

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI KLOROFORM
EKSTRAK ETANOLIK DAUN ARBENAN (*Duchesnea indica*
(Andr.) Focke) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
Pseudomonas aeruginosa MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK
SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

SKRIPSI



Oleh:

**SRI RATNAWATI
K 100 040 197**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2008**

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, riketsia, dan protozoa. Organisme-organisme tersebut dapat menyerang seluruh tubuh manusia atau sebagian daripadanya (Gibson, 1996). Infeksi juga bisa disebabkan oleh munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Bagi negara-negara berkembang, timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik pada penyakit infeksi merupakan masalah penting. Kekebalan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Sedangkan penurunan infeksi oleh bakteri-bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian sulit dicapai, selain itu cara pengobatan yang menggunakan kombinasi berbagai antibiotik juga dapat menimbulkan masalah resistensi (Jawetz *et al.*, 2001).

Berkembangnya resistensi bakteri terhadap obat-obat hanyalah salah satu contoh proses alamiah yang dilakukan oleh organisme-organisme untuk mengembangkan toleransi terhadap keadaan lingkungan yang baru. Resistensi bakteri terhadap obat pada suatu mikroorganisme dapat disebabkan oleh suatu faktor yang memang sudah ada pada mikroorganisme sebelumnya atau mungkin juga faktor itu diperoleh kemudian. Resistensi antibiotik merupakan masalah

besar bagi orang-orang yang bekerja di klinik dan kini telah dilakukan banyak usaha untuk mencegah terjadinya resistensi antibiotik (Pelezar dan Chan, 1988).

Staphylococcus aureus merupakan penyebab penyakit infeksi. Dalam keadaan normal *Staphylococcus aureus* terdapat di saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna, dan vagina. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit pada hampir semua organ dan jaringan, yang paling rentan terhadap infeksi adalah kulit. Infeksi kulit *Staphylococcus aureus* mungkin termasuk penyakit infeksi yang paling serius, misalnya lebih dari 1,5 juta kasus tuberkulosis terjadi di Amerika Serikat setiap tahunnya (Shulman dkk, 1994).

Staphylococcus aureus adalah patogen utama pada manusia. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulatif positif yang membedakan dari spesies lain. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi *Staphylococcus aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan (Jawetz *et al.*, 2001).

Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh, dan merupakan patogen nosokomial yang penting. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk kateter (Jawetz *et al.*, 2001).

Akhir-akhir ini masyarakat mempunyai kecenderungan untuk menggunakan obat tradisional dalam menangani penyakitnya. Karena bahan-bahannya yang mudah didapat, efek samping penggunaan obat tradisional lebih

kecil dibanding dengan obat sintetik. Selain itu obat tradisional harganya relatif lebih murah (Hutapea, 1991).

Pengobatan tradisional didasarkan atas pengalaman yang diwariskan secara turun-temurun. Sampai saat ini, berbagai obat tradisional terutama yang berasal dari tumbuhan masih digunakan oleh masyarakat. Namun belum sepenuhnya didukung dengan penelitian secara ilmiah (Wijayakusuma, 1993). Tumbuhan yang dipakai sebagai obat tradisional mempunyai aktivitas biologis karena mengandung berbagai senyawa kimia yang dapat mempengaruhi sel-sel hidup suatu organisme (Dalimartha, 2004).

Salah satu tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tumbuhan *Duschesnea indica* (Andr.) Focke yang lebih dikenal dengan arbenan. Masyarakat memanfaatkan tumbuhan ini sebagai penurun panas, antibakteri, stimulan. Seluruh bagian tanaman daun arbenan mengandung saponin, flavonoid, dan tanin (Hutapea, 1991). Berdasarkan hal tersebut maka tumbuhan arbenan diduga mempunyai kandungan kimia yang aktivitasnya sebagai antibakteri.

Yulianto (2005) mengemukakan bahwa Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol untuk *S.aureus* 0,625% b/v dan *E.coli* 2,5% b/v. Hasil analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun arbenan mengandung tanin, flavonoid, dan saponin. Yulianto (2005) menyarankan untuk dilakukan uji lebih lanjut terhadap arbenan, dengan menggunakan penyari lainnya. Dalam ekstrak etanol masih terkandung senyawa-senyawa kimia yang belum terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya. Oleh karena itu dilakukan fraksinasi untuk memisahkan senyawa aktif berdasarkan tingkat kepolarannya.

Fraksinasi dilakukan menggunakan penyari kloroform. Penggunaan penyari kloroform didasarkan pada senyawa yang terkandung pada daun arbenan dan bisa terlarut dalam kloroform. Kloroform bisa melarutkan flavonoid polimetil, salah satu senyawa yang terkandung dalam daun arbenan.

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri dari fraksi kloroform ekstrak etanolik terhadap *S. aureus* yang mewakili Gram positif dan *P. aeruginosa* yang mewakili Gram negatif dengan metode dilusi padat serta pengujian secara kualitatif terhadap kandungan senyawanya dalam tumbuhan arbenan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik ?
2. Berapa Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik ?
3. Senyawa apakah yang terkandung dalam fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.) Focke)?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.
2. Mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.
3. Mengetahui senyawa yang terkandung dalam fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan dengan menggunakan metode KLT.

D. Tinjauan Pustaka

1. Arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.) Focke)

a. Klasifikasi dari tanaman ini adalah

Devisi	: Spermatophyta
Sub devisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Rosales
Suku	: Rosaceae
Marga	: Duchesnea
Jenis	: <i>Duchesnea indica</i> (Andr.) Focke
Sinonim	: <i>Fragaria indica</i> Andr

(Hutapea, 1991)

b. Nama Daerah

Jawa	: Arben leuweng, Seladren (Jawa)
Sunda	: Arbenan

c. Deskripsi

1). Batang

Arbenan merupakan tanaman dengan batang melata atau merayap diatas tanah berupa stolon yang akan menumbuhkan tunas baru berwarna kuning.

2). Daun

Arbenan merupakan tanaman yang memiliki daun majemuk terbagi 3, tepi bergerigi, panjang 4-8 cm, lebar 5-6 cm, pertulangan daun menyirip tegas, permukaan berbulu kasar, warna hijau.

3). Bunga

Arbenan merupakan tanaman yang memiliki bunga majemuk, bentuk tandan, terletak di ketiak daun, bunga sempurna, alat kelamin ganda, dasar kelopak bertebaran, ujung lepas, bentuk segitiga, tepi bergerigi, berbulu, hijau, bakal buah menumpang, benang sari dan putik jumlah banyak, mahkota berlepasan, panjang 8-15 cm, halus putih.

4). Biji

Arbenan merupakan tanaman dengan biji berbentuk bulat telur atau bulat lunak dengan diameter 0,5 – 1 cm, berwarna merah.

5). Akar

Arbenan merupakan tanaman yang memiliki akar serabut, berwarna putih kotor.

d. Ekologi dan Penyebaran

Arbenan merupakan tumbuhan liar di pinggir-pinggir jalan, di tepi sungai atau di tempat-tempat yang sedikit basah dan mendapat cukup sinar matahari. Arbenan dapat tumbuh di dataran menengah sampai pegunungan di atas

permukaan laut. Arbenan berbunga pada bulan Juli, Agustus. Pengeringan dan pemanenan bisa pada musim kemarau (Hutapea, 1991).

e. Bagian Tanaman yang Digunakan

Seluruh bagian tanaman arbenan dapat digunakan sebagai obat, pemakaiannya dalam bentuk segar atau dikeringkan (Hutapea, 1991).

f. Kegunaan

Arbenan digunakan sebagai penurun panas, antibakteri, dan stimulan (Hutapea, 1991).

g. Kandungan Kimia

Seluruh bagian tanaman mengandung saponin, flavonoid, dan tanin (Hutapea, 1991).

2. Metode Penyarian

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 diantaranya yaitu maserasi. Penelitian terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Anonim, 1986).

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, ditiupkan pada wadah bejana yang bermulut besar, ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang, sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia (Ansel, 1989).

3. *Staphylococcus aureus*

Sistematika dari bakteri ini adalah :

Divisi : Procaryotae
Filum : Finticutes
Kelas : Schizomycetes
Bangsa : Eubacteriales
Suku : Micrococcaceae
Marga : Staphylococcus
Jenis : *Staphylococcus aureus*

(Anonim, 2000)

Morfologi dan Sifat

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif, berbentuk bulat, diameter 0,1 – 1,5 μ m, satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, dinding sel mengandung 2 komponen utama, peptidoglikan dan asam telkoat (Jawetz *et al.*, 1986).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada berbagai pembenihan atau metabolisme yang aktif, menghambat banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak menghasilkan gas dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. Staphylococcus patogen sering menghemolisis darah dan mengkoagulasi plasma, beberapa diantaranya tergolong flora normal pada selaput lendir manusia (Jawetz *et al.*, 1982).

Staphylococcus aureus mempunyai warna khas kuning keemasan, hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni, tidak meresap ke dalam pembenihan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman ini (Anonim, 1994).

Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Anonim,1994). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan lesi kulit (bisul, infeksi, dan kulit yang terkelupas), penyebab faringitis, pneumonia endokarditis, keracunan makanan, merupakan penyebab infeksi utama pada individu dengan luka bakar berat dan luka operasi. *Staphylococcus aureus* menyebabkan peradangan piogenik dengan kerusakan luka yang berat, baik lesi terletak di kulit, paru-paru, tulang atau katup jantung (Robbins, 1999).

4. *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika dari bakteri ini adalah :

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Pseudomonadales
Suku	: Pseudomonadaceae
Marga	: Pseudomonas
Jenis	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Salle, 1961)

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau; meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal dan infeksi saluran kencing jika masuk melalui kelenjar dan ekstruna. Penyerapan pada saluran nafas, khususnya respirator yang tercemar, mengaktifkan pneumonia nekrotisan (*Recrotizing Pneumonia*). Bakteri sering ditemukan pada otitis eksternal ringan pada perenang. Hal ini dapat menyebabkan otitis ekstema berat pada pasien diabetes. Pada bayi atau orang yang lemah *Pseudomonas aeruginosa* mungkin masuk melalui aliran darah dan mengaktifkan sepsis yang kebal, hal ini biasanya terjadi pada pasien leukemia/limfoma yang mendapatkan terapi antineoplastik atau terapi radiasi dan pada pasien dengan luka bakar yang berat. Nekrosis hemoragik pada kulit serius terjadi dalam sepsis karena *Pseudomonas aeruginosa*, luka yang disebut ekstema gansienosum, dikelilingi daerah kemerahan dan sering tidak berisikan nanah (Jawet *et al.*, 2001).

5. Media

Media adalah kumpulan zat-zat organik dan anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri atau jamur dengan syarat-syarat tertentu. Dalam

pemeriksaan laboratorium mikrobiologi, penggunaan media sangat penting untuk isolasi, diferensi maupun identifikasi (Anonim, 1994). Untuk mendapatkan lingkungan hidup yang cocok bagi tumbuhan/jamur, maka media harus memenuhi syarat dalam hal:

a. Susunan Makanan

Suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan harus ada air. Kuman memerlukan air dalam konsentrasi tinggi (cukup) di sekitarnya karena diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan. Sumber karbon diperlukan dalam proses-proses sintesa dengan timbulnya asimilasi CO₂ di dalam sel. Selain itu juga dalam harus ada sumber nitrogen, mineral, natrium dan gas untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan (Anonim, 1994).

b. Tekanan osmose

Sel mikroba yang di media harus memiliki tekanan osmose yang sama, oleh karena itu untuk pertumbuhannya bakteri atau jamur membutuhkan media yang isotonis (Anonim, 1986).

c. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) juga mempengaruhi pertumbuhan kuman. Pada umumnya mikroorganisme membutuhkan pH sekitar 7,2-7,6 (Anonim,1994).

d. Temperatur

Pertumbuhan yang optimal diperlukan temperatur tertentu, pada umumnya mikroorganisme yang patogen membutuhkan temperatur tertentu, sekitar 37⁰ C sesuai dengan tubuh (Anonim, 1994).

e. Sterilisasi

Sterilisasi media merupakan suatu syarat yang sangat penting. Pemeriksaan mikrobiologis tidak mungkin dilakukan bila media yang digunakan tidak steril, karena pada hasil percobaan tidak diketahui mikroorganisme tersebut berasal dari material yang diperiksa ataukah hanya kontaminan. Untuk mendapatkan suatu media yang steril maka setiap cuplikan (pengambilan media, penuangan media, dan lain-lain) dikerjakan secara aseptik dan alat-alat yang digunakan harus steril (Anonim, 1994).

6. Antibakteri

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

Pemusnahan mikroba dengan antimikroba yang bersifat bakteristatik 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 (Setiabudy dan Gan, 1995).

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

salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju kepada matinya sel tersebut.

a. Kerusakan pada dinding sel.

Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini diantaranya adalah penisilin. Penisilin menghambat pembentukan dinding sel bakteri, dengan cara digabungkannya asam N-asetil muramat yang dibentuk dan diadakan sel ke dalam struktur mukopeptida biasanya memberi bentuk baku pada dinding sel bakteri.

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain, kemudian memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel.

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat.

Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan 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.

d. Penghambatan kerja enzim

Sulfonamid merupakan zat kemoterapi sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin. Dengan demikian karena tidak adanya enzim, maka aktivitas seluler yang normal akan terganggu.

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

DNA, RNA, dan protein memegang perubahan amat penting didalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan sel atau pada fungsi sel zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan total pada sel.

(Jawetz *et al.*, 2001)

7. Resistensi

Resistensi sel mikroba adalah sifat tidak terganggunya sel mikroba oleh anti mikroba. Ada berbagai mekanisme yang menyebabkan suatu populasi kuman menjadi resisten terhadap antibiotik. Mekanisme tersebut antara lain :

- a. Mikroorganisme memproduksi enzim yang merusak daya kerja obat.
- b. Terjadi perubahan permeabilitas kuman terhadap obat tertentu.
- c. Terjadinya perubahan pada tempat atau lokus tertentu di dalam sel sekelompok mikroorganisme tertentu yang menjadi target obat.
- d. Terjadinya perubahan pada metabolik *pathway* yang menjadi target obat

- e. Terjadinya perubahan enzimatik sehingga kuman masih dapat hidup dengan baik tapi kurang sensitif terhadap antibiotik (Sudarmono, 1993).

8. Pewarnaan Bakteri

Untuk mempelajari morfologi, struktur, sifat bakteri untuk membantu identifikasi perlu diwarnai.

a. Pewarnaan negatif

Suspensi kuman dibuat dalam zat warna negrosin dan disebaratakan gelas-gelas lin (sediaan hapus). Disini kuman tidak diwarnai dan tampak sebagai benda-benda terang dengan latar belakang. Pewarnaan ini dipakai untuk kuman yang sukar diwarnai, misalkan spirochaeta (terponema, leptospira, borrelia).

b. Pewarnaan sederhana

Pewarnaan ini hanya menggunakan satu macam zat warna. Misalkan biru metilen, air fuksin atau ungu kristal selama satu sampai dua menit. Zat warna anilin akan mudah terserap oleh kuman.

c. Pewarnaan diferensial

Pewarnaan diferensial lebih dari satu menggunakan zat warna, terdiri atas :

- 1) Pewarnaan gram yang ditemukan oleh Christian gram pada tahun 1884 untuk membedakan kuman- kuman yang bersifat Gram positif dan Gram negatif.
- 2) Pewarnaan tahan asam, misalkan pewarnaan Ziehl Neelsen, Kinyoun-Gabbett untuk membedakan kuman yang tahan asam dan yang tidak tahan asam.

d. Pewarnaan khusus

Pewarnaan ini digunakan untuk mewarnai bagian- bagian sel kuman kuman tertentu yang sulit diwarnai dengan pewarnaan biasa (Anonim, 1994).

9. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengaruh potensi antibakteri dari suatu zat dapat dilakukan dengan cara:

a. Dilusi

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi dapat ditambah suspensi kuman dalam media sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar lalu ditanami kuman (Anonim, 2000).

b. Difusi

Prinsip metode yaitu uji potensi yang berdasarkan pengamatan luas daerah hambatan pertumbuhan bakteri karena berfungsinya antibakteri dari titik awal pemberian ke daerah difusi (Anonim, 1994). Metode difusi ada beberapa cara, yaitu sumuran, cara Kirby Bauer, dan cara *pour plate*.

Pada metode difusi dikenal 2 macam pengertian yaitu:

- 1). Zona radikal: suatu daerah di sekitar difusi dimana sama sekali tidak ditemukan pertumbuhan bakteri, potensi antibakteri tersebut diukur dengan menggunakan diameter dari zona radikal tersebut.
- 2). Zona irradikal : suatu daerah di sekitar difusi dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan. Disini akan terlihat pertumbuhan yang kurang subur dibanding dengan daerah di luar pengaruh antibakteri tersebut (Anonim, 1994).

10. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikakimia. Lapisan yang dipisahkan terdiri atas bahan struktur-struktur (fase diam),

diletakkan pada penyangga berupa plat gelas, logam, lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak. Setelah pekat, lapisan diletakkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama pembuatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna dideteksi (Stahl,1985).

Fase diam berupa serbuk halus, dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bahan penyerap yang umumnya adalah silika Gel, alumunium oksida, selulosa dan turunannya serta poliamida. Silika Gel bekas banyak digunakan dan dipakai untuk campuran senyawa lipofil maupun senyawa hidrofil (Stahl, 1985, Hostettmam *et al.*, 1995).

Pemisahan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung solut yang dianalisis dan fase diam yang digunakan. Bila fase diam telah ditentukan maka memilih fase gerak dapat berpedoman pada kekuatan elusi fase gerak tersebut (Sumarno, 2001).

Pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dikenal istilah atau pengertian faktor *Retardation faktor* (Rf) untuk tiap-tiap noda kromatografi yang dirumuskan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}} \quad (1)$$

(Stahl, 1994)

E. Keterangan Empiris

Diharapkan dari penelitian ini diperoleh data ilmiah tentang aktivitas antibakteri fraksi kloroform ekstrak etanolik daun arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.) Focke) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik.