

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan penyakit utama dan penyebab kematian pertama (Priyanto dan Batubara, 2008). Infeksi dapat menyerang tumbuhan, hewan, dan manusia yang dapat ditularkan secara langsung dari satu orang ke orang lain, misalnya melalui batuk dan bersin (Price dan Wilson, 2005).

Infeksi juga bisa disebabkan oleh munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Sedangkan penurunan infeksi oleh bakteri-bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian sulit dicapai, selain itu cara pengobatan menggunakan kombinasi berbagai antibiotik juga dapat menimbulkan masalah resistensi (Jawetz *et al.*, 2001).

Antibiotik adalah produk metabolik yang dihasilkan oleh organisme, yang dalam jumlah kecil dapat merusak atau menghambat mikroorganisme. Resistensi terhadap antibiotik hanyalah salah satu contoh proses alamiah yang dilakukan oleh organisme untuk mengembangkan toleransi terhadap keadaan lingkungan yang baru (Pelczar dan Chan, 1988).

Bakteri *S. aureus* adalah patogen utama pada manusia. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan (Jawetz *et al.*, 2001). Bakteri *S. aureus* merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi yang terdapat di saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna, dan vagina dalam hospes dengan keadaan normal. Isolat pus

pada rumah sakit Kustati sejumlah 21 isolat, 19 diantaranya terdapat bakteri *S. aureus* dan 52,6% bersifat multiresisten antibiotik (Amelia, 2007).

Menurut penelitian yang dilakukan Eryani (2004) bakteri *E. coli* sendiri telah resisten terhadap antibiotik diantaranya sulfametokzasol-trimetoprim (96,3%), amoksisilin (88,89%), amoksisilin-klavulanat (70,37%), kloramfenikol (22,2%), dan siprofloksasin (7,40%).

Resistensi sel bakteri adalah kemampuan suatu bakteri untuk tidak terbunuh atau terhambat pertumbuhannya oleh suatu antibakteri (Batubara, 2008). Sifat ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah bakteri untuk bertahan hidup. Pemberian antibiotik dari golongan yang sama secara terus menerus juga akan membuat bakteri menjadi resisten sehingga antibiotik tersebut tidak menyembuhkan tapi membuat infeksi bertambah parah (Tjay dan Rahardja, 2007). Masalah resistensi bakteri terhadap obat-obatan yang ada mendorong pentingnya penggalian sumber antibakteri dari bahan alam yang lebih poten, murah, memiliki efek samping yang lebih kecil, dan tersedia secara terus menerus dalam jumlah besar sehingga resistensi bisa diatasi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Anggani (2009), tentang mutu ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) sebagai antimikroba penyebab diare, diperoleh bahwa ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi efektif ekstrak 513 ppm dan terhadap bakteri *S. dysentriae* pada konsentrasi efektif ekstrak 980,842 ppm.

Aktivitas antibakteri dari infusa buah stroberi juga telah diuji terhadap bakteri penyebab karies gigi *Streptococcus mutans*, dengan kadar hambat minimal (KHM) 45% (%/mL) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) 90% (%/mL). Buah

stroberi merupakan sumber vitamin C dan flavonoid. Bahan aktif ini diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Gunawan *et al.*, 2010).

Hasil studi tentang isolasi dan karakteristik struktural pada 10 komponen fenolik dari ekstrak stroberi (*Fragaria x ananassa* Duch.) menggunakan deteksi *HPLC-MS* menghasilkan bahwa 10 komponen fenol itu adalah *pelargonidin*, *pelargonidin-3-glucoside*, *pelargonidin-3-ryutinoside*, *kaemferol*, *quercetin*, *kaemferol-3-(6'-coumaroyl)glucoside*, *3,4,5-trihydroxyphenyl-acrylic acid*, *glucose ester* pada (*E*)-*p-coumaric acid*, dan *ellagic acid* (Zhang *et al.*, 2008).

