

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Infeksi merupakan masalah penting yang banyak dijumpai pada kehidupan sehari-hari. Kasus infeksi dapat disebabkan oleh bakteri dan mikroorganisme yang patogen. Mikroba akan masuk ke dalam tubuh dan berkembang biak dalam jaringan (Waluyo, 2004).

Penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat di antaranya infeksi *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia coli* dan infeksi kulit karena *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* merupakan flora normal pada usus manusia tetapi juga sering menyebabkan infeksi saluran kemih, diare, dan penyakit lainnya. Hal ini berkaitan dengan kemampuan strain *E. coli* tertentu dalam membentuk enterotoksin yang berperan dalam pengeluaran cairan dan elektrolit (Anonim, 2004). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen utama pada manusia yang dapat menimbulkan penyakit yang terjadi pada hampir semua organ atau jaringan tubuh (Shulman *et al.*, 1994).

Penelitian zat yang berkhasiat sebagai antibakteri perlu dilakukan untuk menemukan produk antimikroba yang berpotensi untuk menghambat dan membunuh bakteri dengan harga yang terjangkau. Alternatif untuk menemukan produk antimikroba adalah dengan memanfaatkan zat aktif yang terkandung dalam tanaman (Widjajanti, 1999).

Berdasarkan beberapa penelitian ilmiah, kulit dan biji kelengkeng memiliki berbagai senyawa kimia. Penelitian Jaitrong *et al.* (2006) melaporkan

bahwa kandungan kimia dalam kulit kelengkeng adalah asam galat, glikosida flavon, dan hidroksinamat dengan kandungan utama flavon berupa kuersetin dan kaemferol. Ekstrak kloroform batang kelengkeng ( $100 \mu\text{g disk}^{-1}$ ) juga memiliki potensi terhadap jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* (Rahman *et al.*, 2007). Biji kelengkeng mengandung senyawa fenolik seperti *corilagin*, asam galat, dan asam ellagat (Soong and Barlow, 2005).

Fraksi eter, kloroform, dan etil asetat daun dan cabang kelengkeng mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antioksidan, dan toksik terhadap *Artemia salina* L. (metode BST). Fraksi eter daun dan cabang kelengkeng tidak menunjukkan aktivitas terhadap bakteri patogen yang diuji, kecuali *E. coli*. Fraksi kloroform daun dan cabang kelengkeng ( $500 \mu\text{g disk}^{-1}$ ) mempunyai aktivitas antibakteri yang baik dengan zona hambat 13-21 mm di antara bakteri uji. Ekstrak etil asetat cabang dan daun kelengkeng mempunyai aktivitas antibakteri melawan pertumbuhan dari bakteri *Sarcina lutea* (20 mm), *Vibrio mimicus* (18 mm), *Salmonella thypi* (18 mm), *E. coli* (17 mm), dan *S. aureus* (14 mm) (Ripa *et al.*, 2010).

Penelitian Syarifah (2010) menyebutkan bahwa minyak dari biji kelengkeng berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan metode *tube dilution test*. Minyak biji kelengkeng lokal agak basah memiliki potensi paling besar dibandingkan dengan yang lainnya, yaitu sebesar 45,74%, sedangkan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dari minyak biji kelengkeng lokal kering, impor agak basah, dan impor kering sebesar 31,38%; 13,30%; dan 23,67%. Pada uji ketoksikan (BST) ekstrak kloroform dan etil asetat daun dan

cabang kelengkeng mempunyai aktivitas toksik yang kuat. Nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak kloroform daun dan cabang kelengkeng adalah 8,802 dan 9,587 µg/mL, sedangkan pada ekstrak etil asetat daun dan cabang kelengkeng diperoleh nilai LC<sub>50</sub> sebesar 9,248 dan 10,45 µg/mL (Ripa *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian tersebut, tanaman kelengkeng terbukti mempunyai senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan, terutama pada bagian kulit dan bijinya. Namun sampai saat ini, kulit dan biji kelengkeng belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dan hanya berakhir sebagai limbah. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach serta mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas perumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Apakah ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) mempunyai efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach?
3. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud)?

### C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Menentukan efek toksik ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.
3. Memberikan informasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud).

