

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL
KULIT BATANG KERUING PUNGGUH (*Dipterocarpus
confertus* SLOOT) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli SERTA *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST***

SKRIPSI



Oleh :

**ABDUL AZIS
K 100 040 102**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Dipterocarpaceae merupakan tumbuhan yang terdapat di hutan tropis Asia, terutama di wilayah Malesiana termasuk Indonesia. Tiga genus utama dari famili Dipterocarpaceae adalah *Shorea* yang memiliki 150 spesies, *Hopea* memiliki 100 spesies, dan *Dipterocarpus*, memiliki 75 spesies. Ketiga genus ini di Indonesia dikenal masing-masing dengan nama meranti (*Shorea*), merawan atau tengkawang (*Hopea*), dan keruing (*Dipterocarpus*) (Newman dkk., 1990).

Famili Dipterocarpaceae merupakan tumbuhan penghasil kayu yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Kayu dari famili tumbuhan ini digunakan sebagai bahan bangunan, bahan baku pembuatan *pulp* dan kertas. Kayu meranti dan keruing misalnya, adalah jenis kayu bangunan yang berkualitas tinggi, karena tahan terhadap rayap atau serangga lain (Heyne, 1987).

Kandungan senyawa kimia tumbuhan Dipterocarpaceae sangat beragam yang meliputi golongan fenolik, seperti oligostilbenoid, flavonoid, fenil propanoid, dan turunan asam fenolat, serta golongan non fenolik yaitu triterpenoid (Sotheeswaran, 1993; Hakim, 2002). Berdasarkan penelitian farmakologi yang telah dilakukan terhadap *Dipterocarpus*, kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut memperlihatkan aktivitas biologis dan efek farmakologis yang menarik seperti antibakteri, antiinflamasi, sitotoksik, dan antifungi (Hakim, 2002).

Keruing pungguh (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) adalah salah satu dari

38 spesies *Dipterocarpus* yang terdapat di Indonesia. Secara teoritis, berdasarkan kajian kemotaksonomi, metabolit sekunder utama dari Keruing punggung (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) adalah senyawa oligomer resveratrol, disamping senyawa fenolik lainnya yaitu flavonoid, fenil propanoid dan turunan asam fenolat.

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta efek toksik dengan metode *Brine Shrimp Letality Test* (BSLT) dari ekstrak metanol kulit batang *Dipterocarpus confertus*. Hasil penelitian ini dalam jangka panjang diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah dan kajian pendahuluan pemanfaatan bahan ekstrak kulit batang *Dipterocarpus confertus* untuk obat herbal atau fitofarmaka yang berguna.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut penelitian ini diarahkan untuk menjawab permasalahan :

1. Apakah ekstrak metanol kulit batang keruing punggung (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) mempunyai potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?
2. Apakah ekstrak metanol kulit batang keruing punggung (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach?
3. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit batang *Dipterocarpus confertus* SLOOT berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk tujuan:

1. Mengetahui potensi antibakteri ekstrak metanol kulit batang keruing pungguh (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Mengetahui efek toksik ekstrak metanol kulit batang keruing pungguh (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.
3. Memberikan informasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol batang keruing pungguh (*Dipterocarpus confertus* SLOOT).

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Keruing

a. Sistematika Tumbuhan

Tumbuhan keruing diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Famili	: Dipterocarpaceae
Genus	: <i>Dipterocarpus</i>
Spesies	: <i>Dipterocarpus confertus</i> SLOOT (Anonim, 2009).

b. Nama Daerah

Dipterocarpus confertus SLOOT di Indonesia dikenal dengan keruing

pungguh. Tanaman ini ditemukan di hutan primer tanah rendah pada tanah berpasir dengan medan berbukit atau bergelombang pada ketinggian kurang dari 800 m di Kalimantan Timur. Jenis ini terdapat juga di Serawak dan Sabah (Kartawinata, 1983).