Kandungan fenolik dalam buah stroberi memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antiproliferatif dengan menghambat pertumbuhan sel tumor pada kolon, prostat, dan oral secara *in vitro* (Zhang *et al.*, 2008).

Berdasarkan data tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) terhadap bakteri yang mewakili bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dan yang mewakili bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli* multiresisten antibiotik dengan metode dilusi padat serta pengujian secara kualitatif terhadap kandungan senyawa dalam buah stroberi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil penelitian ini diharapkan memberikan sumbangan dalam menambah pengetahuan dan wawasan kepada masyarakat tentang obat tradisional dan fitoterapi yang pada saat ini masih berdasarkan data empiris.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang multiresisten terhadap antibiotik dan berapa Kadar Bunuh Minimal (KBM) nya ?
2. Golongan senyawa kimia apa yang terkandung dalam ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*).

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka tujuan pada penelitian ini yaitu :

1. Mengkaji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dan menghitung Kadar Bunuh Minimal (KBM) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* multiresisten antibiotik dengan metode dilusi padat.
2. Mengetahui golongan senyawa kimia dalam ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*).

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman stroberi

Kedudukan tanaman stroberi dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas: Rosidae

Bangsa : Rosales

Suku : Rosaceae

Marga : *Fragaria*

Jenis : *Fragaria x ananassa* Duchesne disebut stroberi modern atau stroberi komersial.

(Cronquist, 1981).

a. Efek farmakologi

Manfaat stroberi menurut USDA (*United State Department of Agriculture*) : Mengonsumsi satu cangkir stroberi setiap hari bisa menurunkan resiko berbagai jenis kanker. Diantaranya kanker leher rahim, payudara, usus, dan tenggorokan (Rukmana, 1998).

Kandungan fenolik dalam buah stroberi memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antiproliferatif dengan menghambat pertumbuhan sel tumor pada kolon, prostat, dan oral secara *in vitro* (Zhang *et al.*, 2008).

b. Kandungan kimia

Fitokimia yang terkandung dalam tanaman stroberi di antaranya *hydrolyzable tannins* (*ellagitannins*, *gallotannins*, dan asam *ellagic*), antosianin, flavonols, turunan asam hidroksisinamat dan esternya, dan flavanols (katekin) (Seeram *et al.*, 2006).

Hasil studi tentang isolasi dan karakteristik struktural pada 10 komponen fenolik dari ekstrak stroberi (*Fragaria x ananassa* Duch.) menggunakan deteksi *HPLC-MS* menghasilkan bahwa 10 komponen fenol itu adalah *pelargonidin*, *pelargonidin-3-glucoside*, *pelargonidin-3-ryutinoside*, *kaemferol*, *quercetin*, *kaemferol-3-(6'-coumaroyl)glucoside*, *3,4,5-trihydroxyphenyl-acrylic acid*, *glucose ester* pada *(E)-p-coumaric acid*, dan *ellagic acid* (Zhang *et al.*, 2008).

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang penting dalam buah stroberi, yang memiliki fungsi fisiologik dan menguntungkan bagi kesehatan manusia. Hal ini diperlihatkan pada studi tentang seleksi enzim yang diperoleh lewat biosintesis flavonoid. Enzim-enzim itu adalah *phenylalanine ammonia lyase*,

chalcone synthase/chalcone isomerase, flavanone 3-hydroxylase, dihydroflavonol 4-reductase, flavonol synthase, flavonoid 3-O-glucosyltransferase, dan flavonoid 7-O-glucosyltransferase (Halbwirth *et al.*, 2006).

Kandungan fragarin dalam stroberi merupakan antibiotik hasil isolasi dan purifikasi dari fraksi larut (*soluble fraction*) daun stroberi yang dimungkinkan bisa menjadi komponen baru antimikroba. Penambahan isolat fragarin pada kultur pertumbuhan bakteri patogen *Clavibacter michiganensis* dapat menghambat pertumbuhan dan konsumsi oksigen pada bakteri tersebut. Fragarin dapat beraksi pada level membran dan aksi ini berhubungan dengan penurunan viabilitas sel (Filippone *et al.*, 2001).

c. Kegunaan masing-masing bagian tanaman

1) Buah

Secara tradisional buah stroberi digunakan oleh suku Indian di bagian barat Washington untuk pengobatan diare, gonorrhea, gout, sakit perut dan batu ginjal (Mark, 2006). Kandungan asam *ellagic* dalam buah stroberi dapat menghambat pertumbuhan serta mencegah kanker payudara dan kanker leher rahim. Kandungan antioksidan yang tinggi juga berperan sebagai pelindung tubuh dari radikal bebas, termasuk sel kanker. Zat tersebut mencegah pertumbuhan senyawa karsinogenik, dan menekan pertumbuhan sel tumor (Budiman dan Saraswati, 2005).

2) Daun

Daun stroberi berperan sebagai diuretik dan antirematik. Menurut *Botanical online*, zat *astringent* daun stroberi digunakan sebagai antidiare. Lumutan daun stroberi yang dilumurkan di wajah juga bermanfaat untuk mencegah pengeriputan kulit (Budiman dan Saraswati, 2005).

3) Akar

Rebusan akar stroberi dapat memulihkan pembengkakan akibat nyeri sendi dan asam urat (Budiman dan Saraswati, 2005).

2. Metode penyarian

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang dicari, mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang larut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut (Anonim, 1986). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 2000). Ada beberapa metode dasar ekstraksi yang dapat dipakai untuk penyarian yaitu metode infundasi, maserasi, perkolasi, dan soxhletasi (Anonim, 1986). Sediaan ekstrak dibuat agar zat berkhasiat dari simplisia mempunyai kadar yang tinggi sehingga memudahkan dalam pengaturan dosis (Ansel, 2005).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Anonim, 1986).

Maserasi merupakan proses penyarian yang paling banyak digunakan untuk menyari bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Simplisia ini direndam dalam penyari sampai meresap dan melemahkan susunan sel sehingga zat-zat akan terlarut. Serbuk simplisia yang akan disari ditempatkan dalam wadah atau bejana bermulut besar, ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15⁰-20⁰C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut, melarut (Ansel, 2005).

3. *Escherichia coli*

Sistem klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gamma Proteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *E. coli* (Todar's, 2004).

Escherichia coli adalah satu jenis spesies utama bakteri Gram negatif. Pada umumnya, bakteri yang ditemukan oleh Theodor Escherich ini hidup pada tinja, dapat menyebabkan masalah kesehatan pada manusia, seperti diare, muntaber, dan masalah pencernaan lainnya (Anonim, 2007). *Escherichia coli* dihubungkan dengan tipe penyakit usus (diare), *traveler's diarrhea*, atau diare yang akut maupun kronis (Brooks dkk., 2005).

Pemilihan obat antibakteri yang tepat untuk infeksi *E. coli* tergantung pada tempat, tipe dan keparahan infeksi. Pilihan utama farmakoterapi infeksi pada *E. coli* menurut WHO adalah ampicilin dan kotrimoksazol sedangkan untuk pilihan keduanya adalah kloramfenikol dan tetrasiklin (Anonim, 2005).

4. *Staphylococcus aureus*

Sistematika dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	:Bacteria
Phylum	:Firmicutes
Class	:Bacilli
Order	:Bacillales
Family	:Staphylococcaceae
Genus	:Staphylococcus
Species	: <i>S. aureus</i> (Todar's, 2004).

Stafilokokus berasal dari perkataan *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Stafilokokus berbentuk bola dengan diameter 1µm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. Stafilokokus bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora (Jawetz *et al.*, 2005).

Kuman ini sering ditemukan sebagai kuman flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Stafilococcus cepat menjadi resisten terhadap beberapa antibakteri dan ini merupakan masalah besar pada terapi. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, empiema, endokarditis atau sepsis dengan supurasi di tiap organ (Jawetz *et al.*, 2005).

Agar bakteri patogen dapat dibiakkan dengan baik, diperlukan tempat (media) yang memungkinkannya bertumbuh dan berkembang secara optimal. Oleh karena itu, media pembiakan harus mengandung cukup nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, selain suhu dan pH yang harus sesuai. Media pembiakan ada yang padat dan ada yang cair. Media padat, umumnya media agar-agar, terdapat dalam cawan petri atau dalam tabung reaksi (miring) (Jawetz *et al.*, 2005).

5. Uji aktivitas antibakteri

Kadar minimal yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dkk., 2007).

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba (Jawetz *et al.*, 2005).

a) Metode Difusi

Metode difusi yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz *et al.*, 2005).

Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standardisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama. Daerah hambatan sekitar cakram yang berisi sejumlah tertentu antimikroba tidak mencerminkan kepekaan pada obat dengan konsentrasi yang sama per milimeter media, darah atau urin (Jawetz *et al.*, 2005).

b) Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir metode ini, dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun

kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

6. Antibiotik

Kata antibiotik diberikan pada produk metabolit yang dihasilkan suatu organisme tertentu, yang dalam jumlah amat kecil bersifat merusak atau menghambat mikroorganisme lain. Dengan perkataan lain, antibiotik merupakan zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang menghambat mikroorganisme lain (Pelczar dan Chan, 1988). Mekanisme kerja sebagian besar antibiotik dapat dibagi menjadi empat cara:

a. Perusakan dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membrane protoplasma dibawahnya (Jawetz *et al.*, 2001).

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membrane memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membrane ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1986).

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam-asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Salah satu antibakteri yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membrane sel adalah fenolat dan persenyawaan fenolat (Pelczar dan Chan, 1986).

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1986).

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan amat 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 (Pelczar dan Chan, 1986).

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba yaitu pH Lingkungan, komponen-komponen perbenihan, stabilitas obat, besarnya inokulum bakteri, masa pengeraman, dan aktivitas metabolik mikroorganismenya (Jawetz *et al.*, 2001).

7. Resistensi Antibiotik

Salah satu masalah sulit yang dihadapi dalam pengobatan penyakit infeksi adalah terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik yang digunakan. Resistensi

terhadap obat pada suatu mikroorganisme dapat disebabkan oleh suatu faktor yang memang sudah ada pada mikroorganisme itu sebelumnya atau mungkin juga faktor itu diperoleh kemudian (Pelczar dan Chan, 1988).

Mikroorganisme dapat memperlihatkan resistensi terhadap obat-obatan melalui berbagai mekanisme :

- a. Mikroorganisme menghasilkan enzim yang merusak obat aktif.
- b. Mikroorganisme mengubah permeabilitasnya terhadap obat tersebut.
- c. Mikroorganisme mengembangkan sasaran struktur yang diubah terhadap obat.
- d. Mikroorganisme mengembangkan jalur metabolisme lain yang melalui jalan pintas reaksi yang dihambat oleh obat.
- e. Mikroorganisme membentuk suatu enzim yang telah mengalami perubahan tetapi enzim tersebut masih dapat menjalankan fungsi metabolismenya serta tidak begitu dipengaruhi oleh obat seperti enzim pada bakteri yang peka. (Jawetz *et al.*, 2005).

Resistensi dibagi dalam kelompok resistensi genetik, resistensi non genetik, dan resistansi silang.

- a. Resistensi non genetik

Bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivitas metabolik) biasanya tidak dipengaruhi oleh antimikroba. Bila berubah menjadi aktif kembali, mikroba kembali bersifat sensitif terhadap antimikroba. Keadaan ini dikenal sebagai resistensi non genetik.

b. Resistensi genetik

Terjadinya resistensi kuman terhadap antibiotik umumnya terjadi karena perubahan genetik. Perubahan genetik bisa terjadi secara kromosomal dan ekstrakromosomal.

1) Resistensi kromosomal

Ini terjadi akibat mutasi spontan pada lokus yang mengendalikan kepekaan terhadap obat antimikroba yang diberikan.

2) Resistensi ekstrakromosomal (resistensi dipindahkan)

Bakteri sering mengandung unsur-unsur genetik ekstrakromosomal yang dinamakan plasmid. Bahan genetik dan plasmid tersebut dapat dipindahkan melalui mekanisme transduksi, transformasi, konjugasi, dan translokasi DNA.

c. Resistensi silang

Mikroorganisme yang resisten terhadap suatu obat tertentu dapat pula resisten terhadap obat-obat lain yang memiliki mekanisme kerja yang sama (Jawetz *et al.*, 2005).

8. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. Fase diam dapat menggunakan silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium. Fase bergerak (fase mobil) atau larutan pengembang biasanya digunakan pelarut campuran organik atau bisa juga campuran pelarut organik-anorganik. Pelarut-pelarut yang digunakan biasanya berupa campuran satu komponen organik yang utama, air, dan berbagai tambahan seperti asam-asam, basa-basa atau pereaksi kompleks, untuk

memperbesar atau mengurangi kelarutan untuk zat-zat tertentu. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam teknik kromatografi adalah metode (penaikan, penurunan, mendatar), macam kertas, pemilihan dan pembuatan eluen (fase mobil), kesetimbangan dari bejana yang dipilih, pembuatan cuplikan, waktu pengembangan, metode deteksi, dan identifikasi (Sastrohamidjojo, 2002).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis lebih baik dikerjakan dengan pereaksi kimia dan reaksi warna. Tetapi lazimnya untuk identifikasi menggunakan harga Rf meskipun harga Rf dalam lapisan tipis kurang tepat bila dibandingkan pada kertas. Seperti halnya pada kertas harga Rf didefinisikan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak tertentu pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}} \quad (1)$$

Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standard. Harga Rf umumnya lebih dari 1, sedangkan bila dikalikan dengan 100 akan berharga antara 1-100, untuk itulah parameter ini dapat digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan KLT (Sastrohamidjojo, 2002) .

Keberhasilan pemisahan kromatografi tergantung juga pada proses deteksi. Senyawa-senyawa yang berwarna tentu saja terlihat sebagai noda noda berwarna yang terpisah pada akhir pengembangan. Senyawa-senyawa yang tidak berwarna memerlukan deteksi secara kimia dan fisika. Sering menjadi pekerjaan rutin bahwa kromatogram-kromatogram diuji di bawah sinar ultraviolet sebelum dan sesudah setiap metode dikerjakan. Cara yang digunakan untuk mendeteksi noda yaitu dengan penyemprotan yang dilakukan perlahan-lahan dari samping ke

samping dan dari atas ke bawah. Pelarut yang digunakan untuk penyemprotan harus tidak menguap. Di lain pihak, penguapan yang cepat dari kertas diperlukan untuk mencegah difusi dari noda-noda yang terpisah. Pelarut-pelarut yang digunakan adalah etanol, propanol, n-butanol, atau kloroform. Campuran berair dapat digunakan, tetapi terlalu banyak air harus dicegah, karena dapat memberikan efek kelemahan kertas. Penyemprotan kertas harus dilakukan dalam lemari asam dan selesai penyemprotan alat-alat harus dibersihkan untuk mencegah lubang penyemprotan menjadi buntu (Sastrohamidjojo, 2002).

E. Landasan Teori

Buah stroberi termasuk dalam golongan buah yang berpotensi sebagai antibakteri (Anggani, 2009). Buah stroberi juga merupakan sumber vitamin C dan flavonoid. Bahan aktif ini diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Gunawan dkk, 2010). Hal tersebut telah dibuktikan oleh Rofi Anggani (2009), diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) yang mengandung kelompok senyawa kimia flavonoid memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi efektif ekstrak 513 ppm dan terhadap bakteri *S. dysentriae* pada konsentrasi efektif ekstrak 980,842 ppm (Anggani, 2009).

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang penting dalam buah stroberi, yang memiliki fungsi fisiologik dan menguntungkan bagi kesehatan manusia. Hal ini diperlihatkan pada studi tentang seleksi enzim yang diperoleh lewat biosintesis flavonoid. Enzim-enzim itu adalah *phenylalanine ammonia lyase*, *chalcone synthase/chalcone isomerase*, *flavanone 3-hydroxylase*, *dihydroflavonol 4-*

reductase, flavonol synthase, flavonoid 3-O-glucosyltransferase, dan flavonoid 7-O-glucosyltransferase (Halbwirth *et al.*, 2006).

Penelitian lain tentang stroberi telah dilakukan oleh Gunawan *et al.*, (2010) tentang aktivitas antibakteri dari infusa buah stroberi terhadap bakteri penyebab karies gigi *Streptococcus mutans*, dengan kadar hambat minimal (KHM) 45% (%mL) dan kadar bunuh minimal (KBM) 90% (%mL).

Selain itu kandungan fragarin dalam stroberi merupakan antibiotik hasil isolasi dan purifikasi dari fraksi larut (*soluble fraction*) daun stroberi yang dimungkinkan bisa menjadi komponen baru antimikroba. Penambahan isolat fragarin pada kultur pertumbuhan bakteri patogen *Clavibacter michiganensis* dapat menghambat pertumbuhan dan konsumsi oksigen pada bakteri tersebut. Fragarin dapat beraksi pada level membran dan aksi ini berhubungan dengan penurunan viabilitas sel (Filippone *et al.*, 2001).

kandungan senyawa kimia lain yang terdapat pada stroberi adalah asam *ellagic* dan *tannin*. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai *adjuvant* yang bisa meningkatkan aktivitas antibiotik kumarin melawan *Acinetobacter baumannii* multiresisten antibiotik (Chusri *et al.*, 2009). Pada penelitian lain yang dilakukan Jayaraman *et al.*, (2010) tentang aktivitas dan interaksi antibiotik dan kombinasi agen fitokimia *P. aeruginosa* secara *in vitro* menunjukkan bahwa, fenolik asam elagat dari ekstrak anggur memiliki *MIC* sebesar 4000 µg/mL pada bakteri *P. aeruginosa*. *Resveratrol* dan *ellagic acid* memiliki *MIC* rata-rata 6,25-50 µg/mL *H. pylori* (Brown *et al.*, 2009). Buah stroberi mengandung fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antiproliferatif dengan menghambat

pertumbuhan sel tumor pada kolon, prostat, dan oral secara *in vitro* (Zhang *et al.*, 2008).

Hal ini diperkuat dari hasil studi tentang isolasi dan karakteristik struktural pada 10 komponen fenolik dari ekstrak stroberi (*Fragaria x ananassa* Duch.) menggunakan deteksi *HPLC-MS* menghasilkan bahwa 10 komponen fenolik itu adalah *pelargonidin*, *pelargonidin-3-glucoside*, *pelargonidin-3-ryutinoside*, *kaemferol*, *quercetin*, *kaemferol-3-(6'-coumaroyl)glucoside*, *3,4,5-trihydroxyphenyl-acrylic acid*, *glucose ester* pada (*E*)-*p-coumaric acid*, dan *ellagic acid* (Zhang *et al.*, 2008).

Penelitian lain Arima *et al.*, (2002), tentang aktivitas antibakteri dengan metode *paper disk* pada flavonoid *quercetin* diperoleh *MIC* 250 µg/mL untuk *S. enteridis* dan 350 µg/mL untuk *B. cereus* dan jika dikombinasikan antara *quercetin* dengan rutin menghasilkan *MIC* 100 µg/mL untuk *S. enteridis* dan 200 µg/mL untuk *B. cereus*. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Arima dan Danno (2002) tentang isolasi komponen antimikrobia dari jambu biji (*Psidium guajava* L.) bahwa kuersetin dari isolasi tersebut memiliki *MIC* 250 µg/mL untuk *S. enteridis* dan 350 µg/mL untuk *B. cereus*.

F. Hipotesis

Ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik.