan ujian terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Candida albicans</i>	93
Jadual 3.4	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh ekstrak metanol beberapa bahagian tumbuhan terhadap mikroorganisma patogen ujian	95
Jadual 3.5	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh kawalan ujian terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Candida albicans</i>	99
Jadual 3.6	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh ekstrak heksana beberapa bahagian tiga tumbuhan pilihan terhadap mikroorganisma patogen ujian	101
Jadual 3.7	:	Zon perencatan yang ditunjukkan oleh kawalan ujian terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Candida albicans</i>	102
Jadual 3.8	:	Nilai kepekatan perencatan minimum (MIC) yang ditunjukkan oleh ekstrak daun etanol dan metanol tumbuhan <i>Wedelia chinensis</i>	104
Jadual 3.9	:	Nilai kepekatan perencatan minimum (MIC) yang ditunjukkan oleh ekstrak daun etanol dan metanol tumbuhan <i>Phyllanthus niruri</i>	106
Jadual 3.10	:	Nilai kepekatan perencatan minimum (MIC) yang ditunjukkan oleh ekstrak daun etanol dan metanol tumbuhan <i>Azadirachta indica</i>	108
Jadual 3.11	:	Nilai kepekatan bakterisid minimum (MBC) dan peratusan yang ditunjukkan oleh ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> terhadap mikroorganisma ujian	112
Jadual 3.12	:	Nilai kepekatan bakterisid minimum (MBC) dan peratusan yang ditunjukkan oleh ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> terhadap mikroorganisma ujian	114
Jadual 3.13	:	Nilai kepekatan bakterisid minimum (MBC) dan peratusan yang ditunjukkan oleh ekstrak <i>Azadirachta indica</i> terhadap mikroorganisma ujian	116
Jadual 3.14	:	Bilangan fraksi tersisih yang dapat dihitung di bawah cahaya ultra violet dan selepas direndam (counterstain) dengan 5% asid sulfurik di dalam metanol setelah dipisahkan melalui kromatografi lapisan nipis (TLC)	190

Jadual 4.1 : Lingkungan frekuensi IR yang penting

238

	Muka surat
Rajah 1.2 : Morfologi asas dan klasifikasi klinikal kulat yang mempunyai kepentingan perubatan	26
Rajah 3.1 : Profil Pertumbuhan <i>Bacillus cereus</i> Dalam Ekstrak Etanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	118
Rajah 3.2 : Profil Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Dalam Ekstrak Etanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	120
Rajah 3.3 : Profil Pertumbuhan <i>Bacillus cereus</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	122
Rajah 3.4 : Profil Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Wedelia Chinensis</i> Pada Kepekatan Berbeza	123
Rajah 3.5 : Profil Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	125
Rajah 3.6 : Profil Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Wedelia Chinensis</i> Pada Kepekatan Berbeza	126
Rajah 3.7 : Profil Pertumbuhan <i>Bacillus cereus</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Phyllanthus niruri</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	128
Rajah 3.8 : Profil Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Phyllanthus niruri</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	129
Rajah 3.9 : Profil Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Phyllanthus niruri</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	131
Rajah 3.10 : Profil Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> Dalam Ekstrak Metanol Daun <i>Phyllanthus niruri</i> Pada Kepekatan Yang Berbeza	132
Rajah 3.11 : Kesan Penambahan Ekstrak Etanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekatan MIC Ke Atas Profil Pertumbuhan <i>B. cereus</i> Dan <i>S. cerevisiae</i> Pada Tempoh Pengeraman Tertentu	134

Rajah 3.12	:	Kesan Penambahan Ekstrak Metanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekstan MIC Ke Atas Profil Pertumbuhan <i>B. cereus</i> Dan <i>S. aureus</i> Pada Tempoh Pengeraman Tertentu	136
Rajah 3.13	:	Kesan Penambahan Ekstrak Metanol Daun <i>Wedelia chinensis</i> Pada Kepekstan MIC Ke Atas Profil Pertumbuhan <i>C. albicans</i> Dan <i>S. cerevisiae</i> Pada Tempoh Pengeraman Tertentu	137
Rajah 3.14	:	Kesan Penambahan Ekstrak Metanol Daun <i>Phyllanthus niruri</i> Pada Kepekstan MIC Ke Atas Profil Pertumbuhan <i>B.cereus</i> Dan <i>S. aureus</i> Pada Tempoh Pengeraman Tertentu	139
Rajah 3.15	:	Kesan Penambahan Ekstrak Metanol Daun <i>Phyllanthus niruri</i> Pada Kepekstan MIC Ke Atas Profil Pertumbuhan <i>C. albicans</i> Dan <i>S. cerevisiae</i> Pada Tempoh Pengeraman Tertentu	140
Rajah 3.16	:	Perbandingan nombor gelombang kompaun-kompaun yang hadir dalam ekstrak <i>W. chinensis</i> dan <i>P. niruri</i> dengan menggunakan kaedah 'Fourier Transform Infra Red analysis', FTIR.	197

	Muka surat
Gambar foto 1.1 : Rupa bentuk koloni beberapa bakteria patogen yang ditumbuhkan di atas medium agar nutrien, selepas 24 jam pengeraman secara aerob pada suhu 37°C	16
Gambar foto 1.2 : Beberapa bakteria patogen	17
Gambar foto 1.2 sambungan : Beberapa bakteria patogen	22
Gambar foto 1.3 : Koloni beberapa kulat patogen	31
Gambar foto 1.3 sambungan : Koloni beberapa kulat patogen	34
Gambar foto 2.1 : Spesies tumbuhan yang digunakan	58
Gambar foto 2.2 : Serbuk bahagian-bahagian tertentu sampel tumbuhan yang telah digunakan untuk pengekstrakan	62
Gambar foto 2.3 : Hasil pengekstrakan menggunakan etanol dan air sebagai pelarut	64
Gambar foto 2.4 : Hasil pengekstrakan menggunakan metanol dan heksana sebagai pelarut	70
Gambar foto 3.1 : Zon perencatan ekstrak etanol tumbuhan ke atas patogen	91
Gambar foto 3.2 : Zon perencatan ekstrak metanol tumbuhan ke atas patogen	97
Gambar foto 3.3 : Kepelbagaian morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> kawalan yang normal pada kuasa pembesaran yang berlainan seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	143
Gambar foto 3.4 : Perubahan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas tempoh pengeraman 12 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan di bawah mikroskop beza fasa	144
Gambar foto 3.5 : Perubahan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas tempoh pengeraman 24 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada 100X kuasa pembesaran di bawah mikroskop beza fasa	146
Gambar foto 3.6 : Perubahan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas tempoh pengeraman 36 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran	147

Gambar foto 3.7	:	Kepelbagaian morfologi sel <i>Staphylococcus aureus</i> kawalan yang normal pada kuasa pembesaran yang berlainan seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	148
Gambar foto 3.8	:	Perubahan morfologi sel <i>Staphylococcus aureus</i> selepas tempoh pengeraman 12 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan di bawah mikroskop beza fasa	149
Gambar foto 3.9	:	Perubahan morfologi sel <i>Staphylococcus aureus</i> pada tempoh pengeraman 24 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan di bawah mikroskop beza fasa	151
Gambar foto 3.10	:	Perubahan morfologi sel <i>Staphylococcus aureus</i> pada tempoh pengeraman 36 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan di bawah mikroskop beza fasa	152
Gambar foto 3.11	:	Kepelbagaian morfologi sel <i>Candida albicans</i> kawalan yang normal (tanpa rawatan) pada kuasa pembesaran 100X di bawah mikroskop beza fasa	153
Gambar foto 3.12	:	Perubahan morfologi sel <i>Candida albicans</i> pada tempoh pengeraman 12 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan di bawah mikroskop beza fasa	155
Gambar foto 3.13	:	Perubahan morfologi sel <i>Candida albicans</i> pada tempoh pengeraman 24 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan di bawah mikroskop beza fasa	156
Gambar foto 3.14	:	Perubahan morfologi sel <i>Candida albicans</i> pada tempoh pengeraman 36 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran 40X seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	158
Gambar foto 3.15	:	Kepelbagaian morfologi sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i> kawalan yang normal pada kuasa pembesaran yang berbeza seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	160
Gambar foto 3.16	:	Perubahan morfologi sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada tempoh pengeraman 12 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	162

Gambar foto 3.17	:	Perubahan morfologi sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada tempoh pengeraman 24 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	163
Gambar foto 3.18	:	Perubahan morfologi sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada tempoh pengeraman 36 jam dengan ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> pada kuasa pembesaran yang berlainan seperti yang dilihat di bawah mikroskop beza fasa	164
Gambar foto 3.19	:	Foto mikrograf SEM menunjukkan struktur dan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> kawalan yang normal (tanpa rawatan) pada kuasa pembesaran yang berbeza	165
Gambar foto 3.20	:	Foto mikrograf SEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 12 jam	167
Gambar foto 3.21	:	Foto mikrograf SEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 36 jam	169
Gambar foto 3.22	:	Foto mikrograf SEM menunjukkan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> kawalan yang normal (tanpa rawatan) pada kuasa pembesaran yang berbeza	171
Gambar foto 3.23	:	Foto mikrograf SEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 12 jam	172
Gambar foto 3.24	:	Foto mikrograf SEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 36 jam	173
Gambar foto 3.25	:	Foto mikrograf keratan ultra nipis di bawah TEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan kepelbagaian struktur dan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> kawalan yang normal (tanpa rawatan)	176
Gambar foto 3.26	:	Foto mikrograf keratan ultra nipis di bawah TEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 12 jam	177

Gambar foto 3.27	:	Foto mikrograf keratan ultra nipis di bawah TEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Bacillus cereus</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 36 jam	180
Gambar foto 3.28	:	Foto mikrograf keratan ultra nipis di bawah TEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan kepelbagaian struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> kawalan yang normal (tanpa rawatan)	182
Gambar foto 3.29	:	Foto mikrograf keratan ultra nipis di bawah TEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 12 jam	184
Gambar foto 3.30	:	Foto mikrograf keratan ultra nipis di bawah TEM pada kuasa pembesaran yang berbeza menunjukkan perubahan struktur dan morfologi sel <i>Candida albicans</i> selepas pendedahan kepada ekstrak <i>Wedelia chinensis</i> selama 36 jam	187
Gambarfoto 3.31	:	Hasil-hasil penyisihan ekstrak setelah dibuat Kromatografi Lapisan Nipis	191
Gambarfoto 3.32	:	Hasil penyisihan setelah direndam (counterstain) dengan 5% asid sulfurik di dalam metanol	192
Gambar foto 3.33	:	Kesan antimikrob fraksi-fraksi ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> terhadap <i>B. cereus</i>	194
Gambar foto 3.34	:	Kesan antimikrob fraksi-fraksi ekstrak metanol daun <i>Wedelia chinensis</i> terhadap <i>C. albicans</i>	195
Gambar foto 3.35	:	<i>Artemia salina</i>	200

KAJIAN KE ATAS AKTIVITI ANTIMIKROB EKSTRAK TUMBUHAN

PHYLLANTHUS NIRURI (L) DAN *WEDELIA CHINENSIS* (OSBECK) MERR.

ABSTRAK

Penyelidikan ini bertujuan untuk mengkaji aktiviti antimikrob daripada pelbagai spesies tumbuhan tempatan. Dalam kajian ini, 8 spesies tumbuhan telah diekstrakkan dengan menggunakan pelarut organik etanol, metanol, heksana serta air. Kesemua ekstrak ini dirawat ke atas 22 spesies mikroorganisma patogen iaitu 10 spesies bakteria, 3 yis dan 9 kulat. Ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis* memberikan kesan perencatan aktiviti antibakteria (*Bacillus cereus*) dan anti yis (*Candida albicans*) yang terbaik dan turut mencatatkan nilai MIC, 3.12 mg/ml dan 12.50 mg/ml, masing-masing. Ekstrak ini juga menunjukkan nilai MBC terendah terhadap *Bacillus cereus* (6.25 mg/ml) dan *Candida albicans* (25.00 mg/ml) berbanding tumbuhan lain.

Penelitian ke atas profil pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Candida albicans* yang mengalami pendedahan kepada beberapa siri kepekatan ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis*, mendapati bahawa pertumbuhan sel patogen mengalami perencatan sepenuhnya apabila kepekatan ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis* melebihi 3.12 mg/ml (bagi *B. cereus*) dan 12.50 mg/ml (bagi *C. albicans*) digunakan. Keputusan ini disokong oleh hasil pengamatan yang dilakukan ke atas patogen tersebut melalui mikroskop beza fasa, SEM dan TEM yang menunjukkan perubahan struktur dan morfologi pada sel patogen terbabit. Keputusan kajian ini juga mencadangkan bahawa

agen antibakteria dan antikandida yang hadir dalam ekstrak tumbuhan *Wedelia chinensis* bertindak ke atas fungsi membran sel dan proses biosintesis dinding sel yang seterusnya menyebabkan pembentukan sitopatologi dan keruntuhan struktur membran dan akhirnya menyebabkan nekrosis, lisis dan kematian sel. Ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis* memberikan keputusan nilai kepekatan maut 50 (LC₅₀) pada 0.36 mg/ml berbanding ekstrak metanol daun *Phyllanthus niruri* 0.13 mg/ml di dalam ujian ketoksikan anak udang brin (*Artemia salina*) yang dilakukan.

Hasil pemisahan komponen-komponen sisihan daripada ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis* menggunakan kromatografi lapisan nipis mendapati bahawa daripada 12 pelarut yang digunakan, hanya dua pelarut mampu memisahkan ekstrak kepada fraksi yang dapat merencat *B. cereus* dan fraksi yang disisih oleh 3 pelarut lain lagi merencat *C. albicans*. Memandangkan pembentukan saiz diameter zon perencatan dalam ujian penyaringan yang diperolehi daripada komponen sisihan berbeza daripada ekstrak kasar metanol *Wedelia chinensis* sendiri, maka diandaikan bahawa ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis* memberikan kesan perencatan maksimum hanya apabila semua sebatian bioaktif hadir bersama dan bertindak secara sinergistik. Daripada kajian ini dapat disimpulkan bahawa ekstrak metanol daun *Wedelia chinensis* bertindak dengan lebih baik sebagai agen antimikrob jika dibandingkan dengan ekstrak metanol daun *Phyllanthus niruri*.

A STUDY ON THE ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF EXTRACT FROM
PHYLLANTHUS NIRURI (L) AND
WEDELIA CHINENSIS (OSBECK) MERR.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the antimicrobial activity from various species of local plants. In this research 8 species of plants were extracted by organic solvents i.e ethanol, methanol, hexane and water. All of the crude extracts obtained were treated on 22 species of pathogens i.e 10 species of bacteria, 3 yeasts and 9 pathogenic fungi. The methanol leaf extract of *Wedelia chinensis* showed the best antibacterial (*B. cereus*) and antiyeast (*C. albicans*) activities by giving MIC value of 3.12 mg/ml and 6.25 mg/ml for *B. cereus* and *C. albicans*, respectively, compared to other plant extracts.

Observation on the growth profile of *B. cereus* and *C. albicans* exposed to a certain concentration of extract showed that the growth of the pathogenic cell experienced full inhibition when more than 3.12 mg/ml (for *B. cereus*) and 12.50 mg/ml (for *C. albicans*) of methanol extract from *W. chinensis* were used. This finding was supported by phase contrast microscope, SEM and TEM micrographs that showed various changes occurring on the structure and morphology of the extract-treated pathogenic cells. The results suggested that the antibacterial and anticandidal agents interfered in the permeability of the cell membrane and cell wall biosynthesis which subsequently lead to the formation of

cytopathological and membrane structural degeneration, and finally leading to necrosis, lysis and cell death. Cytotoxicity test of the extract from *W. chinensis* against brine shrimps (*Artemia salina*) showed that the significant value of lethality concentration of 50 (LC₅₀) was 0.36 mg/ml compared to 0.13 mg/ml for methanol extract of *Phyllanthus niruri*.

Isolation of compounds from the methanol extract of *W. chinensis* by 12 different solvents, using a thin layer chromatography showed that compounds isolated by only two solvents were able to inhibit *B. cereus* and fractions by three other solvents successfully inhibited *C. albicans*. The difference in the inhibition zone sizes formed by the isolated component and the crude extract itself suggested that the extract showed a maximum inhibition when all the bioactive compounds were together, hence generated synergistic effects against the tested pathogen. From this study, it can be concluded that the methanol extract from the leaves of *Wedelia chinensis* acted better as an antimicrobial agent compared to methanol leaf extract of *Phyllanthus niruri*.

1.1 PENDAHULUAN

Sejak dahulu kala lagi tumbuh-tumbuhan telah lama menjadi bahan asas utama untuk merawat pelbagai jenis penyakit. Sejak awal zaman evolusi manusia lagi tumbuh-tumbuhan telah membekalkan kita dengan pelbagai penawar. Tulisan-tulisan awal dari Babilonia kuno, Mesir, China dan India mengandungi rujukan kepada herba-herba penawar sekaligus menunjukkan asal-usul prasejarah yang menggunakan tumbuhan sebagai ubat.

Sekiranya sejarah manusia diselidiki, didapati bahawa kesan ubat-ubatan yang dihasilkan daripada tumbuh-tumbuhan adalah mengagumkan. Opium, akar ular (snake root), *digitalis*, *feverbark*, kesemuanya telah meninggalkan impak dalam kehidupan manusia. Hipocrates yang dikenali sebagai bapa perubatan sekitar tahun 400 S.M telah memulakan kajian dan membuat laporan yang sistematik terhadap penggunaan tumbuhan sebagai sumber ubatan. Beliau telah menyenaraikan resepi di dalam *Materia Medica* untuk merawat sebanyak 400 jenis penyakit dengan menggunakan tumbuhan (Fasihuddin & Hasmah, 1993). Hakikatnya, tumbuh-tumbuhan perubatan (yang sudah dan belum diketahui) adalah merupakan asas bagi perubatan manusia pada masa akan datang. Sebelum manusia belajar mensintesis sebatian-sebatian ubatan di dalam makmal, sebanyak 80% bahan yang digunakan untuk merawat penyakit adalah yang berasal daripada tumbuhan ubatan (Judith, 2001). Pada masa sekarang, lebih kurang 40% daripada preskripsi perubatan di Amerika Syarikat mengandungi sekurang-kurangnya bahan daripada satu jenis

tumbuhan. Rami alim perubatan Eropah berulangkali mengesyorkan herba untuk pesakit-pesakit mereka (Judith, 2001).

Di dalam habitat semulajadi, tumbuh-tumbuhan telah 'belajar' dalam konteks evolusi untuk menghasilkan stor menyimpan bahan-bahan kimia kompleks yang boleh kita eksploitasi. Kita boleh gunakan ubat-ubatan ini untuk menghalang dan merawat pelbagai jenis penyakit; suatu kebetulan yang mengkagumkan bagi manusia sejagat. Doktor-doktor terdahulu adalah merupakan pengumpul-pengumpul tumbuhan iaitu, manusia awal dengan ilmu tentang botani secara praktikal. Ilmu awal tentang perubatan tumbuhan tidak syak lagi telah merebak secara meluas dan sebahagian daripadanya ialah tradisi secara lisan dan diturunkan daripada satu generasi perawat kepada generasi seterusnya.

Rekod bertulis yang diketahui tentang botani tumbuhan bermula lebih kurang 6000 tahun dahulu (Judith, 2001). Beberapa papan tanah liat Sumeria yang dicarigali di Nippur mempunyai senarai perawatan botani dalam bentuk kuniform. Selain daripada ilmu matematik dan sains, orang Sumeria, Assyria dan Babilonia mengaitkan penyakit kepada agen-agen supernatural dan mengutamakan peranan bomoh untuk merawatnya. Pengamalan perubatan herba dibiarkan kepada pakar-pakar dan golongan terpelajar. Raja Assyria yang terpelajar iaitu Ashurbanipal telah meninggalkan rekod tentang 300 tumbuhan ubatan termasuk opium dan myrrh.

Masyarakat Mesir purba menyenaraikan lebih 850 ubatan tumbuhan dan perawatan di dalam Ebers Papyrus, sebuah skrol perubatan dengan panjang 70 kaki yang dijual kepada George Ebers oleh seorang Arab pada awal tahun 1870-an. Skrol tersebut

bertarikh pada permulaan 1500 SM (Judith, 2001). Bawang putih dipercayai boleh menghalau ular dan menghalang cacing pita. Buah beri Juniper dari Lebanon dibalut bersama mumia dan digunakan dalam upacara penyucian mayat. Hamba-hamba yang membina piramid diberi makan bawang merah dan bawang putih untuk menghalang infeksi sementara kerabat diraja pula memiliki koleksi perubatan herba, pewangi dan bahan-bahan kosmetik sewaktu mereka hidup mahupun sewaktu mereka dalam perjalanan selepas kematian.

Maharaja China Shen Nung yang memerintah lebih kurang 3000 tahun dahulu telah menghasilkan karya pertama tentang tumbuhan herba, Buku baginda yang bernama Pen Tsa'o Ching mengandungi lukisan dan pencirian tumbuhan, pengumpulan, penyediaan dan kegunaan tumbuhan perubatan. Baginda telah mencirikan sebanyak 365 jenis tumbuhan ubatan yang telah digunakan pada tamadun China Kuno termasuk yang masih digunakan sehingga ke hari ini, seperti opium, ginseng, efendra dan chaulmoogra (Anthony, 1992). Menurut Duke & Ayensu (1985), sekurang-kurangnya 1000 spesies tumbuhan telah dikenalpasti di Negara China yang digunakan sebagai sumber ubatan.

Bertarikh lebih daripada 3500 tahun dahulu, perubatan India mempunyai sejarah yang awal. Ilmu ini diturunkan dalam bentuk puisi-puisi suci atau Vedas. Sistem ini dikenali sebagai Ayurveda. Antara penulisan Sanskrit awal bermula dari tahun 1500 SM. Rig Veda merupakan puisi yang mencirikan informasi perubatan. Rig Veda membekalkan asas bagi sistem perubatan Ayurvedik yang masih lagi dipraktikkan dalam kalangan komuniti India. Ia menyenaraikan lebih daripada 1500 ubatan yang dihasilkan daripada tumbuh-tumbuhan. Ayurveda masih dipraktikkan di berpuluh ribu

kinik di India. Ia mengandungi lebih 8000 perawatan herba (Anthony, 1992) dan sebanyak 45,000 spesies tumbuhan ubatan telah dikenalpasti (Jain, 1994).

Pada tahun 1780-an suatu kajian dilakukan oleh Scheele terhadap asid organik tumbuhan (Sneader, 1985). Ia merupakan permulaan kepada suatu pencarian yang diasaskan oleh Paracelsus pada tahun 1524 yang menyentuh mengenai Arcanum di dalam *Archidoxa* di mana ia merujuk kepada pencarian 'bahan suci' dalam merawat penyakit (Pacher, 1951; Cordell, 2000). Penemuan kuinina daripada pokok Cinchona pada abad ke 19 oleh saintis berbangsa Perancis, Caventou & Pelletier adalah merupakan perintis dalam memencilkan bahan aktif (hasilan semula jadi/metabolit sekunder) daripada tumbuhan (Phillipson, 2000). Pada akhir abad ke 19, modifikasi terhadap bahan aktif telah dilakukan dengan tujuan meningkatkan aktiviti atau selektiviti serta mengurangkan kesan sampingan atau kesan ketoksikan (Sneader, 1985). Contoh klasik hasil modifikasi kimia ialah aspirin yang telah digunakan lebih daripada 100 tahun sebagai entiti komersial (Reisch, 1997).

Adalah dianggarkan terdapat 500,000 jenis tumbuhan di muka bumi ini. Hanya 5000 sahaja yang dikaji untuk unsur-unsur perubatan. Sebanyak 25% daripada ubatan moden didapati mengandungi bahan yang berasal daripada tumbuhan dan ada di antaranya yang telah dijadikan agen terapeutik (Heble & Chanda 1985). Pada tahun 1985, penyelidikan produk asli telah menemui sebanyak 3,500 struktur kimia dan 2,600 daripadanya adalah daripada tumbuhan peringkat tinggi (Evans, 1996). Pada tahun 1988 pula pangkalan NAPRALERT didapati mengandungi lebih 88,000 sebatian metabolit sekunder daripada tumbuhan dan setiap tahun, sebanyak 4,000 sebatian baru dilaporkan (Jadual 1.1; Farnsworth, 2000). Kebanyakan tumbuhan yang

dikaji hanya untuk mendapatkan sebatian tertentu sahaja. Ekstrapolasi daripada jumlah tumbuhan yang dikaji dengan bilangan sebatian yang diketahui menunjukkan bahawa, daripada semua sepsies tumbuhan yang dikaji, sekurang-kurangnya terdapat satu ribu sebatian yang berbeza yang dapat diasingkan (Verpoorte, 1998).

Menurut Farnsworth *et al.* (1985), Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO) menganggarkan sebanyak lebih 75% daripada populasi dunia masih bergantung kepada ubatan berasaskan tumbuhan untuk keperluan asas kesihatan. Walau bagaimanapun, terdapat kurang daripada 10% daripada 400,000 hingga 750,000 spesies telah dikaji secara saintifik untuk aktiviti farmakologinya (Farnsworth, 1976). Banyak kajian giat dijalankan kini seperti pencarian agen antimikrob baru (Apisariyakul *et al.*, 1995), pengasingan dan pengenalpastian bahan aktif yang memberi kesan antimikrob (Gupta *et al.*, 1976; Roth *et al.*, 1998) dan kajian mekanisme kesan antimikrob (Dahl *et al.*, 1989).

Negara Malaysia merupakan antara negara yang mempunyai paling banyak tumbuhan herba di dunia kerana mempunyai sekitar 13,000 tumbuhan ubatan yang dikenalpasti (Sharifah Anisah, 1996) termasuk banyak tumbuhan yang dicirikan dalam Ayurveda. Oleh itu Malaysia juga tidak ketinggalan dalam usaha pencarian tumbuhan yang mempunyai komponen antimikrob, antitumor, antikanser dan anti penyakit yang lain, baik dari segi tradisional mahupun moden.

Jadual 1.1 Bilangan Spesies Tumbuhan Yang Telah Dikaji Secara Fitokimia Dan Sekurang-kurangnya Satu Jenis Aktiviti Biologi, Seperti Pada Disember 1995, Pangkalan Data Napralert.

[Sumber : Farnsworth, (2000)]

Tumbuhan	Aktiviti Biologi	Fitokimia
Monokot	1,283	3,721
Dikot	11,924	31,126
Gimnosperma	239	632
Pteridofita	349	961
Briofita	39	457
Liken	118	625

Ayurveda bermaksud sains kehidupan. Ia telah dipraktikkan lebih daripada 3000 tahun dahulu dan sejarahnya boleh dibahagikan kepada empat zaman.

1. Zaman Vedik.
2. Zaman penyelidikan dan klasik.
3. Zaman penumpulan kaedah ayurvedik dan zaman Rasa Tantras dan Siddhas (ahli kimia dan ahli fizik).
4. Zaman pemberhentian sementara dan pengaturan lanjutan.

Ayurveda berakar umbi dalam latarbelakang tatacara sosial, budaya dan falsafah yang kaya sekaligus tersebar di serata India di antara 600 S.M hingga 700 M. Pakar-pakar Ayurveda sangat dipengaruhi oleh falsafah zaman tersebut termasuk yoga. Perubahan tradisional jenis ini berada pada puncak kegemilangannya semasa zaman klasik dan zaman rasa tantras dan siddhas (Udupa, 1975).

Pada permulaan era Kristian, Ayurveda telah tersebar menyeberangi benua India dan ia juga telah mempengaruhi sistem-sistem perubatan Mesir, Greece, Rome dan Arabia. Kehadiran pemerintah-pemerintah Islam di India telah membawa masuk sistem perubatan Yunani dan Arab di mana kedua-dua sistem perubatan tersebut telah mula digunakan di India. Ayurveda menganggap manusia sebagai 'miniature' alam semesta dan semua unsur yang boleh didapati di alam semesta ini juga dipercayai hadir di dalam badan manusia. Begitu juga dengan semua unsur yang hadir di dalam badan manusia boleh dijumpai di dalam alam semesta. Maka, manusia ialah suatu 'microcosm' dalam 'makrocsm'.

air, api, udara dan 'ether'. Elemen-elemen yang sama sudah pasti wujud sebagai elemen asas badan manusia. Adalah dikatakan bahawa bersama kelima-lima elemen ini, kehidupan bergantung pada kehadiran organ-organ deria, minda dan roh yang berfungsi secara normal. Oleh itu, seseorang manusia yang sihat didefinisikan sebagai seseorang yang memiliki badan yang seimbang dengan 'humour-humour' badan, elemen-elemen badan yang berfungsi dengan betul serta seseorang yang mempunyai minda, roh dan organ-organ badan yang baik dan mampu menggunakannya untuk tujuan-tujuan yang baik dan membahagiakan. Oleh itu, dalam perubatan Ayurvedik, manusia yang hidup ialah suatu kombinasi yang seimbang antara tiga 'humour', tujuh jenis tisu asas dan tiga jenis rembesan.

Ketiga-tiga 'humour' Ayurvedik ialah vata, pitha dan kapha atau dalam bahasa moden dikenali sebagai 'neurotransmitter acetylcoline', 'catecholamine' dan histamin masing-masing. Menurut Ayurveda, semua fungsi badan dan strukturnya dikawal oleh tiga neurotransmitter tersebut dan apabila keseimbangannya teranjak, seseorang individu itu jatuh sakit. Jika takrifan Ayurveda dibandingkan dengan definasi yang diberi oleh World Health Organization (WHO) akan didapati kedua-dua takrifan tentang kesihatan membawa maksud yang sama. WHO mentakrifkan 'kesihatan' sebagai suatu keadaan yang sempurna dari segi fizikal, sosial dan kerohanian dan bukan hanya sekadar ketiadaan penyakit atau luka (Pahlow, 1982).

1.3.1 Definisi , Ciri-Ciri Umum Dan Klasifikasi Mikroorganisma

Mikroorganisma ialah organisma seni seperti bakteria, virus, kulat, yis, riketsia dan protozoa. Mikroorganisma yang membawa kemudaran dikenali sebagai mikroorganisma patogen. Mengikut Dorland's Medical Pocket Dictionary, (1995) mikroorganisma patogen ditakrifkan sebagai organisma seni yang mempunyai kepentingan perubatan. Bakteria, kulat dan alga termasuk dalam Alam/Kingdom tumbuhan manakala protozoa atau dikenali sebagai haiwan primitif termasuk ke dalam Kingdom haiwan. Terdapat beberapa mikroorganisma yang sukar dikenalpasti sama ada ianya protozoa (haiwan) ataupun alga (tumbuhan). Mikroorganisma unisel sebegini diletakkan dalam satu lagi kingdom yang dikenali sebagai Kingdom Protista. Pada tahun 1868, Haeckel mencadangkan kingdom baru ini kepada dunia sains (Frobisher & Fuerst, 1973). Mikroorganisma atau agen yang berkebolehan menyebabkan penyakit dikenali sebagai patogen (Dorland's Medical Pocket Dictionary, 1995). Oleh itu, kepatogenan ialah kebolehan atau keupayaan sesuatu mikroorganisma untuk memasuki perumah dan menyebabkan penyakit. Darjah kepatogenan sesuatu mikroorganisma bergantung kepada penembusan dan/atau kebolehan menghasilkan racun atau toksin (Cheesbrough, 1984).

Berikut adalah ciri-ciri am yang mesti ada pada sesuatu patogen:

- 1) Mikroorganisma patogen mesti berkeupayaan untuk memasuki badan perumah untuk menyebabkan penyakit (selain kes tertentu seperti botulisme yang disebabkan oleh pengingesian toksin bakteria oleh pesakit).
- 2) Patogen mesti berkeupayaan untuk berganda di dalam tisu perumah.

- 3) Patogen mesti berupaya merosakkan tisu perumah.
- 4) Patogen mesti berkeupayaan untuk rintang dan dapat mengatasi mekanisme pertahanan perumah (Duerden *et al.*, 1993).

1.3.2 Bakteria

Mengikut Klainer & Geis (1973), bakteria adalah satu kumpulan organisma unisel seni yang heterogenus. Ianya diklasifikasikan berdasarkan empat ciri yang utama secara amnya. Ciri-ciri tersebut ialah bentuk, reaksi pewarnaan Gram, sifat-sifat metabolisme dan struktur antigen (Crowley, 1997). Sel-sel individu dan kumpulan ini juga mempunyai ciri-ciri morfologi dan hubungan ruang tertentu (Klainer & Geis, 1973). Saiz bakteria adalah dalam lingkungan antara 0.5-1.0 μm lebar dan 0.5-8.0 μm panjang.

Setiap individu bakteria berkemampuan menjalankan pelbagai aktiviti metabolit yang berbeza dan meningkatkan saiznya serta membiak secara belahan dedua. Setiap sel mengandungi sitoplasma yang pekat dikeilingi oleh membran sitoplasma dan selalunya di bahagian luar mempunyai dinding sel yang tegar. Sitoplasma mengandungi kedua-dua asid deoksiribonuklik (DNA) dan asid ribonuklik (RNA). Kebanyakan DNA berkumpul di satu bahagian sel membentuk cincin atau gelungan dan membentuk nukleus. Dinding sel bakteria pula adalah tegar disebabkan oleh kehadiran kompleks gula amino dan polipeptida yang dikenali sebagai mukopeptida. Asid muramik merupakan komponen tetap mukopeptida. Sesetengah bakteria membentuk kapsul di luar dinding sel yang selalunya terdiri daripada polisakarida. Sesetengah bakteria mempunyai flagelum yang merupakan alat pergerakan manakala

sesetengahnya pula membentuk endospora. Endospora ialah suatu jasad rehat berdinding tebal dengan keupayaan kerintangan yang tinggi (Turk & Porter, 1974).

Bakteria wujud dalam pelbagai bentuk seperti sfera (kokus), rod (basilus), koma atau berpilin. Nama bakteria bergantung kepada bilangan individu bakteria yang hidup bersama. Contohnya, bakteria kokus yang hidup dalam kelompok dikenali sebagai stafilokokus, bakteria yang berpasangan dikenali sebagai diplokokus atau berantai dikenali sebagai streptokokus. Berdasarkan Pewarnaan Gram, bakteria dapat dikategorikan kepada jenis Gram Positif dan Gram Negatif. Sestina bakteria adalah cerewet iaitu hanya boleh tumbuh pada medium yang diperkaya di bawah keadaan suhu dan pH yang terkawal, manakala sesetengah bakteria yang lain pula boleh hidup dengan medium kultur ringkas. Kebanyakan bakteria hidup dengan memerlukan kehadiran oksigen dan ia dikenali sebagai bakteria aerob manakala bakteria anaerob pula adalah bakteria yang hidup tanpa memerlukan oksigen. Di samping itu terdapat juga bakteria lain yang boleh hidup di dalam kedua-dua keadaan aerob dan anaerob dan kumpulan ini dikenali sebagai fakultatif. Kebanyakan bakteria juga mempunyai sifat-sifat biokimia yang ketara. Ada di antaranya yang boleh memfermentasikan karbohidrat dan boleh memberikan banyak tindak balas biokimia yang berbeza di dalam keadaan kultur tertentu. Setiap bakteria mempunyai profil biokimia tersendiri yang membolehkan pengenalan terhadapnya dilakukan. Selain itu, setiap bakteria mempunyai banyak struktur antigen yang berkaitan dengan sel, kapsul dan flagelum (Crowley, 1997).

Bakteria patogen boleh diklasifikasikan kepada patogen pengambil peluang (oportunist) dan patogen sebenar. Bakteria pengambil peluang jarang menyebabkan penyakit pada individu yang mempunyai pertahanan fizikal atau anatomi dan imunologi yang kuat. Kebanyakannya adalah flora normal (contohnya : *E. coli* dan *S. aureus*). Pada kebiasaannya flora normal dapat menyebabkan penyakit hanya apabila ia bertukar ke tempat baru di dalam tubuh manusia ataupun apabila terdapat penyingkiran bakteria asing dengan menggunakan antibiotik berspektrum luas di mana ia akan berpindah dan menetap di tapak baru, seterusnya berganda dan akhirnya menyebabkan penyakit. Patogen sebenar pula boleh menyebabkan jangkitan dan penyakit pada individu yang sihat dan juga individu yang lemah sistem pertahanan badannya (Cockayne, 1997).

Bakteria patogen mempunyai penentu virulen / agresin tertentu yang berperanan pada pelbagai peringkat semasa proses menyebabkan penyakit. Sebagai contohnya, hemolisin merupakan aset bagi *E. coli* dan toksin difteria pula adalah aset bagi *Corynebacterium diphtheriae*. Ureases pula merupakan enzim agresin ekstrasel yang terdapat pada *Proteus sp.* Pada penyakit Infeksi Trek Urinari, enzim urease ini memecahkan urea di dalam urin dan menyebabkan pembebasan amonia dimana pembebasan amonia ini akan menyebabkan suatu keadaan jangkitan. Walau bagaimanapun, terdapat juga sesetengah penyakit yang tidak diketahui patogenesis dan penentu virulennya (contohnya, siflis) (Cockayne, 1997). Jadual 1.2 menunjukkan kesan-kesan yang disebabkan oleh eksotoksin bakteria sementara Jadual 1.3 pula menunjukkan antara penyakit yang boleh disebabkan oleh beberapa bakteria patogen.

(Sumber: Cockayne, 1997)

Kesan Toksik	Contoh
<p><i>Tindakan Membunuh</i></p> <ul style="list-style-type: none"> -Kesan terhadap persimpangan saraf otot -Kesan terhadap otot voluntari -Kerosakan jantung, paru-paru, ginjal dan lain-lain 	<ul style="list-style-type: none"> -Toksin A <i>Clostridium botulinum</i> -Toksin tetanus -Toksin diphtheria
<p><i>Kesan Pirogen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Peningkatan suhu badan 	<ul style="list-style-type: none"> -Eksotoksin <i>S. aureus</i> dan <i>S. pyogenes</i> -Toksin I Sindrom Kejutan Toksik Stafilokokus
<p><i>Tindakan terhadap trek gastrousus</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Sekresi air dan elektrolit - Kolitis Pseudomembran - Disenteri Basilus - Muntah 	<ul style="list-style-type: none"> - Enterotoksin kolera dan <i>E. coli</i> - Toksin A & B <i>Clostridium difficile</i> - Toksin Shigella - Enterotoksin A-E <i>S. aureus</i>.
<p><i>Tindakan terhadap kulit</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Nekrosis -Eriterna -Ketelapan kapilari kulit 	<ul style="list-style-type: none"> -Toksin <i>Clostridium</i> sp; toksin a Stafilokokus -Toksin <i>Diphtheria</i> sp; toksin <i>Streptococcal erithrogenis</i> -Enterotoksin kolera; toksin labil haba <i>E. coli</i>
<p><i>Kesan Sitolisis</i></p> <ul style="list-style-type: none"> -Lisis sel darah merah 	<ul style="list-style-type: none"> -Lisin α-,β-,δ- <i>Staphylococcus aureus</i>, Leukosidin -Streptolisin O & S -Toksin α- dan θ- <i>Clostridium perfringens</i>
<p><i>Perencatan aktiviti metabolisme</i></p> <ul style="list-style-type: none"> -Sintesis protein 	<ul style="list-style-type: none"> -Toksin diphtheria; toksin shiga

Jadual 1.3 Beberapa bakteria patogen yang penting dan penyakit yang boleh disebabkan olehnya.

(Sumber: Cheesbrough, 1984)

Organisma	Morfologi Sel	Penyakit
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kokus berkumpul	Bisul, Bengkak, Bermanah, Infeksi sekunder, Bakteremia, pneumonia, meningitis, konjunktivitis pada bayi, keracunan makanan.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Kokus berantai	Sakit tekak, demam Scarlet, bakteremia, media otitis, meningitis, selulitis, sepsis puerperal, glomerulonefritis pos-streptokokal dan demami reumatik ke arah sakit jantung.
<i>Escherichia coli</i>	Rod motil dan tak motil	Infeksi urinari, infeksi luka, bakteremia dan gastroenteritis.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Rod berkapsul tidak motil	Infeksi dada, infeksi urinari, infeksi luka, bakteremia, meningitis dan endokarditis.
<i>Proteus vulgaris</i>	Rod motil	Infeksi urinari, infeksi dada dan luka, bakteremia dan meningitis.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rod motil	Infeksi urinari~ infeksi respiratori, infeksi telinga dan luka, infeksi terbakar dan septisemia.
<i>Shigella sonnei</i>	Rod tidak motil atau kokobasilus	Disenteri basilus
<i>Salmonella typhi</i>	Rod motil	Demam enterik (tifoid dan paratifoid), keracunan makanan, septisemia, meningitis, infeksi tulang, bengkak bermanah.

Gambar foto 1.1 menunjukkan rupa bentuk koloni beberapa bakteri patogen yang ditumbuhkan di atas medium agar nutrien.

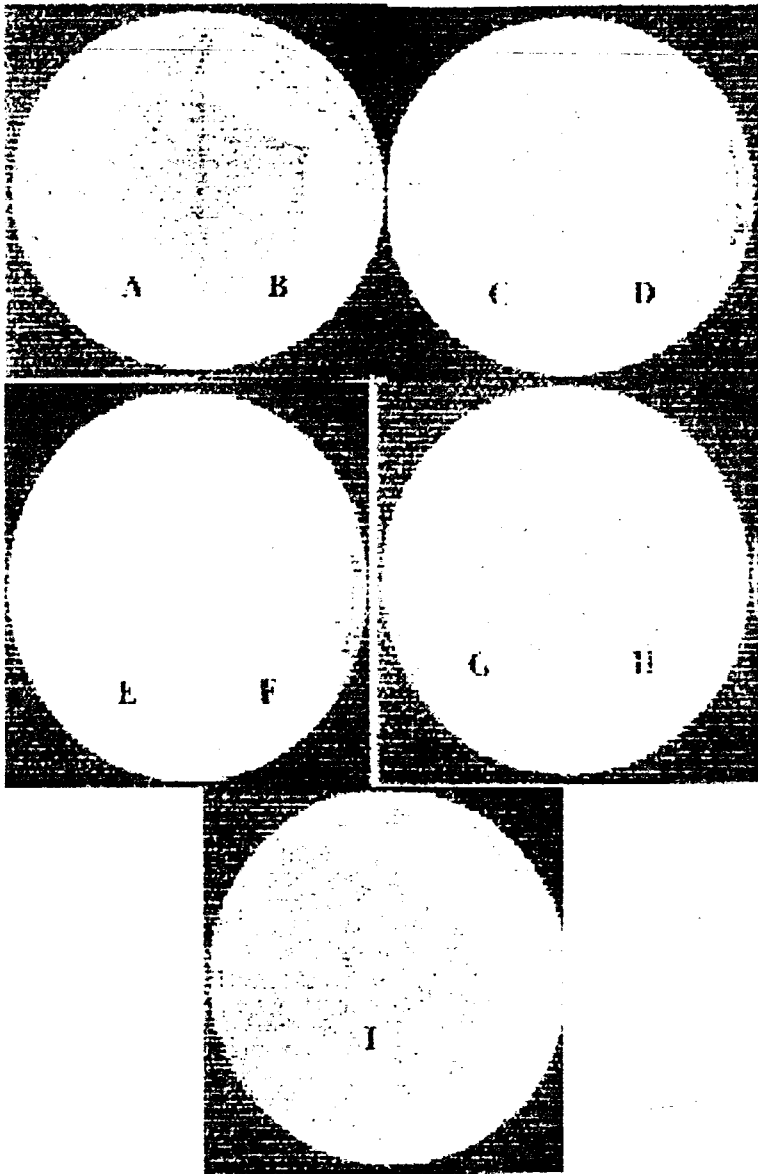
1.3.2.2 Ciri-ciri jangkitan penyakit yang disebabkan oleh beberapa bakteri patogen

(a) Infeksi Trek Genitourinari oleh *Escherichia coli*

Ia berlaku disebabkan oleh kontaminasi najis pada kawasan genital. Ia lebih banyak berlaku dalam kalangan wanita disebabkan oleh uretra yang pendek dan berhampiran dengan kawasan anus. Sistitis berlaku dengan ciri-ciri seperti kerap kencing yang diiringi dengan rasa sakit dan hematuria. Infeksi pielonephritis pada ginjal akan berlaku dan diikuti pula dengan infeksi trek urinari yang dicirikan dengan demam, sakit pada rusuk, kelembutan dan mungkin boleh menyebabkan kejutan endotoksin. Prostatitis pula berlaku dalam kalangan lelaki tua (Johnson *et al.*, 1996). Gambar foto 1.2 (A) menunjukkan bakteria *E. coli*.

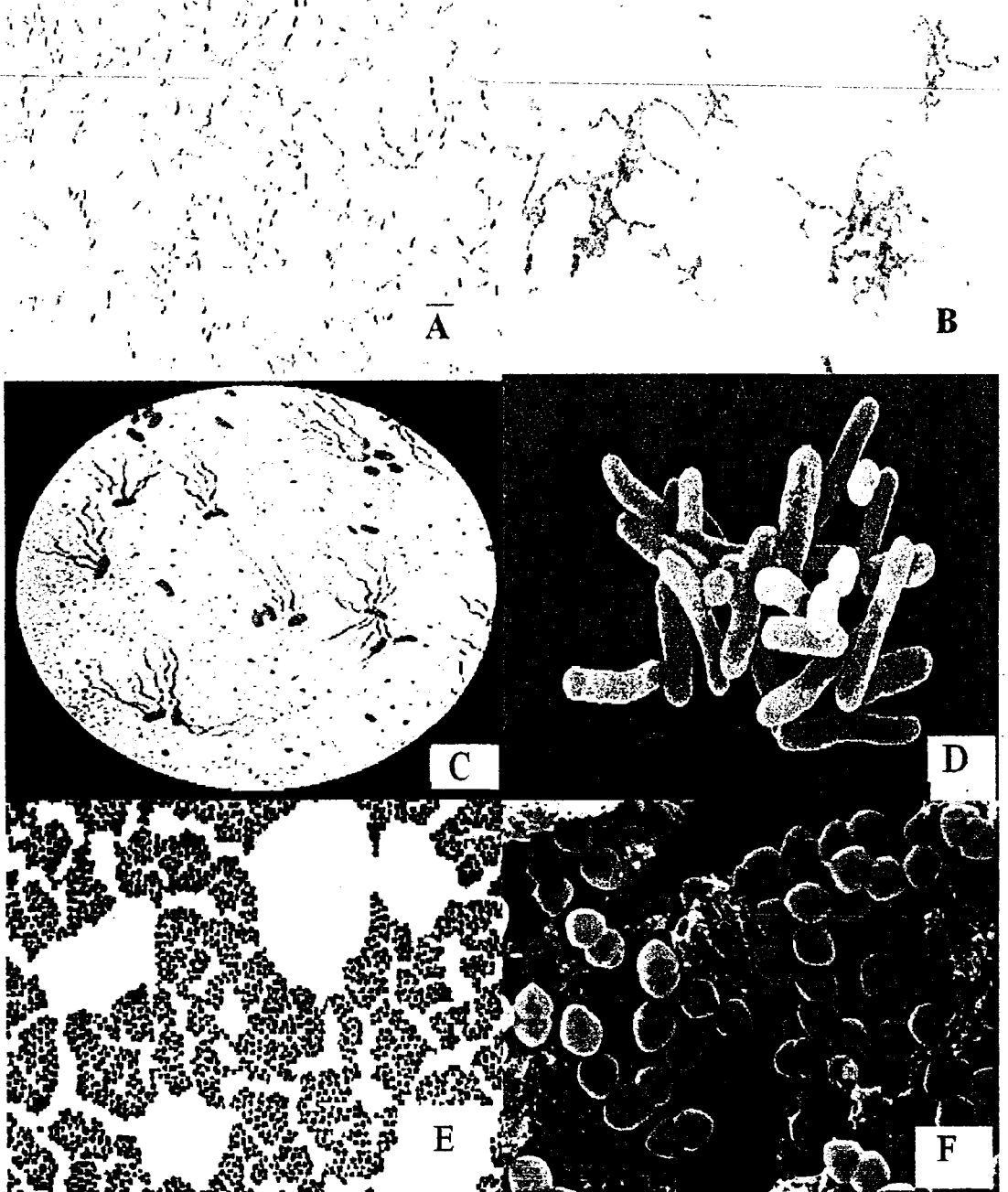
b) Meningitis oleh Pneumokokus

Meningitis oleh bakteria pneumokokus (Gambar foto 1.2 (B)) berlaku pada semua peringkat umur. Separuh daripada kes ini adalah lanjutan daripada penyakit otitis media, sinusitis, konjunktivitis purulen, pneumonia, endokarditis atau kolisistis manakala separuh lagi merupakan meningitis primer iaitu tidak ada infeksi yang jelas. Pada orang dewasa, kebanyakan meningitis berkaitan dengan sinusitis, otitis media dan pneumonia yang disebabkan oleh pneumokokus. Cecair serebrospinal dicirikan dengan peningkatan sel darah putih (kebanyakannya leukosit polimorfonuklear),



Gambar foto 1.1: Rupa bentuk koloni beberapa bakteria patogen yang ditumbuhkan di atas medium agar nutrien, selepas 24 jam penderaman secara aerob pada suhu 37°C.

(A) *B. subtilis*, (B) *S. pyogenes*, (C) *E. coli*, (D) *E. aerogenes*, (E) *Erwinia sp.*, (F) *P. mirabilis*, (G) *S. aureus*, (H) *B. cereus* dan (I) *K. pneumoniae*.



Gambar foto 1.2 Beberapa bakteri patogen (Anon, 2000)

(A) *Escherichia coli*, (B) *Pneumococcus sp.*, (C) *Salmonella typhi*, (D) *Shigella sp.*,
(E) *Staphylococcus aureus*, (F) *Enterococcus sp.*,

sedikit peningkatan protein, penurunan gula (kurang dari 50% aras gula darah), dan kehadiran pneumokokus yang lazim.

c) Gastroenteritis oleh *Salmonella*

Infeksi adalah melalui ingesti makanan yang dicemari oleh pembawa. Penyakit ini dicirikan oleh nausea, muntah, diarea dan kesakitan pada bahagian abdomen. Diarea mungkin juga berclarah dan reaksi sistemik seperti demam juga sering berlaku (Klainer & Geis, 1973). menunjukkan bakteria yang bertanggungjawab membawa penyakit ini.

d) Demam Enterik (tifoid) oleh *Salmonella typhi*

Ia berlaku kerana disebabkan oleh ingesti makanan atau air yang tercemar oleh pembawa dan mempunyai tahap infektif yang tinggi walaupun dengan jumlah bakteria yang sedikit (contohnya : 200/sel). Pesakit akan mengalami lesu, sakit kepala dan peningkatan suhu pada siang hari sehingga 102°C dan 105°C. Ruam akan kelihatan pada minggu kedua dan ketiga jangkitan. Biasanya, penyakit ini akan sembuh pada minggu ketiga atau kelima. Komplikasi yang teruk adalah pendarahan gastrousus dan peritonitis. Selepas sembuh, kira-kira 3% daripada pesakit boleh menjadi pembawa, di mana patogen akan menetap di pundi hempedu dan laluan hempedu. Gambar foto 1.2 (C) menunjukkan *Salmonella typhi* yang menyebabkan penyakit tifoid.

e) Shigellosis (disenteri basilus) oleh *Shigella* sp.

Shigella sonnei, Gambar foto 1.2 (D), merupakan penyebab utama penyakit shigellosis di Amerika. Ia dicirikan dengan inflamasi akut pada dinding usus besar dan ileum terminal. Walau bagaimanapun, kemasukan ke dalam aliran darah adalah jarang

berlaku. Antara komplikasi yang disebabkan terasuklah nekrosis pada membran mukus, pembentukan ulser dan pendarahan. Penyakit ini dicirikan dengan sakit yang datang mendadak selepas, masa eraman yang pendek iaitu antara 1-4 hari, dengan kesakitan pada abdomen, kejang, diarea dan demam. Najis adalah dalam bentuk cecair dan sedikit. Selepas beberapa pergerakan bowel, najis mengandungi mukus, nanah dan kadangkadang darah.

f) Bakteremia oleh Stafilococcus

Kebanyakannya disebabkan oleh kemasukan patogen melalui kulit dan ia boleh membawa maut. Selalunya dicirikan oleh infeksi metastatik kepada kebanyakan bahagian tubuh termasuklah lapisan meninges, endokardium, tulang, paru-paru dan ginjal. Gambar foto 1.2 (E) menunjukkan *Staphylococcus aureus*.

g) Endokarditis oleh Stafilococcus

Bakteremia boleh menyebabkan nekrosis akut, pembentukan lesi ulser pada endokardium dan lebih cepat memusnahkan injap jantung. Ia merupakan komplikasi yang paling ditakuti selepas pembedahan jantung (Klainer & Geis, 1973). Antara komplikasi kesan sistemiknya termasuklah demam, kurang berat badan, lesu dan pembesaran limpa yang selalu terjadi bagi endokarditis yang infektif dan ia boleh menyebabkan bakteremia yang tetap. Pendarahan linear (splinter hemorrhages) di bawah hujung kuku juga, kerap berlaku. "Clubbing" pada kuku juga sering berlaku dimana puncanya tidak diketahui. Stafilococcus termasuklah dalam famili enterokokus seperti gambar foto 1.2 (F).

Ia bukannya infeksi primer bagi individu yang sihat tetapi kerap bertindih dengan infeksi virus pada trek pernafasan, terutamanya influenza ataupun urutan daripada bakteremia pneumonia iaitu bronkopneumonia, pneumonia lobar (selalunya terjadi bersama dengan empiema), pneumonia interstitial dan bronkopneumonia difusi bilateral. Penyakit ini dicirikan dengan nekrosis dan pembentukan bengkakkan bemanah kecil, gabungan bengkakkan bemanah kecil dan hasil percantuman. Bengkakkan bemanah subpleural akan pecah menyebabkan empiema atau nanah dalam ruang pleura. Jika satu lesi nekrosis dapat menyebabkan berlakunya pemecahan ruang udara, piopneumotoraks akan terjadi. Penyebaran ke mediastinum, perikardium dan darah akan memudaratkan lagi keadaan penyakit.

i) Demam Scarlet oleh *Streptococcus pyogenes*

Merupakan status penyakit hasil daripada infeksi (selalunya faringitis), bersama-sama dengan penghasilan toksin eritrogen oleh strain Streptokokus di dalam perumah lemah. Ruam akan kelihatan bermula daripada belakang telinga dan tersebar ke seluruh badan. Bahagian muka selalunya tidak kelihatan ruam kecuali pada bahagian pipi. Ruamnya mungkin terbentuk dengan pantas, dan mungkin teruk dengan "petechiae" dan lesi kutan berdarah. Lidah akan kelihatan seakan-akan seperti strawberi kerana disebabkan oleh pembesaran dan penonjolan papillae merah menembusi satu lapisan putih.

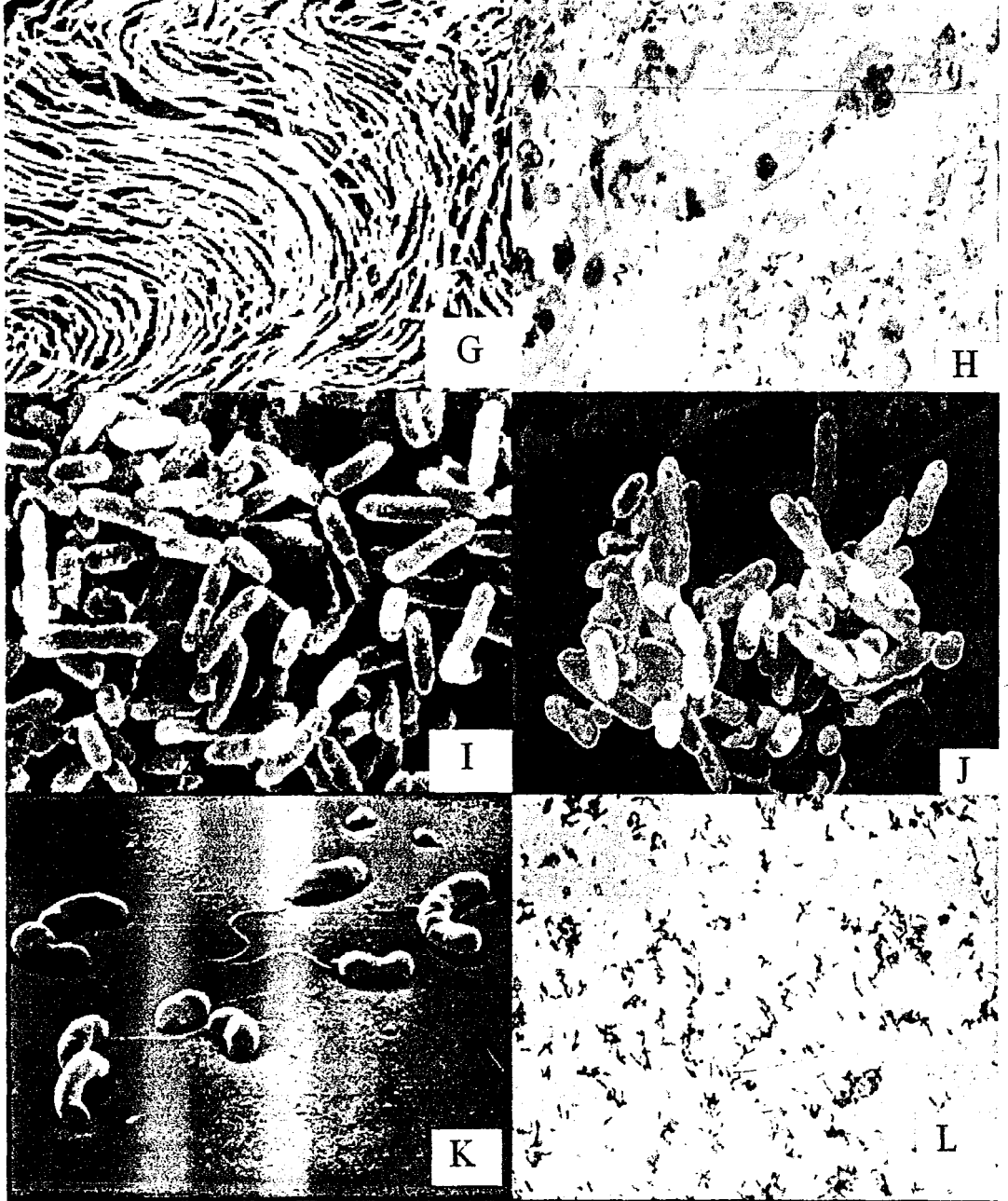
j) Demam reumatik oleh streptokokus

Ia berikutan infeksi tekak oleh streptokokus kumpulan A pada individu yang lemah sistem imunnya. Walau bagaimanapun, sekitar 20% daripada pesakit tidak menunjukkan tanda-tanda atau simptom awal. Ia menyebabkan berlakunya proses inflamasi sistemik yang melibatkan tisu konektif, jantung dan sistem saraf pusat. Ia boleh menyebabkan lesu kronik yang progresif, kerosakan otot dan injap jantung dengan stenosis mitral. Ia dianggap hasil daripada tindakan silang antibodi antistreptokokus dengan otot sarkolemna dan ginjal yang menyebabkan proses inflamasi.

Gambar beberapa patogen dapat dilihat pada Gambar foto 1.2 sambungan. Gambar foto 1.2 (G) ialah *Bacillus cereus*, (H) *Klebsiella pneumoniae*, (I) *Pseudomonas aeruginosa*, (J) *Proteus* sp., (K) *Campylobacter*, (L) *Corynebacterium diphtheriae*, (M) *Enterobacter aerogenes*, (N) *Clostridium botulinum* dan (O) *Actinomyces* sp.

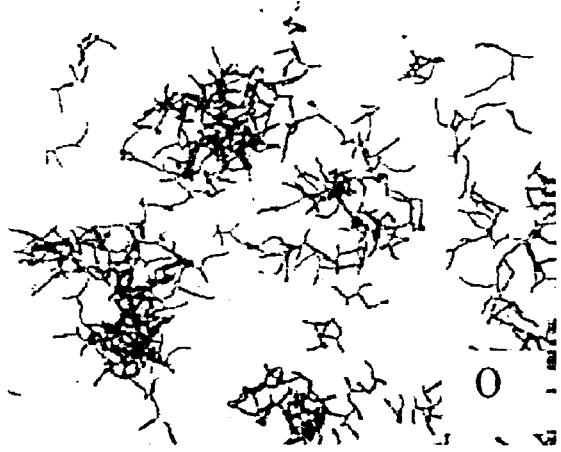
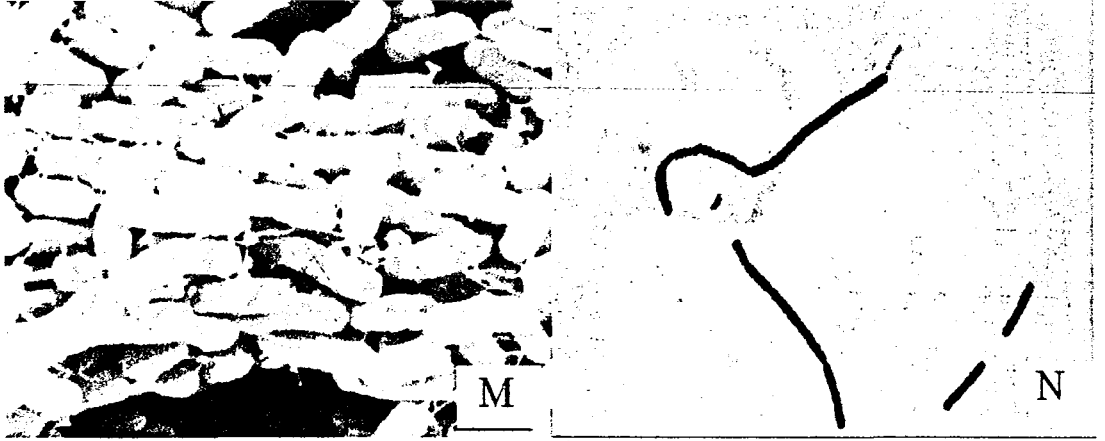
1.3.3 Kulat

Kulat dapat didefinisikan sebagai satu kingdom organisma eukariot yang merupakan organisma heterotrof yang hidup sebagai saprofit atau parasit, termasuklah cendawan, yis, kulat dan sebagainya. Ia mengandungi dinding sel yang tegar tetapi tidak mempunyai klorofil (Dorlands, 1995). Ia secara amnya bersaiz lebih besar daripada bakteria dan selalunya berada dalam bentuk multisel (Turk & Porter, 1974; Duerden *et al.*, 1993).



Gambar foto 1.2 sambungan

(G) *Bacillus cereus*, (H) *Klebsiella pneumoniae*, (I) *Pseudomonas aeruginosa*,
 (J) *Proteus* sp., (K) *Campylobacter* sp., (L) *Corynebacterium diphtheriae*.



Gambar foto 1.2 sambungan

(M) *Enterobacter aerogenes*, (N) *Clostridium botulinum*, (O) *Actinomyces* sp.

Kulat adalah organisma yang kekinatan seperti tumbuhan tanpa klorofil (Pelczar & Reid, 1972; Crowley, 1997). Oleh itu ia tidak boleh mensintesis makanannya sendiri. Saiz dan bentuknya adalah berbeza iaitu daripada satu sel yis yang bersel tunggal kepada cendawan yang besar berbilang sel (Pelczar & Reid, 1972). Terdapat lebih daripada 50 000 spesies kulat yang telah diketahui dan ia telah diklasifikasikan kepada beberapa kelas utama berdasarkan kepada organisasi sel dan cara pembiakan (Cheesbrough, 1984).

Kulat dapat dibahagikan kepada dua kumpulan besar iaitu yis dan kulat atau jamur. Yis adalah sel kecil dalam bentuk bujur atau sfera yang membiak secara penunasan (Crowley, 1997). Yis boleh juga membentuk spora seks (Turk & Porter, 1974). Sesetengah yis menunjukkan ubahsuaian bentuk penunasan di mana tunasnya memanjang membentuk filament palsu (pseudohifa) dan tetap bersambung dalam rantaian dan menyerupai miselium jamur (Duerden *et al.*, 1993). Apabila ditumbuhkan pada media yang sesuai pada suhu bilik, jamur dapat membentuk koloni besar yang mengandungi pelbagai struktur filamen yang bercabang dipanggil hifa. Gabungan hifa-hifa ini dipanggil miselium, yang bertanggung jawab terhadap ciri-ciri yang ditunjukkan oleh koloni. (Crowley, 1997). Dalam sesetengah famili, hifa tersebut dibahagikan oleh septum (Turk & Porter, 1974) iaitu dinding bersilang yang boleh didapati di bahagian tertentu di sepanjang hifa (hifa berseptum) manakala pada sesetengah famili yang lain, septum tidak terbentuk (hifa tidak berseptum) (Zainordin, 1989). Kulat jenis ini membiak dengan cara menghasilkan spora secara seks atau aseks (Turk & Porter, 1974) di dalam suatu struktur pembuahan yang agak ketara berbeza pada setiap spesies tertentu (Pelczar & Reid, 1972).