### D. Tinjauan Pustaka

#### 1. Tanaman Kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud)

##### a. Sistematika

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak kelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Sapindaceae
Marga	: Euphoria
Jenis	: <i>Euphoria longan</i> (Lour.) Steud
Sinonim	: <i>Euphoria longana</i> Lamk., <i>Dimocarpus longan</i> Lour., <i>Nephelium longana</i> Cambess.

(Cronquist, 1981)

## b. Kandungan

Daun kelengkeng telah banyak digunakan pada pengobatan tradisional. Kandungan pada daun kelengkeng yaitu kuersetin (Morton, 1987). Pada biji kelengkeng terdapat senyawa fenolik (Soong and Barlow, 2005). Kulit kelengkeng mengandung asam galat, glikosida flavon, dan hidrosinamat dengan kandungan utama flavon berupa kuersetin dan kaemferol (Jaitrong *et al.*, 2006). Batang kelengkeng mengandung *scopoletin* dan *stigmasterol* (Rahman *et al.*, 2007). Kandungan kimia pada buah kelengkeng adalah glukosa 27%, sukrosa, asam tartat, vitamin A dan vitamin B, saponin, tanin, dan lemak (Anonim, 1999).

## 2. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Ada beberapa metode dasar ekstraksi yang dipakai untuk penyarian yaitu :

### a. Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan banyak digunakan untuk mencari bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Simplisia ini direndam dalam penyari sampai meresap dan melemahkan susunan sel sehingga zat-zat akan larut. Serbuk simplisia yang akan disari, dimasukkan pada wadah bejana yang bermulut besar, ditutup rapat kemudian dikocok

berulang-ulang, sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia (Ansel, 1989).

#### b. Perkolasi

Perkolasi adalah suatu cara penarikan memakai alat yang disebut perkolator, yang simplisianya terendam dalam cairan penyari dimana zat-zatnya terlarut dan larutan tersebut akan menetas secara berurutan keluar sampai memenuhi syarat-syarat yang telah ditetapkan. Pada proses penarikan ini, cairan penyari akan turun perlahan-lahan dari atas melalui simplisia. Bahan pengestraksi yang dialirkan secara berkelanjutan dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar (Voight, 1995).

#### c. Sokletasi

Bahan yang akan disari berada dalam suatu kantong ekstraksi (kertas saring) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu. Wadah gelas yang di dalamnya terdapat kantong yang berisi simplisia tadi diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin alir balik dengan dihubungkan melalui pipet. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap dan jika diberi pemanasan, pelarut tersebut akan menguap mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, pelarut itu berkondensasi di dalamnya, menetes ke bahan yang disari. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimum secara otomatis ditarik ke dalam wadah gelas dan ke dalam labu, dengan demikian zat yang tersari terkumpul ke dalam labu tersebut (Voight, 1995).

### 3. *Escherichia coli*

Klasifikasi dari *E. coli* sebagai berikut :

Kingdom	: Prokaryotae
Divisio	: Protophyta
Sub divisio	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacterials
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Salle, 1961)

*Escherichia coli* adalah kuman oportunitis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. *E. coli* berbentuk batang pendek berukuran 2,4  $\mu\text{m}$  x 0,4  $\mu\text{m}$  sampai 0,7  $\mu\text{m}$ , termasuk Gram negatif tidak bersimpai, bergerak aktif, dan tidak berspora. Bakteri ini bersifat aerob atau fakultatif aerob dan tumbuh pada pembenihan biasa (Gupte, 1990).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *E. coli* yaitu 37° C. *E. coli* dapat meragi laktosa, glukosa, sukrosa, maltosa, dan manitol dengan asam dan gas. Pada uji indol dan uji merah metil menunjukkan hasil positif (+), sedangkan pada uji proskauer dan uji sitrat menunjukkan hasil negatif (-). *E. coli* tidak menghidrolisis urea dan tidak membentuk H<sub>2</sub>S (Gupte, 1990).

Dinding sel bakteri Gram negatif merupakan struktur yang berlapis-lapis dan sangat kompleks. Komponen khusus dinding sel merupakan selaput ganda fosfolipid ini diganti dengan molekul polisakarida. Bakteri *E. coli* pada umumnya

tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu, peritonium dan saluran otak bila mencapai jaringan di luar saluran pencernaan (Jawetz *et al.*, 1991).

*E. coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi. Pada media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enterik, sebagian besar strain *E. coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa dan bersifat mikroaerofilik (Anonim, 1994).

#### **4. *Staphylococcus aureus***

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* :

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycets

Bangsa : Eubacteriales

Marga : *Staphylococcus*

Jenis : *Stapylococcus aureus*

(Salle,1996)

*Staphylococcus aureus* termasuk dalam golongan bakteri Gram positif yang tidak bergerak aktif dan tidak membentuk spora. Sel berbentuk bola dengan diameter kira-kira 1  $\mu\text{m}$ . Biasanya tersusun dalam kelompok-kelompok atau gerombolan yang menyerupai buah anggur. Kuman ini mudah tumbuh pada berbagai pembenihan bakteriologik baik dalam keadaan aerobik atau mikro



aerobik dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz, *et al.*, 1991).

Sifat khas *Staphylococcus aureus* yang digunakan untuk membedakan dari *Staphylococcus* lain adalah *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol, mampu menghasilkan enzim koagulase dan endokulase serta menghasilkan enterotoksin, sedangkan yang lain tidak. *S. aureus* mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologi dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37° C, tapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20° C). Koloni *S. aureus* pada pembenihan padat berbentuk bulat halus menonjol berkilau-kilauan dan membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al.*, 1991).

*S. aureus* bersifat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Bakteri tersebut dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan karena kemampuannya menghasilkan banyak zat ekstraseluler (Jawetz *et al.*, 1991).

## **5. Antibakteri**

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 2001).

Suatu zat antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif. Istilah ini berarti suatu obat berbahaya bagi parasit tetapi tidak membahayakan inang. Toksisitas selektif bersifat relatif dan bukan absolut. Hal ini menyatakan bahwa konsentrasi obat-obatan yang toleran terhadap inang, mungkin merusak mikroorganisme penyebab infeksi. Toksisitas selektif dapat berupa fungsi dari reseptor khusus yang dibutuhkan untuk perlekatan obat, atau dapat bergantung pada penghambatan proses biokimia yang penting bagi organisme namun tidak untuk sel inang (Jawetz *et al.*, 2001).

## **6. Mekanisme Kerja Antibakteri**

Kemoterapeutik mikroba dapat digolongkan atas dasar mekanisme kerjanya yaitu zat bakterisid dan zat bakteriostatik. Zat bakterisid berkhasiat memastikan kuman masih tergantung dari kesanggupan reaksi sedangkan zat bakteriostatik berkhasiat menghentikan pertumbuhan kuman. Penggolongan yang juga sering digunakan adalah berdasarkan luas aktivitasnya, artinya terhadap banyak atau sedikitnya jenis, yaitu antibiotik dengan aktivitas luas dan sempit (Tjay, 2002).

Pemusnahan mikroba dengan antimikroba yang bersifat bakteriostatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh hospes. Peranan lamanya kontak antara mikroba dengan antimikroba dalam kadar efektif juga sangat menentukan untuk mendapatkan efek. Berdasarkan mekanisme kerjanya antibakteri dibagi dalam 4 kelompok, yaitu:

- a. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri. Penghambatan reaksi dalam proses sintesis dinding sel, dapat menyebabkan tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka perusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis.
- b. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida.
- c. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.
- d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua subunit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA yang menjadi ribosom 70S (Setiabudy dan Gan, 1995).

## **7. Uji Aktivitas Antibakteri**

Pengaruh potensi antibakteri dari suatu zat dapat dilakukan dengan cara:

- a. Dilusi cair atau dilusi padat

Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme.

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar kemudian ditanami bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Anonim, 1994).

#### b. Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz *et al.*, 2001).

Dalam metode ini ada beberapa cara yaitu cara sumuran, Kirby Bauer, dan *Pour Plate*.

##### 1) Cara Kirby Bauer

Suspensi bakteri dengan konsentrasi  $10^8$  CFU per mL dioleskan pada media agar hingga rata, kemudian kertas samir (*disk*) diletakkan di atasnya.

Hasilnya dibaca:

- a) *Radical zone* yaitu suatu daerah di sekitar *disk* di mana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.

b) *Irradical zone* yaitu suatu daerah di sekitar *disk* yang pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Lorian, 1980).

## 2) Cara Sumuran

Suspensi bakteri dengan konsentrasi  $10^8$  CFU per mL dioleskan pada media agar hingga rata, kemudian media agar dibuat sumuran, diteteskan ke dalam larutan antibakteri. Hasilnya dibaca seperti cara Kirby Bauer (Lorian, 1980).

## 3) Cara *Pour Plate*

Suspensi bakteri yang telah ditambahkan dengan akuades dan agar base, dituang pada media agar Mueller Hinton, *disk* diletakkan di atas media. Hasilnya dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri (Lorian, 1980).

## 8. Toksisitas

Uji toksisitas dengan hewan uji *Artemia salina* dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah ke uji sitotoksik, karena ada kaitan antara uji toksisitas akut dengan uji sitotoksik jika harga  $LC_{50}$  dari toksisitas akut  $< 1000 \mu\text{g/mL}$ .

Pada hewan percobaan untuk harga  $LC_{50}$  dibedakan menjadi :

1. Toksik ( $LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ )
2. Tidak toksik ( $LC_{50} \geq 1000 \mu\text{g/mL}$ )

(Meyer *et al.*, 1982 *cit* Wayuni, 2003)

## 9. *Artemia salina* Leach

### a. Klasifikasi

*Artemia* merupakan bangsa udang-udangan yang diklasifikasi sebagai berikut :

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustaceae
Sub kelas	: Branchiopoda
Ordo	: Anostraca
Familia	: Artemidae
Genus	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia salina</i>

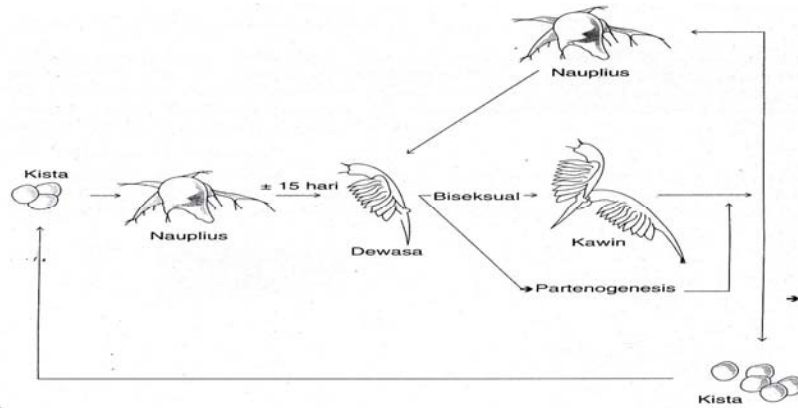
(Bougis, 1979)

### b. Morfologi

*Artemia* dijualbelikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut dengan kista. Kista ini apabila dilihat dengan mata telanjang berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter berkisar antara 200-350 mikron. Satu gram kista *Artemia* kering rata-rata terdiri atas 200.000-300.000 butir kista. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasi dalam air bersalinitas 5-70 mil (Isnansetyo, 1995).

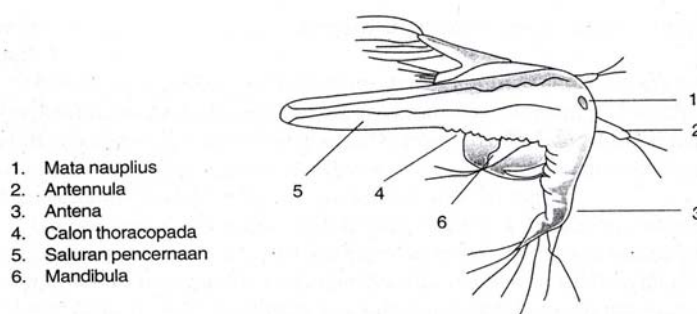
Ada beberapa tahapan proses penetasan *Artemia* ini yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya adalah

tahap pecah cangkang dan disusul dengan tahap payung yang terjadi beberapa saat sebelum nauplius keluar dari cangkang (Gambar 1).



**Gambar 1. Tahap Penetasan *Artemia salina* L. (diadaptasi dari Isnansetyo, 1995).**

*Artemia* yang baru menetas disebut nauplius. Nauplius berwarna orange, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg. Ukuran-ukuran tersebut sangat bervariasi tergantung strainnya. Nauplius mempunyai sepasang antenulla dan sepasang antena. Antenulla berukuran lebih kecil dan pendek dibandingkan dengan antena. Disamping itu di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut dengan ocellus. Sepasang mandibula rudimenter terdapat di belakang antena. Morfologi nauplius disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2. Morfologi Nauplius (diadaptasi dari Isnansetyo, 1995).**

Nauplius berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologi dengan 15 kali pergantian kulit hingga menjadi dewasa. Pada setiap tingkatan pergantian kulit disebut dengan instar, sehingga dikenal instar I hingga instar XI. Setelah cadangan makanan yang berupa kuning telur habis dan saluran pencernaan berfungsi, nauplius mengambil makanan ke dalam mulutnya dengan menggunakan setae pada antenna. *Artemia* mulai mengambil makanan setelah mencapai instar II. Saat instar kedua, pada pengikat antenanya tumbuh gnatobasen setiap menyerupai dan menghadap ke belakang. Perubahan morfologis secara mencolok terjadi setelah masuk instar X (Isnansetyo, 1995).

#### c. Lingkungan hidup

*Artemia* banyak ditemukan di danau-danau yang kadar garamnya sangat tinggi disebut juga *brine shrimp*. *Artemia* hidup di perairan yang berkadar garam tinggi, yaitu 15-300 per mil. Suhu yang dikehendaki berkisar antara 25-30°C (Mudjiman, 2000). Keasaman air (pH) juga akan mempengaruhi kehidupan *Artemia*. Seperti halnya hewan-hewan yang hidup di air laut, *Artemia* juga membutuhkan pH air yang sedikit bersifat basa untuk kehidupannya. Agar tumbuh dengan baik maka pH air yang digunakan untuk budidaya berkisar antara 7,5-8,5 (Isnansetyo, 1995).

#### d. Perkembangbiakan

Menurut cara reproduksinya, *Artemia* dipilih menjadi 2 yaitu *Artemia* yang bersifat biseksual dan *Artemia* yang bersifat partenogenetik. Keduanya mempunyai cara berkembangbiak secara seksual. Untuk perkembangbiakannya didahului dengan perkawinan antara jantan dan betina, sedangkan *Artemia*



partenogenetik berkembangbiak secara partenogenetik, yaitu betina menghasilkan telur atau nauplius tanpa adanya pembuahan (Mudjiman, 2000).

## 10. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan secara fisika kimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang akan ditotolkan pada plat dengan bentuk bercak atau pita. Setelah plat dimasukkan dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembang). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Stahl, 1985).

### a. Fase diam

Fase diam dalam KLT merupakan suatu lapisan dibuat dari bahan berbulir halus yang ditempatkan pada suatu lempengan. Sifat yang penting dari fase diam adalah besar partikel dan homogenitas. Besar partikel yang umum digunakan adalah 1-25  $\mu\text{L}$ . Partikel yang butirannya kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan (Sastrohamidjojo, 2002).

Fase diam yang umum digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub>, aluminium oksida, kieselgur, selulosa, dan poliamida. Silika gel GF<sub>254</sub> merupakan fase diam yang paling sering digunakan (Stahl, 1985). Silika gel yang digunakan kebanyakan diberi pengikat yang dimaksudkan untuk memberikan kekuatan pada lapisan dan menambah adesi pada gelas penyokong. Pengikat yang digunakan

kebanyakan kalsium sulfat. Biasanya dalam perdagangan, silika gel telah diberi pengikat sehingga tidak perlu mencampur sendiri (Sastrohamidjojo, 2002).

#### b. Fase gerak

Pemilihan fase gerak sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin. Salah satu alasannya adalah untuk mengurangi serapan setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen mempunyai sifat polar tinggi (terutama air) dalam campuran akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang baik akan memberikan fase gerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dicegah sejauh mungkin mencampur lebih dua komponen, terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan fase terhadap perubahan suhu (Sastrohamidjojo, 2002).

#### c. Parameter

Parameter pada kromatografi lapis tipis adalah faktor retensi ( $R_f$ ), merupakan perbandingan jarak yang ditempuh solut dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Adapun rumusnya sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak pusat dari titik awal (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \quad (1)$$

Angka  $R_f$  berjarak antara 0,00 sampai 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal.  $hR_f$  adalah angka  $R_f$  dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai yang berjangka 0 sampai 100 (Stahl, 1985). Harga  $R_f$  dipengaruhi struktur kimia senyawa dari senyawa yang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, pelarut (derajat

kemurniannya) fase bergerak, teknik percobaan, jumlah cuplikan yang ditotolkan, suhu yang dapat mempengaruhi perubahan komposisi pelarut, dan keseimbangan dalam bejana (Sastrohamidjojo, 2002).

#### d. Pereaksi Kimia

Beberapa pereaksi kimia yang dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan kimia yang terdapat dalam fraksi aktif, antara lain:

- 1). Pereaksi sitroborat, untuk mendeteksi senyawa flavonoid. Bercak berwarna kuning setelah pemanasan dibaca pada UV<sub>366</sub>.
- 2). Pereaksi FeCl<sub>3</sub>, untuk mendeteksi senyawa fenolik. Bercak berwarna hitam, abu-abu, hijau sampai biru setelah pemanasan.
- 3). Pereaksi Liebermann Burchard (LB), untuk mendeteksi saponin. Saponin steroid bercak berwarna biru atau hijau, untuk triterpenoid bercak berwarna merah, merah jambu, ungu, atau violet.
- 4). Pereaksi vanilin-asam sulfat, untuk mendeteksi minyak atsiri. Bercak berwarna biru, merah, atau coklat dilihat secara visual (Harborne, 1996).

## 11. Bioautografi

Metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kertas yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antibiotik, dan antiviral disebut bioautografi (Djide, 2003).

Bioautografi dibagi menjadi 2 metode, yaitu:

- a. Bioautografi langsung

Bioautografi langsung dilakukan dengan cara menyemprotkan *plate* KLT dengan suspensi bakteri atau dengan menyentuh *plate* KLT pada permukaan media agar. Setelah inkubasi selama waktu tertentu maka letak zat aktif antimikrobia ditandai dengan adanya zona jernih pada media yang telah ditumbuhi bakteri.

b. Bioautografi *overlay*

Bioautografi *overlay* dilakukan dengan cara menuangkan media agar bakteri di atas permukaan *plate* KLT, setelah media padat kemudian diinkubasi. Penampakan zona hambatan dilakukan dengan penyemprotan menggunakan larutan tetrazolium klorida, maka letak zat aktif antimikroba ditandai dengan adanya zona jernih dengan latar belakang ungu (Rehalison, 1994).

## E. Landasan Teori

Fraksi eter, kloroform, dan etil asetat daun dan cabang kelengkeng (*Nephelium longana* Cambess) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, antioksidan, dan toksik terhadap *Artemia salina* L. (Ripa *et al.*, 2010). Penelitian Jaitrong *et al* (2006) menjelaskan bahwa terdapat senyawa fenolik pada kulit kelengkeng yaitu asam galat, glikosida flavon, dan hidroksinamat dengan kandungan utama flavon berupa kuersetin dan kaemferol. Pemurnian dan pemisahan dari fraksi n-heksan batang kelengkeng dihasilkan adanya dua kandungan, yaitu *scopoletin* dan *stigmasterol* Ekstrak kloroform batang kelengkeng ( $100 \mu\text{g disk}^{-1}$ ) memiliki potensi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* dengan diameter zona hambat masing-

masing 7 mm (Rahman *et al.*, 2007). Penelitian Soong dan Barlow (2005) menyebutkan bahwa biji kelengkeng mengandung berbagai macam senyawa fenolik seperti *corilagin*, asam galat, dan asam ellagat. Minyak biji kelengkeng lokal agak basah memiliki potensi antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan metode *tube dilution* sebesar 45,74% (Syarifah, 2010).

#### **F. Hipotesis**

Ekstrak etanol kulit dan biji kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.