c. Morfologi Tumbuhan

Pohon keruing pungguh tinggi menjulang sampai 40 m dan besar dengan diameter sampai 100 cm. Batangnya berkulit luar kasar yang mengelupas menjadi kepingan-kepingan panjang dan berwarna coklat. Lapisan luar pepaganya berwarna merah tua dan lapisan dalamnya berwarna putih kekuning-kuningan. Ranting, daun penumpu, kuncup daun, permukaan bawah daun, dan tangkai daun berbulu agak kasar dengan warna coklat keemasan. Jumlah pasangan urat daun sekunder dan lipatan antara pasangan urat daun nyata. Perbungaan berbentuk tandan, pendek, kadang-kadang bercabang, berbunga sedikit dan bunga berukuran sedang. Buahnya elips, berukuran sedang, bersudut lima, tajam, membentang dari atas sampai bawah, berbulu dengan warna coklat keemasan, dan hampir tidak bertangkai. Dua kelopak utama berukuran besar dan tiga kelopak kecil berukuran pendek (Kartawinata, 1983).

d. Kandungan Kimia

Kandungan kimia metabolit sekunder tumbuhan famili Dipterocarpaceae cukup beragam, meliputi golongan fenol, seperti oligomer resveratrol, flavonoid, fenil propanoid, turunan fenolat, serta golongan nonfenol yaitu triterpenoid (Sotheeswaran, 1993; Hakim, 2002).

Hingga tahun 2005, telah banyak ditemukan senyawa-senyawa jenis

oligomer resveratrol dari famili Dipterocarpaceae ini, di samping dari empat famili tumbuhan lain yakni Vitaceae, Leguminosae, Gnetaceae, Cyperaceae.

1) Senyawa oligomer resveratrol

Senyawa oligomer resveratrol adalah senyawa turunan fenol yang tersusun oleh unit-unit resveratrol atau 3, 4, 5, trihidroksi-trans-stilben melalui reaksi oksidatif. Berdasarkan jumlah unit penyusunnya, oligomer resveratrol dapat dibagi ke dalam kelompok dimer, trimer, tetramer, hexamer, heptamer, dan oktamer resveratrol. Senyawa-senyawa ini dilaporkan telah berhasil diisolasi dari lima tumbuhan Dipterocarpaceae, Vitaceae, Leguminosae, Gnetaceae, Cyperaceae (Sotheswaran dan Pasuphaty, 1993)

2) Senyawa turunan fenol lain

Selain senyawa oligomer resveratrol, ada empat golongan senyawa fenol lain yang juga ditemukan pada famili Dipterocarpaceae, yaitu flavonoid, asam fenolat, turunan fenil propanoid, dan turunan benzofuranon. Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari senyawa Dipterocarpaceae terdiri dari calkon, dan flavon. Senyawa 4-hidroksicalkon-4-O- β -O-glukopiranosida adalah salah satu senyawa calkon yang diisolasi (Jain dkk., 1982). Senyawa flavon yang diisolasi dari famili Dipterocarpaceae pada umumnya sama dengan flavon dari beberapa famili tumbuhan lain, yakni kaemfenol, kuersetin, mirisetin (Sotheeswaran dan Pasupaty, 1993).

Tiga senyawa fenol yang lain antara lain bergenin yang merupakan turunan asam fenolat, asam sorbat yang merupakan turunan fenil propanon, 2(asam-2-iminoasetat)-3(2H)-benzofuranon yang merupakan senyawa turunan

benzofuranon dan satu-satunya yang mengandung atom nitrogen dari famili Dipterocarpaceae (Kumar, 1979).

3) Senyawa triterpenoid.

Senyawa nonfenolik yang diisolasi dari famili Dipterocarpaceae merupakan kelompok triterpenoid. Senyawa ini banyak ditemukan terutama pada genus *Shorea* yang terdiri dari golongan sikloartan, damaran, lupan, hapan, oleanan, dan taraksastan. Senyawa triterpenoid ini merupakan komponen utama dari resin pada genus *Shorea* (Sotheeswaran dan Pasupaty, 1993).

e. Manfaat Tanaman

Familia Dipterocarpaceae merupakan tumbuhan penghasil kayu yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Kayu tumbuhan ini digunakan sebagai bahan bangunan dan bahan baku pembuatan *pulp* dan kertas. Kayu meranti dan keruing misalnya, adalah jenis kayu yang bangunan yang berkualitas tinggi karena tahan rayap atau serangga lainnya. Disamping itu, tumbuhan Dipterocarpaceae merupakan penghasil resin dan damar yang banyak, yang biasa digunakan untuk bahan varnish atau cat. Sementara itu, biji tengkawang yang dihasilkan dari tumbuhan *Shorea* dan *Isoptera*, dapat digunakan untuk keperluan seperti bahan industri makanan, sabun, obat-obatan seperti obat sariawan dan kosmetik. Tanaman keruing ini mempunyai khasiat antara lain sebagai bahan obat tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit, seperti penyakit kulit dan astringen. Oleh karena itu, tumbuhan ini merupakan cadangan devisa negara untuk komoditas ekspor (Heyne,1987).

2. Bakteri

a. *Staphylococcus aureus*

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961).

Staphylococcus mudah tumbuh pada pembenihan bakteriologik, dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. *Staphylococcus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus menonjol dan berkilau-kilauan membentuk pigmen (Jawetz dkk., 1991).

S. aureus berbentuk sferis, bila menggerombol susunannya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8-1,0 mikron. Susunan gerombolan tidak teratur biasanya ditemukan pada sediaan yang dibuat dari perbenihan padat, sedangkan dari perbenihan kaldu biasanya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek (Anonim, 1994). Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan dan pembentukan abses (Anonim, 1994). *S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit (Jawetz dkk., 2001).

b. *Escherichia coli*

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Salle, 1961).

E. coli adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai. *E. coli* dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media Mc. Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat. Bakteri ini juga dapat tumbuh pada media agar darah. *E. coli* dapat merombak karbohidrat dan asam-asam lemak menjadi asam dan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan, 1988).

E. coli banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru, saluran empedu, dan saluran otak (Jawetz dkk., 2001). *E. coli* dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Anonim, 1994).

3. Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk

membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia (Pelczar dan Chan, 1988). Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri:

- a. Germisida adalah bahan yang dipakai untuk membasmi mikroorganisme dengan mematikan sel-sel vegetatif, tapi tidak selalu mematikan bentuk sporanya.
- b. Bakterisida adalah bahan yang dipakai untuk mematikan bentuk-bentuk vegetatif bakteri.
- c. Bakteriostatika adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa memamatkannya.
- d. Antiseptika adalah suatu bahan yang menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan mencegah pertumbuhan atau menghambat aktivitas metabolisme, digunakan pada jaringan hidup.
- e. Desinfektan adalah bahan yang dipakai untuk membasmi bakteri dan mikroorganisme patogen tapi belum tentu beserta sporanya, digunakan pada benda mati (Pelczar dan Chan, 1988).

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatika menjadi bakterisida bila kadar antimikroba ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 1995).

Secara umum, kemungkinan situs serangan suatu zat antibakteri dapat diduga dengan meninjau struktur serta komposisi sel bakteri. Kerusakan pada

salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju kepada matinya sel tersebut. Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut:

a. Kerusakan pada dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya (Jawetz dkk., 2001). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini diantaranya adalah penisilin.

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Membran memelihara integritas komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Polimiksin bekerja dengan merusak struktur dinding sel dalam kemudian antibiotik tersebut bergabung dengan membran sel sehingga menyebabkan disorientasi komponen lipoprotein serta mencegah berfungsinya membran sebagai perintang osmotik (Pelczar dan Chan, 1988).

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Salah satu antibakteri yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat dan

persenyawaan fenolat (Pelczar dan Chan, 1988).

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. Sulfonamida merupakan salah satu contoh antibiotik yang bekerja dengan cara penghambatan kerja enzim (Setiabudy dan Gan, 1987).

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat 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. Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein dengan cara menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelczar dan Chan, 1988).

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dengan dilakukan dengan berbagai cara, yaitu :

a. Agar difusi

Media agar yang dipakai adalah agar Muller Hinton. Pada metode difusi ini ada tiga metode, yaitu Kirby Bauer, sumuran, dan *Pour Plate*. Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasikan 5-8 jam pada 37°C. Suspensi ditambah aquades steril hingga kekeruhan sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10^8 CFU per ml. Kapas lidi

steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Pada metode Kirby Bauer menggunakan kertas samir (*disk*) yang mengandung antibakteri yang diletakkan di atasnya. Pada metode sumuran, media dibuat sumuran yang mempunyai diameter tertentu. Zat antibakteri diteteskan pada sumuran tersebut. Sedangkan pada metode *Pour Plate*, suspensi bakteri dicampur dengan media Muller Hinton yang belum padat, baru kemudian setelah media dingin diletakkan *disk* yang berisi antibakteri di atasnya. Setelah itu diinkubasikan pada 37°C, selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca:

- a) *Zone Radical* yaitu suatu daerah di sekitar disk di mana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zone radikal.
- b) *Zone Iradical* yaitu suatu daerah disekitar *disk* di mana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Anonim, 2005).

b. Dilusi Cair dan Dilusi Padat

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai 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. Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM). Sedangkan metode dilusi padat

adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat membunuh bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri disebut Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Anonim, 1994).

5. *Artemia Salina* Leach

a. Klasifikasi

Artemia merupakan bangsa udang-udangan yang diklasifikasikan sebagai berikut :

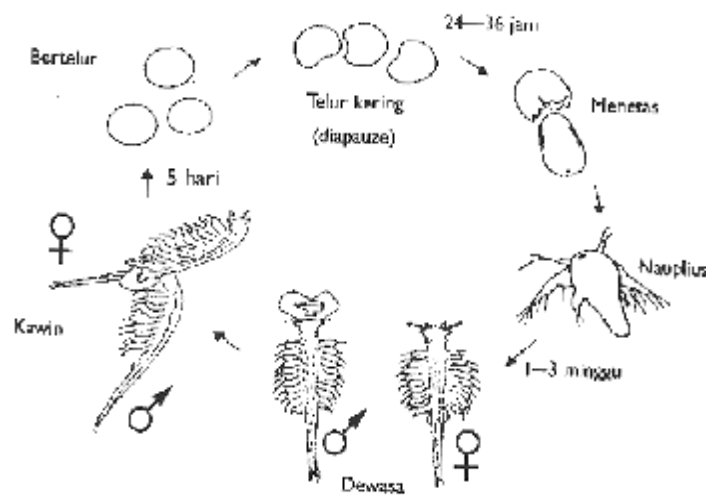
Filum : Arthropoda
 Kelas : Crustaceae
 Sub kelas : Branchiopoda
 Ordo : Anostraca
 Familia : Artemidae
 Genus : *Artemia*
 Spesies : *Artemia salina* (Bougis, 1979).

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 diinkubasikan dalam air bersalinitas 5-70 per mil (Isnansetyo, 1995).

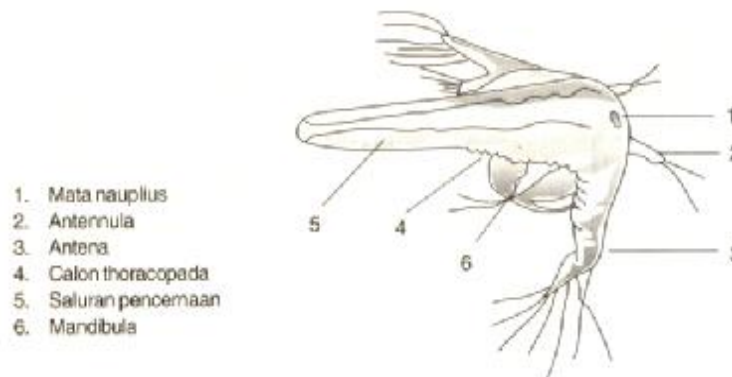
Ada beberapa tahapan proses penetasan *Artemia* ini yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang, dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi

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. Untuk mengetahui tahap penetasan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tahap Penetasan *Artemia salina*

Artemia yang baru menetas disebut dengan 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. Selain itu, di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut dengan *ocellus*. Sepasang mandibula rudimeter terdapat di belakang antena. Sedangkan labrum (semacam mulut) terdapat di bagian ventral. Morfologi nauplius disajikan pada Gambar 2.



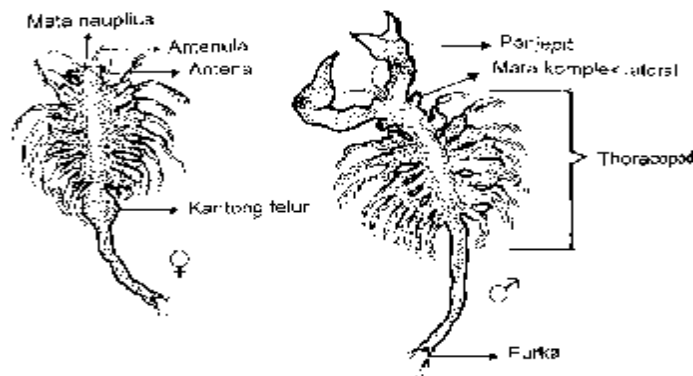
Gambar 2. Morfologi Nauplius *Artemia*

Nauplius berangsur-angsur mengalami perkembangan dan perubahan morfologis dengan 15 kali pergantian kulit hingga menjadi dewasa. Pada setiap tingkatan pergantian kulit disebut dengan instar, sehingga dikenal instar I hingga instar XV. Setelah cadangan makanan yang berupa kuning telur habis dan saluran pencernaan berfungsi, nauplius mengambil makanan ke dalam mulutnya dengan menggunakan setae pada antena. *Artemia* mulai mengambil makanan setelah mencapai instar II (Isnansetyo, 1995).

Saat instar kedua, pada pangkal antenanya tumbuh *gnatobasen setae* menyerupai duri menghadap ke belakang. Perubahan morfologis yang sangat mencolok terjadi setelah masuk instar X. Antena mengalami perubahan sesuai dengan jenis kelaminnya, thoracopoda mengalami diferensiasi menjadi di tiga bagian yaitu telopodite/eksopodite yang berfungsi sebagai penyaring makanan, endopodite yang berfungsi sebagai alat gerak atau berenang, dan epipodite yang berfungsi sebagai alat pernapasan.

Artemia dewasa biasanya berukuran panjang 8-10 mm ditandai dengan adanya tangkai mata yang jelas terlihat pada kedua sisi bagian kepala, saluran

pencernaan yang terlihat jelas, dan 11 pasang thorakopoda. Pada *Artemia* jantan, antenna berubah menjadi alat penjepit (*mascular grasper*), sepasang penis terdapat di bagian belakang tubuh. Sedangkan pada *Artemia* betina, antenna mengalami penyusutan, sepasang indung telur atau ovarium terdapat di kedua sisi saluran pencernaan, di belakang thorakopoda. Telur yang sudah matang akan disalurkan ke sepasang kantong telur atau uterus (Isnansetyo, 1995). Gambar 3 menyajikan morfologi *Artemia* dewasa.



Gambar 3. Morfologi *Artemia* Dewasa

c. Lingkungan Hidup

Artemia banyak ditemukan di danau-danau yang kadar garamnya sangat tinggi sehingga disebut juga dengan *brine shrimp*. *Artemia* hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi, yaitu antara 15-300 per mil. Suhu yang dikehendaki berkisar antara 25-30⁰C, akan tetapi kista *Artemia* yang kering sangat tahan terhadap suhu yang ekstrim dari -273⁰C hingga 100⁰C (Mudjiman, 2000).

Keasaman air (pH) juga 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* dipilah menjadi 2 yaitu *Artemia* yang bersifat biseksual dan *Artemia* yang bersifat partenogenetik. Keduanya mempunyai cara berkembangbiak yang berlainan. *Artemia* biseksual berkembangbiak secara seksual, untuk perkembangbiakannya didahului dengan perkawinan antara jantan dan betina. Sedangkan *Artemia* partenogenetik berkembangbiak secara partenogenetis, yaitu betina menghasilkan telur/nauplius tanpa adanya pembuahan (Mudjiman, 2000).

e. Uji Toksisitas

Toksisitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan. Toksisitas merupakan suatu sifat relatif dari zat kimia dan sejauh menyangkut diri manusia secara langsung atau tidak langsung. Toksisitas selalu menunjukkan sesuatu efek berbahaya atas mekanisme biologi tertentu. Toksisitas merupakan istilah relatif yang biasa dipergunakan dalam membandingkan suatu zat kimia lebih toksik dari zat kimia lainnya. Perbandingan antara zat kimia seperti itu sangat tidak informatif, kecuali jika pernyataan itu melibatkan informasi tentang mekanisme biologi yang sedang dipermasalahkan dan juga dalam kondisi bagaimana zat kimia tersebut berbahaya (Loomis, 1978).

Kematian merupakan salah satu diantara kriteria toksisitas. Salah satu caranya ialah menggunakan senyawa dengan dosis maksimal, kemudian kematian hewan uji dicatat. Angka kematian hewan dihitung sebagai sebagai harga median Lethal Dose (LD₅₀) atau median Lethal Concentration (LC₅₀) (Meyer dkk., 1982).

Dengan adanya kenyataan bahwa beberapa zat kimia akan menimbulkan kematian dalam dosis mikrogram, maka zat kimia seperti itu biasanya dianggap sebagai sangat toksik (beracun) zat kimia yang lain mungkin relatif kurang berbahaya setelah diberikan dengan dosis yang melebihi beberapa gram karena mungkin banyak kisaran kadar atau dosis berbagai zat kimia yang menghasilkan bahaya, maka telah dirumuskan penggolongan toksisitas atas dasar jumlah besarnya zat kimia yang diperlukan untuk menimbulkan bahaya. Suatu contoh penggolongan tersebut yaitu:

- a. Luar biasa toksik (1 mg/Kg atau kurang)
- b. Sangat toksik (1-59 mg/Kg)
- c. Cukup toksik (50-500 mg/Kg)
- d. Sedikit toksik (0,5-5 g/Kg)
- e. Praktis tidak toksik (5-15 g/Kg)

Penggolongan ini hanya berlaku untuk harga LD_{50} pada hewan percobaan, sedangkan untuk harga LC_{50} hanya dibedakan menjadi:

- a. Toksik ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$)
- b. Tidak toksik ($LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$) (Meyer dkk., 1982).

6. Ekstraksi Tanaman

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada dalam tanaman ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan hayati. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Cairan penyari yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan

kemampuannya melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989).

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989).

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pangadukan pada temperatur ruangan atau kamar. Dalam proses maserasi, simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang. Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang melarut (Ansel, 1989).

7. 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 pelat dengan bentuk bercak atau pita. Setelah pelat dimasukkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Stahl, 1985).

a. Fase diam

Fase diam dalam KLT merupakan suatu lapisan dibuat dari bahan berbutir

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 mikron. Partikel yang butirannya kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan (Sastrohamidjojo, 2002).

Fase diam yang umum digunakan adalah silika gel GF 254, aluminium oksida, kieselgur, selulosa, poliamida. Silika gel GF 254 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

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Fase gerak bergerak di dalam fase diam karena adanya gaya kapiler. Pelarut yang digunakan adalah yang bermutu analitik dan bila diperlukan sistem pelarut multikomponen maka harus berupa campuran sesederhana mungkin yang terdiri dari atas maksimal tiga komponen (Stahl, 1985).

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 :

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

Angka R_f berjangka 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. Jika dipilih 10 cm sebagai jarak pengembangan, maka jarak rambat suatu senyawa (titik awal-pusat bercak dalam cm) \times 10 menghasilkan angka hR_f . Tetapi karena angka R_f merupakan fungsi sejumlah faktor, angka ini harus dianggap petunjuk saja (Stahl, 1985).

Harga R_f dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya :

- 1) Struktur kimia senyawa, sifat penyerap dan derajat aktivitasnya
- 2) Tebal tipisnya penyerap
- 3) Sifat fase gerak
- 4) Derajat kejenuhan bejana
- 5) Jumlah cuplikan yang ditotolkan
- 6) Suhu yang dapat mempengaruhi perubahan komposisi pelarut
- 7) Keseimbangan dalam bejana

E. Landasan Teori

Kandungan senyawa kimia tumbuhan Dipterocarpaceae sangat beragam yang meliputi golongan fenolik, seperti oligostilbenoid, flavonoid, fenil propanoid, dan turunan asam fenolat, serta golongan non fenolik yaitu triterpenoid (Sotheeswaran, 1993). Senyawa oligostilbenoid memperlihatkan aktivitas biologis dan efek farmakologis yang menarik seperti antibakteri, antiinflamasi, sitotoksik, dan antifungi (Hakim, 2002).

Senyawa polifenol yang beraktivitas sebagai antibakteri yang telah ditemukan pada tumbuhan Dipterocarpaceae yaitu distichol dan coppaliferol (Sultanbawa dkk., 1987), sedangkan senyawa oligostilbenoid yang memperlihatkan aktivitas sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 yaitu senyawa hopeafenol (Muhtadi dkk., 2005). Keruing punggung (*Dipterocarpus confertus* SLOOT) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Dipterocarpaceae sehingga kemungkinan mempunyai kandungan senyawa dengan aktivitas yang hampir sama.

F. Hipotesis

Dipterocarpus confertus SLOOT dari famili tumbuhan *Dipterocarpaceae* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.