

KAJIAN KE ATAS AKTIVITI ANTIKANDIDA
DARIPADA EKSTRAK ALGA MARIN,
GRACILARIA MANILAENSIS

LIM KOK WENG

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA
2005

ARKIB

rb
f SH390
L732
2005

**KAJIAN KE ATAS AKTIVITI ANTIKANDIDA
DARIPADA EKSTRAK ALGA MARIN,
*GRACILARIA MANILAENSIS***

oleh

LIM KOK WENG

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

November 2005

PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi penghargaan saya ucapkan kepada penyelia saya, **PROFESOR MADYA DR. DARAH IBRAHIM** kerana beliau telah mencurahkan banyak komitmen, tunjuk ajar dan nasihat kepada saya untuk menjayakan projek ini. Terima kasih yang tidak terhingga kepada penyelia bersama, **PROFESOR MADYA DR. MISNI BIN SURIP** kerana sudi berkongsi pengalaman serta panduan tentang projek yang dijalankan. Tidak dapat dilupakan juga kepada Profesor Dr. Ibrahim Che Omar yang sentiasa mengambil berat tentang kelancaran perjalanan projek ini. Saya ingin berterima kasih kepada Puan Falizah, saudari Suraya dan saudari Jahlelawati binti Yusof yang telah menghulurkan banyak bantuan kepada saya semasa projek ini dijalankan. Tidak ketinggalan kepada semua kakitangan Pusat Pengajian Sains Kajahayat yang telah membantu saya secara langsung atau tidak langsung bagi menjayakan kajian saya ini terutamanya Cik Jamilah, En. Muthu, En. Johari dan En. Rashid. Saya juga ingin merakamkan penghargaan kepada semua ahli Makmal Fermentasi dan Teknologi Enzim yang telah memberi pertolongan dan semangat sama ada secara langsung atau tidak langsung di dalam menjayakan projek ini. Jasa kalian akan saya ingat selama-lamanya.

Sekian, terima kasih.

LIM KOK WENG

November, 2005

KANDUNGAN

	Muka surat
PENGHARGAAN	ii
KANDUNGAN	iii
SENARAI JADUAL	viii
SENARAI RAJAH	x
SENARAI GAMBAR FOTO	xi
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xv
BAB 1.0 PENGENALAN	1
1.1 Kerintangan antibiotik	1
1.2 Antibiotik	4
1.2.1 Antibiotik antibakteria	5
1.2.1.1 Pengelasan antibiotik antibakteria	6
1.2.1.2 Mekanisme tindakan antibiotik antibakteria	9
1.2.2 Antibiotik antikulat	14
1.2.2.1 Pengelasan dan mekanisme tindakan antibiotik antikulat	15
1.3 Sumber antibiotik	19
1.3.1 Sumber tumbuhan daratan	19
1.3.2 Sumber mikroorganisma daratan	22
1.3.3 Sumber marin	26
1.3.3.1 Mikroorganisma marin	29
1.3.3.2 Span marin	32
1.3.3.3 Ekinodermata	33

1.3.3.4 Alga marin	37
1.3.3.5 Cninadaria	39
1.3.3.6 Briozoa	41
1.3.3.7 Moluska marin	43
1.3.3.8 Tunikat	46
1.4 Antibiotik masa depan	48
1.5 <i>Gracilaria manilaensis</i>	48
1.6 Objektif penyelidikan	50
BAB 2.0 BAHAN DAN KAEDAH	52
2.1 Penyampelan	52
2.2 Pengekstrakan	52
2.2.1 Pengekstrakan secara rendaman dengan pelarut tertentu	56
2.2.2 Pengekstrakan cecair dengan beberapa pelarut yang berlainan secara berperingkat	59
2.3 Kepekatan ekstrak	60
2.4 Penyediaan mikroorganisma ujian	60
2.4.1 Bakteria ujian	61
2.4.2 Kulat ujian	61
2.4.3 Yis ujian	64
2.5 Penyediaan inokulum	64
2.6 Ujian aktiviti antimikrob	66
2.6.1 Kaedah peresapan agar	66
2.7 Kepekatan perencatan minimum (MIC) dan kepekatan bakteriosid minimum (MBC)	67

2.7.1 Penentuan MIC dan MBC	68
2.8 Kesan pelbagai kepekatan ekstrak <i>Gracilaria manilaensis</i> ke atas profil pertumbuhan sel <i>C. albicans</i>	71
2.8.1 Penentuan corak pertumbuhan	72
2.9 Kajian perubahan morfologi dan sitologi <i>Candida albicans</i> selepas ditindak dengan ekstrak pada selang masa berbeza	72
2.9.1 Aktiviti antikandida	72
2.9.1.1 Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya (LM)	73
2.9.1.2 Pengamatan menggunakan mikroskop elektron penskanan (SEM)	74
2.9.1.3 Pengamatan menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM)	74
2.10 Ujian ketoksikan menggunakan kaedah anak udang brin, <i>Artemia salina</i>	75
2.10.1 Penyediaan medium pertumbuhan <i>A. salina</i>	75
2.10.2 Ujian ketoksikan ekstrak <i>G. manilaensis</i>	75
2.11 Penyisihan komponen bioaktif daripada ekstrak dengan kaedah kromatografi	76
2.11.1 Kromatografi lapisan nipis	76
2.11.2 Kromatografi turus	78
2.11.3 Ujian aktiviti antikandida	79
BAB 3.0 KEPUTUSAN	81
3.1 Penyaringan aktiviti antimikrob ekstrak kasar alga marin	81

tempatan	
3.2 Aktiviti antimikrob ekstrak alga marin secara pengekstrakan berperingkat	87
3.3 Ujian kepekaan ekstrak <i>G. manilaensis</i> ke atas mikroorganisma ujian	91
3.3.1 Penentuan kepekatan perencatan minimum (MIC) dan kepekatan bakteriosid minimum (MBC) ekstrak ke atas mikroorganisma terpilih	95
3.4 Kesan penambahan ekstrak <i>Gracilaria manilaensis</i> ke atas pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	101
3.5 Perubahan struktur dan morfologi <i>Candida albicans</i> selepas ditindak dengan ekstrak <i>Gracilaria manilaensis</i>	103
3.5.1 Pengamatan melalui mikroskop cahaya (LM)	103
3.5.2 Pengamatan melalui mikroskop elektron penskanan (SEM)	106
3.5.3 Pengamatan melalui mikroskop elektron transmisi (TEM)	111
3.6 Ujian ketoksikan melalui kaedah anak udang brin, <i>Artemia salina</i>	116
3.7 Penyisihan sebatian bioaktif ekstrak <i>G. manilaensis</i> melalui kaedah kromatografi	117
3.7.1 Kromatografi lapisan nipis	117
3.7.2 Kromatografi turus	118
3.7.3 Ujian aktiviti antikandida	118
BAB 4.0 PERBINCANGAN	122

4.1 Pengekstrakan	122
4.2 Penyaringan aktiviti antimikrob	125
4.3 Penentuan nilai kepekatan perencatan minimum (MIC) dan nilai kepekatan bakteriosid minimum (MBC)	131
4.4 Kesan kepelbagaian kepekatan ekstrak <i>G. manilaensis</i> terhadap pertumbuhan <i>C. albicans</i>	135
4.5 Perubahan struktur dan morfologi sel <i>C. albicans</i> selepas rawatan ekstrak <i>G. manilaensis</i>	138
4.6 Ujian ketoksikan melalui kaedah anak udang brin, <i>Artemia salina</i>	141
4.7 Penyisihan sebatian bioaktif daripada ekstrak dengan kaedah kromatografi	144
BAB 5.0 KESIMPULAN	147
RUJUKAN	149
LAMPIRAN	158
PENERBITAN DARIPADA PENYELIDIKAN INI	162

SENARAI JADUAL

	Muka surat
Jadual 1.1: Antara antibiotik antibakteria yang digunakan dalam kemoterapi	7
Jadual 1.2: Pengelasan antibiotik	8
Jadual 1.3: Antibiotik antibakteria dan mekanisme tindakannya	10
Jadual 1.4: Kumpulan antibiotik antikulat utama	16
Jadual 1.5: Aktiviti antimikrob daripada tumbuhan	20
Jadual 1.6: Kelas utama sebatian antimikrob daripada tumbuhan	23
Jadual 1.7: Kumpulan sebatian utama dalam kelas fenol dan polifenol	24
Jadual 1.8: Sebahagian daripada antibiotik antibakteria yang dihasilkan oleh mikroorganisma	27
Jadual 1.9: Antibiotik antikulat daripada mikroorganisma	28
Jadual 1.10: Sebahagian daripada mikroorganisma marin yang menghasilkan antibiotik	31
Jadual 1.11: Aktiviti bioaktif daripada span	34
Jadual 1.12: Aktiviti bioaktif daripada Ekinodermata	36
Jadual 1.13: Aktiviti antimikrob daripada alga marin	40
Jadual 1.14: Aktiviti antimikrob daripada Cninadaria	42
Jadual 1.15: Aktiviti bioaktif daripada Briozoa	44
Jadual 1.16: Aktiviti bioaktif daripada Moluska	45
Jadual 1.17: Aktiviti bioaktif daripada Tunikat	47
Jadual 3.1: Aktiviti antibakteria daripada ekstrak kasar alga marin tempatan yang diekstrak dengan pelarut metanol:kloroform (1:1)	83
Jadual 3.2: Aktiviti antikulat (antiyis) daripada ekstrak kasar alga marin tempatan yang diekstrak	85

dengan pelarut metanol:kloroform (1:1)

Jadual 3.3:	Aktiviti antikulat daripada ekstrak kasar alga marin tempatan yang diekstrak dengan pelarut metanol:kloroform (1:1)	86
Jadual 3.4:	Aktiviti antibakteria alga <i>Gracilaria manilaensis</i> yang diekstrak secara berperingkat	90
Jadual 3.5:	Aktiviti antikulat (antiyis) alga <i>Gracilaria manilaensis</i> yang diekstrak secara cecair dengan pelbagai jenis pelarut	92
Jadual 3.6:	Aktiviti antikulat alga <i>Gracilaria manilaensis</i> yang diekstrak secara cecair dengan pelbagai jenis pelarut	93
Jadual 3.7:	Nilai kasar MIC bagi alga <i>Gracilaria manilaensis</i> yang diekstrak dengan pelarut metanol:kloroform ke atas mikroorganisma ujian dengan kaedah peresapan agar	96
Jadual 3.8:	Nilai MIC dan MBC bagi alga <i>Gracilaria manilaensis</i> yang diekstrak dengan pelarut metanol:kloroform melalui kaedah pencairan kaldu	98

SENARAI RAJAH

Muka surat

Rajah 3.1: Kesan penambahan ekstrak *Gracilaria manilaensis* pada kepekatan yang berbeza ke atas pertumbuhan sel *Candida albicans*

102

SENARAI GAMBAR FOTO

	Muka surat
Gambar foto 2.1: Sebahagian daripada alga marin tempatan yang dikaji	53
Gambar foto 2.2: Bahagian alga yang telah kering dan dipotong menjadi cebisan kecil	57
Gambar foto 2.3: Hasil akhir pengekstrakan alga marin	58
Gambar foto 2.4: Sebahagian daripada bakteria ujian yang digunakan	62
Gambar foto 2.5: Sebahagian daripada kulat ujian yang digunakan	63
Gambar foto 2.6: Sebahagian daripada yis ujian yang digunakan	65
Gambar foto 3.1: Larutan ekstrak yang diperolehi berwarna hijau kehitaman	82
Gambar foto 3.2: Pelarut metanol 0.01% dan pelarut kloroform 0.01% yang digunakan sebagai kawalan tidak memberikan sebarang kesan aktiviti antimikrob	88
Gambar foto 3.3: Kewujudan zon perencatan di sekeliling cakera menunjukkan keputusan yang positif	89
Gambar foto 3.4: Zon perencatan yang disebabkan oleh ekstrak <i>G. manilaensis</i> dalam pelarut berbeza	94
Gambar foto 3.5: Nilai MIC bagi ekstrak <i>G. manilaensis</i> yang bertindak terhadap mikroorganisma sasaran ditentukan melalui kaedah pencairan kaldu	97
Gambar foto 3.6: Nilai MBC bagi ekstrak <i>G. manilaensis</i> yang bertindak terhadap mikroorganisma sasaran ditentukan dengan pemplatan ke atas piring Petri	100
Gambar foto 3.7: Kepelbagaian perubahan morfologi sel <i>Candida albicans</i> apabila didedahkan kepada ekstrak <i>G. manilaensis</i>	104

Gambar foto 3.8: Mikrograf SEM sel <i>C. albicans</i> yang merupakan yis kawalan	107
Gambar foto 3.9: Mikrograf SEM sel <i>C. albicans</i> yang ditindakkan dengan ekstrak <i>G. manilaensis</i> selama 12 jam	108
Gambar foto 3.10: Mikrograf SEM sel <i>C. albicans</i> yang ditindakkan dengan ekstrak <i>G. manilaensis</i> selama 24 jam	109
Gambar foto 3.11: Mikrograf SEM sel <i>C. albicans</i> yang ditindakkan dengan ekstrak <i>G. manilaensis</i> selama 36 jam	110
Gambar foto 3.12: Mikrograf TEM menunjukkan kepelbagaian sitologi sel <i>C. albicans</i> yang bertindak sebagai yis kawalan	112
Gambar foto 3.13: Mikrograf TEM menunjukkan kepelbagaian perubahan sitologi sel <i>C. albicans</i> selepas didedahkan kepada ekstrak <i>G. manilaensis</i> selama 12 jam	113
Gambar foto 3.14: Mikrograf TEM menunjukkan kepelbagaian perubahan sitologi sel <i>C. albicans</i> selepas didedahkan kepada ekstrak <i>G. manilaensis</i> selama 24 jam	114
Gambar foto 3.15: Mikrograf TEM menunjukkan kepelbagaian perubahan sel <i>C. albicans</i> selepas didedahkan kepada ekstrak <i>G. manilaensis</i> selama 36 jam	115
Gambar foto 3.16: Profil TLC ekstrak <i>G. manilaensis</i> dilakukan dengan menggunakan pelarut polar dan nonpolar	119
Gambar foto 3.17: Aktiviti perencatan komponen sisihan ekstrak <i>G. manilaensis</i> melalui kaedah kromatografi turus	120

KAJIAN KE ATAS AKTIVITI ANTIKANDIDA DARIPADA EKSTRAK ALGA MARIN, *GRACILARIA MANILAENSIS*

ABSTRAK

Kajian aktiviti antimikrob alga marin tempatan, terutamanya *Gracilaria manilaensis* terhadap mikroorganisma telah dilakukan. Sejumlah 10 spesies alga telah diekstrak dengan pelarut metanol:kloroform (1:1), iaitu *Caulerpa lertillifera*, *Caulerpa serrulata*, *Enteromorpha sp.*, *Padina sp.*, *Sargassum sp.*, *Acauthophora sp.*, *Gracilaria salicornia*, *Gracilaria changii*, *Gracilaria edulis* dan *Gracilaria manilaensis*. Kajian penyaringan aktiviti antimikrob daripada pelbagai alga marin tempatan dengan menggunakan kaedah peresapan agar telah menunjukkan bahawa 73% alga marin yang dikaji mempunyai aktiviti antimikrob. *Gracilaria manilaensis* didapati mempamerkan spektrum aktiviti antimikrob yang luas dalam menentang mikroorganisma ujian. Kepekatan perencatan minimum (MIC) dan kepekatan bakteriosid minimum (MBC) bagi ekstrak *Gracilaria manilaensis* telah ditentukan terhadap mikroorganisma ujian yang terpilih. Dalam kajian selanjutnya, *Candida albicans* telah dipilih sebagai mikroorganisma sasaran. Nilai MIC dan MBC bagi ekstrak *Gracilaria manilaensis* terhadap *Candida albicans*, masing-masing ialah 3.125 mg/ml dan 6.250 mg/ml. Seterusnya profil pertumbuhan yis tersebut pada kepekatan ekstrak < MIC, MIC dan > MIC telah ditentukan.

Pengamatan mikroskopi memaparkan suatu siri tindakan ekstrak *Gracilaria manilaensis* ke atas sel yis yang signifikan. *Candida albicans* mengalami

perubahan morfologi dan sitologi yang ketara selepas ditindakkan oleh ekstrak dalam suatu tempoh masa. Keputusan kajian menunjukkan bahawa agen antikandida ini mengganggu ketelapan membran sel dan proses biosintesis dinding sel yis, yang akhirnya menyebabkan penglisisan sel yis. Kesitotoksikan ekstrak juga diuji dengan menggunakan anak udang brin, *Artemia salina* dan ia menunjukkan nilai kepekatan maut 50 (LC_{50}) yang signifikan, iaitu sebanyak 0.1 mg/ml.

A STUDY ON THE ANTICANDIDAL ACTIVITY FROM THE EXTRACT OF A MARINE ALGAE, *GRACILARIA MANILAENSIS*

ABSTRACT

A study on the antimicrobial activity of local marine algae, especially *Gracilaria manilaensis* against microorganisms had been carried out. In this research, methanol:chloroform (1:1) was used to extract 10 algal species namely *Caulerpa lertillifera*, *Caulerpa serrulata*, *Enteromorpha sp.*, *Padina sp.*, *Sargassum sp.*, *Acauthophora sp.*, *Gracilaria salicornia*, *Gracilaria changii*, *Gracilaria edulis* dan *Gracilaria manilaensis*. Screening for antimicrobial activity from various local marine alga using agar diffusion method showed that 73% of the marine alga under study possessed antimicrobial activities. *Gracilaria manilaensis* was among the species that showed a broad spectrum of antimicrobial activity against the test microorganisms. The minimum inhibitory concentrations (MIC) and the minimum bactericidal concentrations (MBC) for extracts of *Gracilaria manilaensis* had been determined on the selected test microorganisms. In subsequent experiments, *Candida albicans* was chosen as the target microorganism. The MIC and MBC values of *Gracilaria manilaensis* extract against *Candida albicans* was about 3.125 mg/ml and 6.250 mg/ml, respectively. Then, the yeast growth profile was determined with the extracts at < MIC, MIC and > MIC concentrations.

Microscopic studied displayed a significant series of action by the extract on yeast cell. Various changes occurred on the morphology and cytology of

Candida albicans after treated with the extract at certain period times. The results suggested that the anticandidal agent interfered with the permeability of the cell membrane and cell wall biosynthesis of the yeast cells, which subsequently lead to yeast cell lysis. The cytotoxicity of the extract tested using the brine shrimp, *Artemia salina* assay showed that the significant value of lethality concentration of 50 (LC₅₀) was 0.1 mg/ml.

1.0 PENGENALAN

Pada masa kini, antibiotik telah digunakan secara meluas dalam dunia perubatan. Kerintangan mikroorganisma terhadap antibiotik yang serius dipercayai berpunca daripada penggunaan antibiotik secara berterusan (Franklin & Snow, 1971). Walaupun sejumlah besar antibiotik telah ditemui, hanya sebilangan kecil antibiotik sahaja yang berpotensi sebagai agen antimikrob yang efektif dan selamat digunakan. Antibiotik yang berkesan dapat bertindak terhadap mikroorganisma patogen tanpa merosakkan tisu perumah (Hammond & Lambert, 1978). Penyelidikan yang selanjutnya amat diperlukan bagi mendapatkan sumber-sumber antibiotik baru daripada alam semulajadi yang boleh merawat jangkitan yang disebabkan oleh mikroorganisma yang rintang.

1.1 KERINTANGAN ANTIBIOTIK

Dalam beberapa abad kebelakangan ini, terdapat pertambahan dalam kerintangan mikroorganisma terhadap agen terapi masing-masing (Lancini & Parenti, 1982). Misalannya, bakteria telah meningkatkan kerintangan terhadap antibiotik antibakteria yang digunakan di peringkat klinikal, begitu juga dengan kulat dan yis yang membentuk kerintangan terhadap antibiotik antikulatnya (Gupte *et al.*, 2002). Kerintangan terhadap antibiotik memberi suatu impak yang besar kerana hal ini melibatkan kematian dan juga pembiayaan hospital yang

tinggi. Oleh itu, suatu pendekatan harus dilakukan bagi memahami mekanisme kerintangan secara mendalam, di samping mencari antibiotik baru yang berpotensi, serta memahami cara-cara pencegahan berlakunya kerintangan semula.

Sebenarnya mekanisme kerintangan terhadap antibiotik antibakteria dan antikulat adalah berbeza (Hazarina, 2004). Hal ini disebabkan oleh perbezaan yang terdapat pada struktur bakteria dan kulat. Sebagai contoh, kebanyakan sel kulat adalah secara semulajadinya diploid. Oleh sebab itu, masa generasi yang lebih panjang diperlukan berbanding dengan bakteria (Gupte *et al.*, 2002). Di samping itu, sel dan struktur sasaran sesuatu agen antibakteria dan antikulat adalah berlainan. Misalannya, kebanyakan agen antibakteria merencat langkah penting dalam pembentukan peptidoglikan (Brock *et al.*, 1989), iaitu komponen yang amat penting dalam dinding sel. Sebaliknya, kebanyakan sasaran agen antikulat adalah sama ada pada pembentukan atau fungsi ergosterol. Ergosterol ialah komponen yang penting dalam membran sel (Volkman, 2003). Walaupun begitu, terdapat kesamaan dalam kerintangan yang dibentuk oleh kulat ke atas perencatan biosintesis ergosterol dengan kerintangan yang dibentuk oleh bakteria terhadap agen perencat anti dinding selnya. Perbezaan lain dalam kerintangan antara antibiotik terhadap bakteria dan kulat ialah mekanisme kerintangan yang lebih jelas diselidiki pada bakteria berbanding kulat. Kerintangan terhadap bakteria terhasil daripada modifikasi atau pengubahsuaian yang berlaku pada tapak sasaran antibakteria (Georgopapadakou & Tkacz, 1995).

Konsep asas kerintangan antibiotik ialah keupayaan sesuatu organisma yang sepatutnya sensitif, kini menjadi rintang terhadap antibiotik. Kajian terdahulu menunjukkan kerintangan mikroorganisma terhadap antibiotik adalah disebabkan oleh perubahan genetik daripada mikroorganisma yang menghasilkan antibiotik (Brock *et al.*, 1989). Hal ini dapat melindungi mikroorganisma daripada dimusnahkan oleh antibiotik yang terdapat di sekelilingnya. Kewujudan gen yang rintang terhadap antibiotik dapat dipindah ke mikroorganisma yang lain dalam keadaan tertentu. Kebanyakan patogen menjadi rintang dengan menghasilkan enzim yang memusnahkan sesuatu antibiotik (Hammond & Lambert, 1978).

Kebanyakan mikroorganisma hanya rintang terhadap sesetengah antibiotik atau terhadap antibiotik tertentu sahaja. Kerintangan boleh berlaku dalam beberapa keadaan seperti yang diterangkan oleh Brock *et al.*, 1989.

- a) Dinding atau membran sel mikroorganisma yang tidak telap kepada antibiotik. Contohnya, dinding sel bakteria Gram negatif tidak telap kepada penisilin G.
- b) Keupayaan mikroorganisma yang rintang menukar atau memodifikasikan sesuatu antibiotik kepada sebatian yang tidak merbahaya kepada mikroorganisma.
- c) Mikroorganisma yang telah mengalami perubahan genetik kekurangan struktur yang perlu ditindak oleh antibiotik.

Kerintangan mikroorganisma yang disebabkan oleh perubahan genetik boleh berlaku pada peringkat kromosom atau plasmid. Plasmid yang rintang boleh dipindahkan antara mikroorganisma yang sama atau spesies berlainan. Strain yang membawa plasmid R boleh memodifikasi sesuatu struktur antibiotik secara fosforilasi, asetilasi dan sebagainya (Volk & Wheeler, 1980). Walau bagaimanapun, cara tindakan gen plasmid R adalah tidak sama antara sesuatu spesies dengan spesies yang lain (Lancini & Parenti, 1982; Brock *et al.*, 1989).

1.2 ANTIBIOTIK

Antibiotik ditakrifkan sebagai sebatian bioaktif yang dihasilkan oleh mikroorganisma untuk merencat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisma lain. Konsep asas untuk semua kemoterapi antimikrob ialah ketoksikan memilih. Antibiotik digunakan sebagai agen kemoterapi dengan memusnahkan mikroorganisma sasaran tanpa merosakkan perumah (Brock *et al.*, 1989).

Aktiviti antibiotik mula diperhatikan di London pada tahun 1929 apabila Alexander Fleming menemui penisilin. Penemuan ini adalah hasil daripada kulat yang telah mengkontaminasikan plat agar-agar yang mengandungi koloni *Staphylococcus aureus* dan ia didapati merencat pertumbuhan bakteria yang berhampiran dengan kulat itu (Sammes, 1978). Penemuan tersebut telah menjadi penggerak awal dalam penghasilan antibiotik bagi merawat penyakit yang berkaitan dengan jangkitan mikroorganisma patogen.

Perbezaan di antara antibiotik ialah sama ada ia mampu membunuh bakteria (bakteriosid) atau setakat menghalang pertumbuhan bakteria (bakteriostat). Antibiotik yang berkebolehan membunuh sesuatu mikroorganisma pada kepekatan tertentu dikatakan mempunyai tindakan bakterisid, virosid atau fungisid. Antibiotik yang hanya merencat mikroorganisma tetapi tidak berjaya membunuhnya pula dikatakan mempunyai tindakan bakteriostat, virostat atau fungistat. Dalam keadaan bakteriostat, perumah mempunyai sistem pertahanannya sendiri seperti fagositosis dan antibodi untuk memusnahkan mikroorganisma patogen yang menjangkitinya (Rahman *et al.*, 2001).

Secara amnya, antibiotik terbahagi kepada beberapa jenis bergantung kepada mikroorganisma yang boleh ditindakkannya. Namun demikian, dua jenis antibiotik iaitu antibakteria dan antikulat adalah antibiotik yang paling terkenal (Prescott *et al.*, 1996). Antibiotik mempunyai mekanisme tindakan yang khusus terhadap mikroorganisma tertentu dan bertindak dengan kaedah yang berbeza.

1.2.1 Antibiotik Antibakteria

Bakteria merupakan mikroorganisma yang amat mudah menjangkiti manusia kerana ia dapat memasuki sistem tubuh dengan mudah. Apabila bakteria memasuki sistem tubuh, ia mudah merebak dan boleh menyebabkan penyakit berjangkit yang serius. Penyakit yang disebabkan oleh bakteria adalah sukar untuk dirawat kerana bakteria mudah disebarkan di persekitaran. Bagi menangani masalah penyakit-penyakit yang disebabkan oleh bakteria, maka

agen antibakteria digunakan (Brock *et al.*, 1989; Prescott *et al.*, 1996). Jadual 1.1 menunjukkan sebahagian daripada antibiotik antibakteria yang sering digunakan dalam kemoterapi untuk merawat jangkitan bakteria patogen.

Konsep sebenar penggunaan agen antibakteria ialah menghalang pertumbuhan sel bakteria dengan mengganggu fisiologi serta morfologinya. Agen antibakteria terbahagi kepada dua kumpulan iaitu bakterisid (contohnya penisilin) yang membunuh atau menyebabkan lisis bakteria dan bakteristat (contohnya kloramfenikol) yang hanya merencat pertumbuhan bakteria dan juga proses replikasi. Agen bakteristat boleh bertindak sebagai agen bakterisid jika dosnya ditingkatkan. Sesetengah agen bakterisid boleh bertindak terhadap endospora rehat tetapi agen bakteristat tidak memberi kesan terhadap endospora rehat tersebut (McClane & Mietzner, 1989).

1.2.1.1 Pengelasan Antibiotik Antibakteria

Secara umumnya, antibiotik antibakteria boleh dikelaskan berdasarkan struktur kimianya dan juga tapak sasarannya (Sammes, 1978). Jadual 1.2 menunjukkan pengelasan antibiotik antibakteria berdasarkan struktur kimianya. Antara kumpulan antibakteria yang utama ialah β -laktam (misalnya penisilin dan sefalosporin), makrolida (misalnya eritromisin), aminoglikosida (misalnya gentamisin), tetrasiklin (misalnya tetrasiklin), polipeptida (misalnya vankomisin), sulfonamida (misalnya sulfadiazin dan trimetoprim), linkosamida (misalnya linkomisin), fluorokuinon (misalnya enrofloksasin) dan kumpulan-kumpulan lain seperti kloramfenikol dan nitrofurantoin (Brock *et al.*, 1989).

Jadual 1.1: Antara antibiotik antibakteria yang digunakan dalam kemoterapi

Patogen Penyebab	Penyakit	Antibiotik
Kokus Gram negatif <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	Gonorrhea Meningitis	Cefriaksons Penisilin
Kokus Gram positif <i>Enterococcus sp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> • bukan penghasil penisilinase • penghasil penisilinase • rintang metisilin <i>Streptococcus pneumonia</i> <i>Streptococcus sp.</i> • kumpulan A • kumpulan B	Endokarditis Pneumonia; meningitis; bakterimia Pneumonia Demam "postpartum" Bakterimia	Ampisilin + gentamisin Penisilin Metisilin; Oksasilin Vankomisin Penisilin Penisilin Penisilin; ampisilin
Basilus Gram positif <i>Actinomyces sp.</i> <i>Bacillus anthracis</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium tetani</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Nocardia sp.</i>	Aktinomikosis Anthraks Gangren gas Tetanus Diphtheria Meningitis; bakterimia Nokardiosis	Penisilin Dosisilin Penisilin + klindamisin Metronidazol Eritromisin Ampisilin Trimethoprim + Sulfamethoksazol
Basilus Gram negatif <i>Bacteroides sp.</i> • strain mulut • strain gastrointestinal <i>Brucella sp.</i> <i>Enterobacter sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Franciella tularensis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella sp.</i> <i>Legionella sp.</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Providencia sp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella sp.</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Yersinia pestis</i>	Jangkitan anerob Bruselosis Jangkitan trak urinari Jangkitan trak urinari Tularemia Meningitis; epiglottis Pneumonia; jangkitan trak urinari Pneumonia; Legionelosis Jangkitan trak urinari Jangkitan trak urinari Tifoid; paratifoid; enteritis Disentri Kolera Plak; yersiniosis	Penisilin Metridazol Doksisilin + rifampin Imipenem Sefalosporin Streptomisin + gentamisin Cefotaksim; cefriakson Sefalosorin Eritromisin + rifampisin Ampisilin
Basilus berasid <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium leprae</i>	Tuberkulosis Penyakit Hansen	
Spiroket <i>Treponema pallidum</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Borrelia recurrentis</i> <i>Leptospira interrogans</i>	Sifilis Penyakit Lyme Demam 'relapsing' Leptospirosis	

Jadual 1.2: Pengelasan antibiotik

Kelas	Contoh
Antibiotik antibakteria β -laktam	Penisilin, kloksasilin, ampisilin, sefalosporin
Makrolida	Eritromisin
Aminoglikosida	Gentamisin, kanamisin, amikasin
Tetrasiklin	Tetrasiklin, deoksisiklin, minosiklin
Poliipeptida	Vankomisin
Sulfonamida	Sulfadiazin, trimetoprim
Linkosamida	Linkomisin, klindamisin
Fluorokuinolon	Enrofloksasin
Lain-lain	Kloramfenikol, nitrofurantoin, isoniazida

1.2.1.2 Mekanisme Tindakan Antibiotik Antibakteria

Terdapat sekurang-kurangnya lima cara tindakan antibiotik antibakteria terhadap sel bakteri yaitu merencat sintesis dinding sel, mengganggu fungsi membran sel, merencat sintesis protein sel, merencat sintesis asid nukleik dan merencat metabolisme sel (Brock *et al.*, 1989). Jadual 1.3 menunjukkan mekanisme atau cara tindakan antibiotik antibakteria dan contoh antibakteria yang terbabit.

Antibiotik yang merencat sintesis dinding sel bakteri termasuklah penisilin, sefalosporin, sikloserin, basitrasin, vankomisin dan ristosetin. Antaranya, penisilin merupakan agen antibakteria yang terawal digunakan dalam kemoterapi. Kumpulan β -laktam mampu merencat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri daripada rantai polisakarida yang dirangkai silang dengan peptida dalam satu konfigurasi yang disebut peptidoglikan (Franklin & Snow, 1971).

Dinding sel bakteri juga mengandungi jaringan makromolekul yang kukuh. Tindak balas transpeptidase merupakan ciri yang penting dalam sintesis dinding sel. Enzim tersebut berupaya terikat kepada penisilin atau antibiotik lain. Pengikatan enzim transpeptidase yang kuat kepada penisilin menyebabkan lapisan peptidoglikan yang terbentuk pada bakteri menjadi lemah dan sel akan pecah. Kejadian ini menyebabkan bakteri mengalami penglisisan sel. Konsep terpenting penggunaan penisilin ialah antibiotik ini dianggap sebagai bakterisid hanya pada sel-sel yang tumbuh. Hal ini

Jadual 1.3: Antibiotik antibakteria dan mekanisme tindakannya
(Brock *et al.*, 1989)

Kelas Antibiotik	Mekanisme tindakan
Aztreonam Basitrasin Isoniazida Penisilin Sefalosporin Sikloserina Vankomisin	Merencat sintesis dinding sel bakteria
Polimiksin	Merencat dan mengganggu fungsi membran sel
Aminoglikosida Azitromisin Kloramfenikol Klaritromisin Klindamisisn Eritromisin Neomisin Spektinomisin Tetrasiklin	Merencat sintesis protein sel
Metronidazol Kuinolon Rifampin	Merencat sintesis asid nukleik
Asid aminosalisilik Sulfonamida Sulfones Trimethoprim	Merencat metabolisme sel

disebabkan oleh bakteria yang tumbuh akan mensintesis dinding sel baru secara berterusan (Franklin & Snow, 1971).

Antibiotik sefalosporin bertindak dengan cara yang sama dengan penisilin. Sefalosporin mampu menentang bakteria yang rintang terhadap penisilin dan adalah baik bagi pesakit yang alah kepada penisilin. Berbagai jenis sefalosporin boleh didapati dan mempunyai ciri-ciri yang berbeza mengikut rantai sisi yang melekat pada terasnya. Basitrasin yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* pula adalah kumpulan antibiotik polipeptida. Basitrasin mampu menghalang pembawa lipid daripada masuk semula ke dalam kitar penghasilan peptidoglikan. Basitrasin terdiri daripada asid amino seperti leusina, fenilalanina, asparagina, histidina, ornitina, lisina dan glutamina (Hammond & Lambert, 1978).

Streptomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol merupakan antibiotik yang merencat sintesis protein pada bakteria. Secara amnya, streptomisin merencat penghasilan asid amino yang normal. Streptomisin berupaya menghalang perlekatan antara kodon mRNA dan antikodon tRNA yang normal. Selain itu, streptomisin juga merencat proses respirasi sel bakteria kerana membran sel akan dimusnahkan semasa antibiotik tersebut diambil masuk ke dalam sel sebelum sampai ke ribosom. Tetrasiklin bersifat kurang toksik kepada manusia berbanding dengan antibiotik yang lain. Tetrasiklin bertindak dengan menghalang tRNA daripada terikat kepada tapak penerima ribosom. Tetrasiklin berupaya membentuk ikatan dengan ion magnesium yang terdapat pada

dinding sel bakteri dan permukaan membran sitoplasma. Tetrasiklin akan dibawa merentasi membran sel lalu dilepaskan ke dalam sitoplasma. Akhirnya antibiotik tersebut menyerang ribosom pada sel bakteri. Rifampin ialah antibiotik yang merencat sintesis mRNA dalam bakteri. Penggunaan antibiotik tersebut dapat menentang mikobakteria dalam rawatan penyakit seperti tuberkulosis (Franklin & Snow, 1971; Hammond & Lambert, 1978; Brock *et al.*, 1989).

Kloramfenikol merupakan antibiotik pertama yang dihasilkan secara kimia. Antibiotik bakterostat tersebut mempunyai spektrum yang luas dengan bertindak terhadap sintesis protein pada ribosom 50S. Kloramfenikol menghalang pengikatan peptida antara asid-asid amino dalam sel bakteri lalu menyebabkan sintesis protein tidak dapat dilakukan oleh bakteri tersebut (Hammond & Lambert, 1978). Namun demikian, penggunaannya boleh mendatangkan kesan sampingan kepada manusia. Kloramfenikol boleh menindas aktiviti sum-sum tulang lalu mengganggu pembentukan sel darah merah perumah (Brock *et al.*, 1989).

Sulfonamida adalah antibiotik sintetik yang merencat proses metabolisme sel dan bertanding dengan faktor pertumbuhan asid p-aminobenzoik (PABA) dalam proses tersebut. Asid p-aminobenzoik adalah penting dalam penghasilan asid folik. Oleh sebab kedua-dua sebatian tersebut mempunyai persamaan struktur, maka bakteri akan menggunakan sulfonamida daripada asid p-aminobenzoik. Penggunaan sulfonamida akan menghasilkan asid folik palsu yang tidak aktif. Asid folik adalah penting dalam

metabolisme sel bakteri kerana ia merupakan ko-enzim yang penting dalam penghasilan asid amino dan nukleotida. Sel mamalia tidak mensintesis asid folik, maka bakteri yang patogen kepada manusia perlu menghasilkan asid folik untuk bermandiri (Hammond & Lambert, 1978). Walau bagaimanapun, mikroorganisma yang tidak mensintesis asid folik tetapi memerlukan asid folik yang tersedia, tidak dapat direncatkan oleh sulfonamida (Sammes, 1978).

Terdapat sebilangan bakteri yang bertindak dengan merencat sintesis asid nukleik. Ini termasuklah rifampisin yang bertindak terhadap sintesis asid ribonukleik (RNA) dan kebanyakan daripada golongan agen antikanser dan antitumor. Sebatian dalam kumpulan ini adalah amat toksik (Hammond & Lambert, 1978).

Beberapa antibiotik antibakteria bertindak dengan merencat sintesis bahan-bahan penting yang diperlukan oleh mikroorganisma. Misalannya, folat atau asid folik yang merupakan kofaktor yang penting bagi sintesis nukleotida di dalam sel bakteri. Sintesis kofaktor yang penting ini dicegah oleh sulfonamida dan trimetoprim. Sulfonamida mencegah sintesis asid dihidrofolik daripada PABA (para-amino benzoic acid) manakala trimetoprim pula mencegah sintesis asid tetrahidrofolik daripada asid dihidrofolik. Tindakan kedua-dua agen ini adalah secara sinergistik. Sulfametoksazol iaitu sejenis sulfonamida digunakan dalam bentuk gabungan dengan trimetoprim. Gabungan ini dikenali sebagai kotrimoksazol (Lim, 1984).

1.2.2 Antibiotik Antikulat

Proses penyelidikan dan pembangunan agen antikulat yang baru merupakan suatu proses yang agak memakan masa dan melibatkan kos yang tinggi. Jangkitan kulat termasuk yis telah menjadi masalah yang sering dihadapi kerana peranannya sebagai jangkitan pengambil peluang pada individu yang mengalami imuno tertindas, terutamanya pesakit AIDS, kanser dan pesakit yang menerima rawatan antibiotik yang berpanjangan. Jangkitan kulat amat sukar dirawat berbanding dengan jangkitan bakteria (Andriole, 1999). Keadaan ini disebabkan oleh struktur dan metabolisme kulat yang lebih mirip kepada sel manusia. Beberapa kemoterapi telah dikenalpasti berkesan dalam rawatan jangkitan kulat tetapi ia boleh menimbulkan masalah kesan sampingan yang serius ke atas sel sasaran pada manusia (Canuto & Rodero, 2002).

Jangkitan kulat terutamanya jangkitan secara sistemik telah menjadi masalah yang besar kepada para doktor (Collier *et al.*, 1998). Hal ini disebabkan oleh kurangnya pengetahuan mereka tentang kulat dan jangkitan yang disebabkan. Satu lagi masalah ialah kesukaran untuk mendapat pilihan antibiotik antikulat di pasaran untuk rawatan klinikalnya. Sebenarnya jangkitan kulat tidak dikaji dengan begitu mendalam kerana jangkitan oleh kulat patogen ke atas pesakit adalah tidak seteruk jangkitan oleh bakteria atau virus yang kadar kematian adalah lebih tinggi. Sebaliknya, kadar kematian yang disebabkan oleh jangkitan kulat adalah rendah. Walau bagaimanapun, kematian melibatkan pesakit imuno tertindas yang dijangkiti kulat terutamanya yis patogen seperti *Candida sp.* adalah agak tinggi (Gupte *et al.*, 2002).

1.2.2.1 Pengelasan dan Mekanisme Tindakan Antibiotik Antikulat

Sejak penemuan griseofulvin iaitu sebatian antikulat yang pertama dikomersilkan untuk merawat jangkitan kulat, terdapat banyak penemuan baru tentang sebatian bioaktif yang bersifat antikulat sama ada secara semulajadi ataupun sintesis (Gupte *et al.*, 2002). Sehingga kini, terdapat pelbagai kumpulan antikulat yang baik digunakan untuk rawatan jangkitan kulat sama ada jangkitan superfisial, kutan, subkutan mahupun sistemik. Di antara kumpulan atau kelas antibiotik antikulat yang digunakan termasuklah azol dan terbitannya, poliena, morfolina, aliamina dan thiokarbamat, analog nukleosida, antikulat lipopeptida dan griseofulvin (Gupte *et al.*, 2002). Jadual 1.4 menyenaraikan kumpulan utama antikulat yang digunakan di peringkat klinikal. Agen antikulat merupakan sekumpulan sebatian yang dihasilkan oleh mikroorganisma yang mampu membunuh atau merencat pertumbuhan kulat atau yis. Pada asasnya, mekanisme tindakan agen antikulat termasuklah merencat biosintesis protein, merencat biosintesis dinding sel, merencat biosintesis lipid, mengganggu sistem pengangkutan elektron dan sebagainya (Tomsikovo *et al.*, 1969; Georgopapadakou & Tkacz, 1995).

Kumpulan azol dan terbitannya adalah kumpulan antikulat sintetik seperti mikonazol, ekonazol, ketokonazol, flukonazol, itrakonazol dan vorikonazol yang merupakan dadah antikulat yang penting untuk merawat jangkitan kulat termasuk jangkitan sistemik (Uchida *et al.*, 2003). Kumpulan azol merencat pembentukan sterol di dalam membran sel kulat seperti *Aspergillus sp.* dan yis seperti *Candida albicans*. Ergosterol bertindak sebagai biopengawalatur bendalir membran dan integriti dinding sel kulat. Pada

Jadual 1.4: Kumpulan antibiotik antikulat utama (Gupte *et. al.*, 2002)

Kelas dan sebatian	Cara penggunaan	Mekanisme tindakan
Poliena Amfoterisin B	Sistemik	Berinteraksi dengan ergosterol; mengganggu membran sitoplasma
Nistatin	Topikal	Melekat pada sterol di dalam membran sel dan menyebabkan pengubahsuaian dalam ketelapan membran
Azol Mikonazol	Topikal	Berinteraksi dengan sitokrom P-450; merencat demetilasi lanosterol pada C-14 menyebabkan kekurangan ergosterol dan penambahan sterol di dalam membran sel
Ketokonazol	Sistemik	
Flukonazol	Sistemik	
Itrakonazol	Sistemik	
Vorikonazol	Sistemik	
Griseofulvin	Topikal dan sistemik	Mengganggu mitosis sel lalu menyebabkan sintesis DNA cacat
Morfolina Amorolfina	Topikal	Merencat sterol ruduktase dan isomerase
Alilamina dan thikarbamat Naftifina	Topikal	Merencat oksido skualen siklase yang menyebabkan kekurangan ergosterol dan pengumpulan skualen oksida di dalam membran sel
Terbinafina	Sistemik	
Tolnaftat	Topikal	
Analog nukleosida 5-Fluorositosina (5FU)	Sistemik	Akan dideaminasikan menjadi 5-FU yang menyebabkan berlakunya tersalah kod dan ini akan merencat sisntesis DNA
Antikulat lipopeptida Ekinokandin B	Sistemik	Perencat β -1,3-glukan sintase, iaitu enzim utama dalam biosintesis glukan
Asulaesins	Sistemik	
Pneumokandin	Sistemik	
Papulakandin	Sistemik	
Kaspofungin	Sistemik	

awalnya kumpulan azol bertindak dengan merencat sitokrom P450 14 α -demetilase (P45014_{DM}) dalam tapak jalan biosintesis lanosterol kepada ergosterol (Collier *et al.*, 1998). Ketiadaan ergosterol akan digantikan oleh sterol lain. Keadaan ini menyebabkan ketelapan normal membran sel kulat berubah (Volkman, 2003).

Terapi antikulat untuk kebanyakan jangkitan kulat mengeksploitasikan perbezaan membran plasma di antara kulat dan manusia. Terdapat dua kumpulan antikulat yang aktif, iaitu kumpulan poliena dan azol (Jansen *et al.*, 1991). Antibiotik dalam kumpulan poliena mengandungi suatu molekul kumpulan organik kompleks. Poliena mempunyai sekurang-kurangnya dua ikatan dubel dan juga cecincin makrosiklik. Poliena merupakan agen antikulat yang melekat kepada ergosterol lalu mengganggu ketelapan membran kulat. Ahli-ahli dalam kumpulan poliena yang biasa digunakan ialah nistatin dan amfoterisin B. Kedua-duanya dihasilkan oleh aktinomiset *Streptomyces sp.* (Gupte *et al.*, 2002). Nistatin dihasilkan oleh *Streptomyces noursei* manakala amfoterisin B pula dihasilkan oleh *Streptomyces nodulosus* (Black, 2002). Amfoterisin B biasanya digunakan untuk merawat jangkitan kulat yang disebabkan oleh patogen dimorfik. Amfoterisin B juga bertindak sebagai agen antiyis dalam haiwan. Walau bagaimanapun, amfoterisin B mendatangkan kesan sampingan kepada ginjal manusia yang lama-kelamaan akan menyebabkan kegagalan fungsi ginjal. Agen antikulat yang baru, amfoterisin B liposom dipercayai dapat bertindak dengan lebih berkesan. Amfoterisin B bertindak dengan terikat kepada sterol utama dalam membran sel lalu mengganggu fungsi membran. Agen antikulat lain dalam kumpulan poliena

termasuklah griseofulvin, filipin, natamisin, trikomisin, kandisidin, kandidin, namisin dan etrukomisin. Kandisidin dan pimarisin digunakan dalam rawatan jangkitan kulat (Andriole, 1999; Canuto & Rodero, 2002).

Kebanyakan sebatian antimikrob bertindak terhadap struktur dan fungsi mikroorganisma (Georgopapadakou & Tkacz, 1995). Contohnya poliosin berupaya merencat sintesis kitin dalam pembentukan dinding sel. Terdapat juga antibiotik yang merencat biosintesis folat dengan bertindak terhadap topologi DNA. Flusitosin pula agen antikulat sintetik yang sering digunakan untuk merawat penyakit kandidiasis, kromomikosis dan aspergilosis sistemik, sama ada secara bersendirian atau gabungan dengan amfoterisin B. Flusitosin juga dikenali sebagai 5-fluoro-sitosin (5FC), iaitu analog nukleosida (Gupte *et al.*, 2002). Oleh itu, 5FC boleh bertindak sebagai pengganggu kepada metabolisme pirimidin dan sintesis RNA, DNA dan protein sel kulat (Hazarina, 2004). Griseofulvin pula dihasilkan oleh kulat *Penicillium griseofulvum*. Agen antikulat ini merupakan antibiotik yang melekat kepada protein mikrotubul yang amat penting dalam proses mitosis (Gupte *et al.*, 2002).

Pada masa kini, banyak kajian telah dijalankan untuk mendapatkan sebatian bioaktif yang bersifat antimikrob. Setakat ini, agen antimikrob yang berkesan secara klinikal belum ditemui lagi. Penemuan antibiotik baru haruslah berlandaskan sebatian bioaktif yang mampu memerangi sifat kerintangan mikroorganisma.

1.3 SUMBER ANTIBIOTIK

Pada masa kini, banyak antibiotik telah ditemui. Kebanyakannya berasal daripada sumber semula jadi. Antibiotik juga boleh dihasilkan secara sintetik dengan menggunakan bahan kimia. Dengan demikian, banyak kajian telah dijalankan terhadap mikroorganisma, haiwan, organisma marin dan juga tumbuhan yang dikenalpasti mempunyai nilai perubatan yang tinggi. Secara umumnya, kaedah pendekatan yang paling efektif kepada penemuan antibiotik adalah melalui penyaringan sumber-sumber semulajadi (Thrupp, 1980; Rios *et al.*, 1988; Chan & Raikhan, 1991; Cowan, 1999; Pelka *et al.*, 2000; Rahman *et al.*, 2001).

1.3.1 Sumber Tumbuhan Daratan

Kebanyakan spesies tumbuh-tumbuhan daratan didapati mengandungi bahan bioaktif atau metabolit sekunder yang bertindak sebagai sebatian antimikrob. Sebatian bioaktif daripada tumbuhan dapat dipisahkan kepada dua kumpulan iaitu bahan aktif farmaseutis dan bahan aktif farmakologi. Perbezaan di antara kedua-duanya adalah bahan aktif farmaseutis yang boleh menyebabkan pemendakan kimia atau perubahan kimia lain semasa penyediaan ubatan dilakukan. Bahan aktif farmakologi pula adalah bahan aktif yang sesuai digunakan untuk terapi (Cowan, 1999). Tumbuhan merupakan sumber antibiotik yang amat penting dalam perubatan tradisional, terutamanya tumbuhan herba daripada sumber semulajadi. Jadual 1.5 menunjukkan sebahagian daripada aktiviti mikroorganisma yang ditunjukkan oleh tumbuhan. Tumbuhan di Malaysia mengandungi sebatian-sebatian bioaktif yang

**Jadual 1.5 : Aktiviti antimikrob daripada tumbuhan
(Cowan, 1999)**

Nama biasa	Nama saintifik	Mikroorganisma sasaran
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Bakteria Gram positif
Selasih	<i>Ocimum basilicum</i>	Bakteria (khususnya <i>Salmonella</i> sp.)
Beri biru	<i>Vaccinium</i> sp.	Bakteria (khususnya <i>E.coli</i>)
Kamomil	<i>Matricaria chamomilla</i>	<i>S. aureus</i> ; <i>Salm. typhimurium</i> ; <i>M. tuberculosis</i>
Cili	<i>Capsicum annum</i>	Bakteria
Koka	<i>Erythroxylum koka</i>	Bakteria
Kayu putih	<i>Eucalyptus glabulus</i>	Bakteria
Ginseng	<i>Panax notoginseng</i>	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i>
Inai	<i>Lawsonia inermis</i>	<i>S. aureus</i>
Pala	<i>Myristica fragrans</i>	Bakteria
Bawang	<i>Allium cepa</i>	Bakteria
Kunyit	<i>Curcuma longa</i>	Bakteria
Gelenggang besar	<i>Cassia alata</i>	Kulat dan yis
Limau	<i>Citrus sinensis</i>	Kulat
Cabai kurap	<i>Rhinacanthus nasutus</i>	Kulat dan yis
Lemba	<i>Curculigo latifolia</i>	Yis
Grapefruit	<i>Citrus paradisa</i>	Kulat dan yis

mempunyai aktiviti antimikrob terhadap pelbagai mikroorganisma patogen. Malah, Santos dan rakan-rakannya (Santos *et al.*, 1978) telah mengklasifikasikan bahan atau sebatian bioaktif farmakologi daripada tumbuhan kepada tujuh kelas utama iaitu alkaloid, saponin, glikosida kardium, flavonoid, sebatian polifenol, kuinon dan glikosida sianogenik. Kebanyakan aktiviti antimikrob yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan adalah terdiri daripada alkaloid. Misalannya, sebatian alkaloid yang diekstrak daripada *Thalictrum longistylum* didapati mampu membunuh sel bakteria *Staphylococcus aureus* dan *Mycobacterium smegmatis*. Begitu juga alkaloid daripada *Ageratum conyzoides* yang dapat membunuh *S. aureus* dan alkaloid daripada *Nauclea latifolia* (Deeni & Hussain, 1991).

Selain daripada itu, sebatian flavonoid juga penting. Misalannya sebatian flavonoid yang diekstrak daripada *Avicennia sp.* yang didapati berkesan untuk membunuh *S. aureus* dan *Bacillus cereus* (Chan & Abu Raihan, 1991). Xanton yang diekstrak daripada pokok *Aralia mandshuria* boleh merencat tumbesaran *M. tuberculosis* dan *Microsporum lanasum* (Fasihuddin & Che Wan Zanariah, 1991). Sebatian triterpenoid glikosida yang diekstrak daripada batang pokok *Pithecellobium racemosum* juga dilaporkan berupaya merencat pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* dan *S. cerevisiae* (Khan *et al.*, 1997). Selain daripada sebatian-sebatian di atas, minyak pati yang dihasilkan daripada *Curcuma sp.* boleh membunuh kulat patogen seperti *Candida sp.* dan *Trichosporon sp.* manakala minyak pati daripada *Luvunga scandens* pula mempunyai aktiviti perencatan terhadap kulat *Aspergillus sp.* dan *Penicillium sp.* (Cowan, 1999).

Antibiotik daripada sumber tumbuhan mempunyai banyak kelebihan berbanding dengan sumber lain. Sebatian bioaktif daripada tumbuhan didapati lebih stabil dan kurang mendatangkan kesan sampingan kepada perumah. Jadual 1.6 menunjukkan kelas-kelas utama sebatian antimikrob daripada tumbuhan manakala Jadual 1.7 pula menunjukkan kumpulan-kumpulan utama yang terdapat di dalam kelas fenol dan polifenol yang mempunyai sebatian bioaktif. Kelas fenol dan polifenol merupakan kumpulan utama yang mempunyai sebatian antimikrob dan sebatian bersifat bioaktif pada tumbuhan.

Kini, banyak kajian dan ulasan telah dilakukan terhadap sebatian-sebatian yang mempunyai aktiviti antimikrob yang mampu merencat atau membunuh bakteria dalam sistem badan manusia. Antaranya ialah kajian dan ulasan oleh Cowan, 1999; Premanathan *et. al.*, 1999; Jassim & Naji, 2003. Pengasingan sebatian aktif daripada tumbuhan dapat dikelaskan kepada dua kaedah, iaitu penyaringan secara biologi dan juga penyaringan fitokimia yang dapat menentukan jenis sebatian yang wujud dalam tumbuhan.

1.3.2 Sumber Mikroorganisma Daratan

Sejak Sir Alexander Fleming menemui penisilin pada tahun 1929, mikroorganisma telah dikenalpasti sebagai suatu sumber yang penting dalam penghasilan pelbagai jenis antibiotik. Sebilangan besar mikroorganisma yang didapati menghasilkan sebatian antibiotik telah dipencilkan daripada persekitaran semula jadi. Setiap jenis daripadanya diuji terhadap pelbagai jenis mikroorganisma. Kebanyakan mikroorganisma ini dipencilkan dan dikulturkan

**Jadual 1.6: Kelas utama sebatian antimikrob daripada tumbuhan
(Cowan, 1999)**

Kelas	Subkelas	Contoh sebatian	Mekanisme tindakan
Fenol	Fenol ringkas	Katecol Epiketecin	Pengurangan substrat Gangguan membran sel
	Asid fenolik	Asid sinamik	Terikat kepada adesein membentuk kompleks dengan dinding sel, menyahaktifkan enzim
	Kuinon	Hiperisin	
	Flavonoid	Krisin	Terikat kepada adenosin
	Flavon		Membentuk kompleks dengan dinding sel
		Abisinon	Menyahaktifkan enzim, merencat enzim transkriptase berbalik HIV
	Flavonol	Totarol	Tidak pasti
	Tanin	Elagitanin	Berikat kepada protein, berikat kepada adesein, merencat enzim, membentuk kompleks dengan dinding sel, gangguan membran sel
	Koumarin	Warfarin	Membentuk kompleks dengan ion logam
Terpenoid, minyak pati		Kapsaisin	Mewujudkan aktiviti antivirus dengan berinteraksi dengan DNA eukariot
Alkaloid		Barberin Piperin	Gangguan membran sel
Lektin dan polipeptida		Aglutinin menghusus - manosa	Interkalari ke dalam dinding sel dan/atau DNA
		Fabatin	Menyekat penyatuan atau penjerapan virus

Jadual 1.7: Kumpulan sebatian utama dalam kelas fenol dan polifenol

Kumpulan utama sebatian	Sebatian yang terkandung di dalamnya
Asetofonon Benzofuran Kromon Koumarin Flavonoid	Antosianidin Antosianin Auron Kalkon Flavanol Flavanon Flavon Flavonol Isoflavon Proantosianidin
Asid fenolik Fenol ringkas Fenil propanoid	Asid sinamik Asid kafeik Asid hidrosinamik Lignin Fenil propen
Kuinson	Antrakuinson Benzokuinson Naftokuinson
Stilben (Stilbenoid) Xanton Tanin	