

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

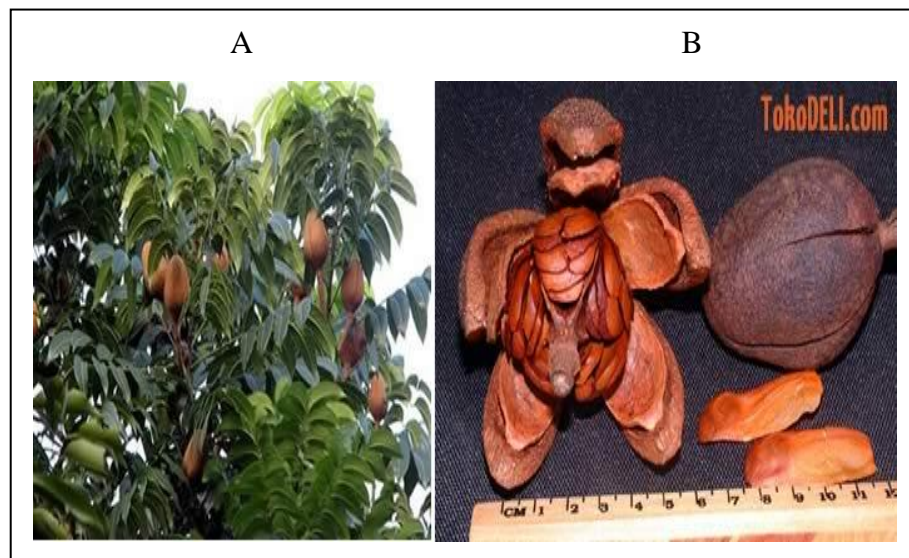
#### **A. Tumbuhan Mahoni**

##### 1. Morfologi Tumbuhan Mahoni

Mahoni (*Swietenia mahagoni* (L) Jacq) merupakan tumbuhan hijau tahunan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi yang banyak dibudidayakan di daerah tropis seperti India, Malaysia maupun Indonesia sebagai upaya reboisasi hutan dan sering diperdagangkan. Mahoni termasuk tumbuhan tropis dari famili *Meliaceae* yang berasal dari Hindia Barat. Tumbuhan ini dapat ditemukan tumbuh liar di hutan jati, pinggir pantai, dan di jalan-jalan sebagai pohon peneduh. Perkembang biakannya dengan menggunakan biji, cangkakan, atau okulasi. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan tahunan dengan tinggi  $\pm 5 - 25$  meter, berakar tunggang, berbatang bulat, percabangan banyak dan kayunya bergetah. Daunnya majemuk menyirip genap, helaian daun berbentuk bulat telur, ujung dan pangkalnya runcing, dan tulang daunnya menyirip. Daun muda berwarna merah, setelah tua berwarna hijau, buahnya bulat telur, berlekuk lima, berwarna cokelat. Di dalam buah terdapat biji berbentuk pipih dengan ujung agak tebal dengan warnanya coklat kehitaman (Yuniarti, 2008). Ilustrasi pohon mahoni dapat dilihat pada gambar 1 (A) dan untuk biji mahoni dapat dilihat pada gambar 1 (B) pada halaman selanjutnya.

Menurut Khaerudin (1999) tanaman mahoni tersusun dalam sistematika sebagai berikut:

|            |                             |
|------------|-----------------------------|
| Kingdom    | : Plantae                   |
| Divisio    | : Spermatophyta             |
| Subdivisio | : Angiospermae              |
| Kelas      | : Dicotyledone              |
| Ordo       | : <i>Rutales</i>            |
| Genus      | : <i>Swietenia</i>          |
| Spesies    | : <i>Swietenia mahagoni</i> |



**Gambar 1.** (A) Pohon mahoni dan (B) biji mahoni

Tumbuhan mahoni terdiri dua jenis, yaitu spesies *Swietenia mahagoni* (L) Jacq dan *Swietenia macrophylla* King dengan penampakan yang hampir sama

(Sunanto, 2009). Namun tumbuhan tersebut dapat dibedakan berdasarkan ukuran buah dan daunnya. *Swietenia mahagoni* (L) Jacq memiliki buah dan daun yang relatif lebih kecil dan lebih melengkung, sedangkan *Swietenia macrophylla* King memiliki daun yang lebih besar dan lebar serta buah yang lebih besar (Santosa, 2014).

## 2. Khasiat dan kegunaan biji mahoni

Ekstrak metanolik biji mahoni memiliki aktivitas farmakologi antara lain aktivitas analgetik, antipiretik, antiinflamasi ( Ghosh *et al*, 2009) antifungal, anti ulcer, antimikrobal dan aktivitas penghambatan agresi platelet ( Bhuret *et al*, 2011). Selain itu biji mahoni memiliki efek antioksidan (Kumar, 2009). Menurut Hariana (2007) biji mahoni juga bermanfaat sebagai penurun tekanan darah, penurun panas, menambah nafsu makan, mengobati rematik dan untuk mengobati eksim.

## 3. Zat antibakteri pada biji mahoni

Pada penelitian yang dilakukan oleh Haryanti tahun 2002 senyawa antibakteri yang diduga terdapat pada biji mahoni, meliputi :

### a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, butanol, etanol, dan lain-lain (Markham, 1988). Flavonoid dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid, gula yang terikat pada flavonoid mudah larut dalam air (Harborne, 1996). Golongan terbesar dari senyawa fenol

adalah flavonoid, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan bakteri, virus maupun jamur. Nurachman (2002) menambahkan bahwa senyawa-senyawa flavonoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa flavonoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antimikroba) dan antivirus bagi tanaman. Ditambahkan oleh De Padua *et al*, (1999) bahwa flavonoid mempunyai berbagai macam efek yaitu efek antitumor, antihepatotoksik, antiradang, analgesik, antifungal, antidiare, dan sebagai antihiperlikemik.

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Alkaloida tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Hampir semua alkaloida yang ditemukan di alam memiliki keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin dan stiknin adalah alkaloida yang memiliki efek fisiologis dan psikologis. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Sifat basa pada alkaloid dikarenakan

adanya atom nitrogen dalam molekul senyawa tersebut dalam struktur heterosiklik atau aromatis. Alkaloid biasanya berwarna, sering kali bersifat optis aktif, pada suhu kamar kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan, misalnya nikotina (Harborne,1987).

#### c. Terpenoid

Terpenoid terdapat dalam jamur, invertebrata laut dan feromon serangga. Selain itu terpenoid juga banyak ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi sebagai minyak atsiri yang memberi bau harum dan bau khas pada tumbuhan dan bunga. Sebagian besar terpenoid ditemukan dalam bentuk glikosida dan glikosil ester (Thompson, 1993). Terpenoid atau isoprenoid merupakan salah satu senyawa organik yang hanya tersebar di alam, yang terbentuk dari satuan isoprena ( $\text{CH}_3=\text{C}(\text{CH}_3)\text{-CH}=\text{CH}_2$ ).

Senyawa terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon yang dibedakan berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, group metil dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson, 1995). Terpenoid tumbuhan mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, antijamur, antibakteri dan gangguan kesehatan (Thomson, 2004).

#### d. Saponin

Robinson (1995) menyatakan bahwa saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel

darah merah. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba dan saponin yang diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik menjadi penting karena dapat digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Saponin merupakan glukosida tidak larut dalam eter tetapi larut dalam air dan etanol. Saponin triterpenoid umumnya tersusun dari sistem cincin oleanana atau ursana. Glikosidanya mengandung 1-6 unit monosakarida (galaktosa, ramnosa, glukosa) dan aglikonnya disebut sapogenin mengandung satu atau dua gugus karboksil (Louis, 2004).

e. Steroid

Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Steroid banyak ditemukan dalam jaringan makhluk hidup baik itu tumbuhan maupun hewan maupun fungi (Harborne, 1987, Robinson, 1995).

Berdasarkan jumlah atom karbonnya, steroid terbagi atas:

- a) Steroid dengan jumlah atom karbon 27, misalnya zimasterol
- b) Steroid dengan jumlah atom karbon 28, misalnya ergosterol
- c) Steroida dengan jumlah atom karbon 29, misalnya stigmasterol

Menurut asalnya senyawa steroid dibagi atas:

- a) Fitosterol, yaitu steroid yang berasal dari tumbuhan misalnya sitosterol dan stigmasterol.

- b) Marinosterol, yaitu steroid yang berasal dari organisme laut misalnya spongesterol.
- c) Mycosterol, yaitu steroid yang berasal dari fungi misalnya ergosterol
- d) Zoosterol, yaitu steroid yang berasal dari hewan misalnya kolesterol.

## **B. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat aktif atau zat berkhasiat dari berbagai tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut (Habone, 1987). Proses ekstraksi bahan alam digunakan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Ditjen POM, 1986). Faktor-faktor yang menentukan hasil ekstraksi adalah jangka waktu sampel kontak dengan cairan pengekstraksi (waktu ekstraksi), perbandingan antara jumlah sampel terhadap jumlah cairan pengekstraksi (jumlah bahan pengekstraksi), ukuran bahan dan suhu ekstraksi. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Perbandingan jumlah pelarut dengan jumlah bahan berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, jumlah pelarut yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, namun dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal, selain itu pemilihan jenis pelarut sangat penting dalam proses

ekstraksi sehingga bahan berkhasiat yang akan ditarik dapat tersari sempurna (Farouq, 2013).

Agar ekstrak tersebut dapat digunakan, beberapa zat dapat dijadikan pelarut suatu ekstrak, adapun beberapa pelarut yang sering digunakan diantaranya adalah metanol, etanol dan lain sebagainya. Pelarut tersebut digunakan untuk melarutkan senyawa yang tidak larut air seperti ekstrak tanaman, minyak esensial dan beberapa obat yang akan digunakan dalam uji antibakteri dengan metode difusi maupun dilusi. Pemilihan tehnik ekstraksi untuk mengekstraksi suatu bahan tumbuhan tergantung pada kandungan air, tekstur, dan bahan tumbuhan tersebut serta jenis senyawa yang akan diisolasi. Cara ini dapat digunakan untuk preparatif pemurnian pemisahan dan analisis pada semua skala kerja. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik apabila serbuk simplisia yang akan bersentuhan dengan penyari semakin luas (Anonim, 1986).

### **C. Metode Ekstraksi**

#### **1. Cara Dingin**

##### **a. Maserasi**

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi bahan alam. Maserasi adalah metode perendaman. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Maserasi merupakan cara yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia



dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air etanol atau pelarut lain. Keuntungan cara ekstraksi ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaan yang lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006).

Untuk mendapatkan ekstrak dalam waktu yang relatif cepat dapat dilakukan pengadukan dengan menggunakan shaker berkekuatan 120 rpm selama 24 jam (Yustina, 2008). Remaserasi adalah pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya, dengan kata lain adalah replikasi dengan menggunakan pelarut yang sama dengan jumlah sama terhadap bahan (Anonim, 2000).

#### b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Ditjen POM, 2000). Jika pada maserasi tidak terjadi ekstraksi yang sempurna pada simplisia karena akan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan di sekelilingnya, maka pada perkolasi melalui suplai bahan pelarut segar, perbedaan konsentrasi dapat selalu dipertahankan. Dengan demikian ekstraksi total secara

teoritis dimungkinkan (jumlah bahan yang dapat diekstraksi mencapai 95%) (Voight, 1995).

## 2. Cara Panas

### a. Soxhletasi

Soxhletasi adalah suatu metode yang umumnya dilakukan dengan alat khusus yang disebut soxhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik, juga merupakan ekstraksi dengan pelarut baru.

### b. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

### c. Reflux

Reflux adalah ekstraksi dengan pelarut dengan temperatur titik didihnya, dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik dan selama waktu tertentu. Umumnya dilakukan pengulangan residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

### d. Infus

Infus adalah ekstraksi pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus dalam keadaan tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit)).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperaturnya sampai titik didih air (Ditjen POM, 2000).

#### **D. Metode Uji Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disk diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa anti bakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu  $10^5$ - $10^8$  CFU/ml (Hermawan dkk, 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode uji antibakteri yang paling sering digunakan. Pada uji ini dikenal dua pengertian yaitu zona radikal dan zona irradikal. Zona radikal yaitu daerah di sekitar kertas cakram dimana sama sekali tidak ada pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri dapat ditentukan dengan mengukur diameter pada zona radikal dengan jangka sorong atau penggaris. Sedangkan zona irradikal adalah suatu daerah diekitar kertas cakram yang masih terdapat pertumbuhan bakteri, disini akan terlihat adanya pertumbuhan bakteri yang kurang subur atau lebih jarang dibandingkan daerah di luar pengaruh antibakteri tersebut (Jawetz dkk, 1996). Metode difusi dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain:

### 1. Metode *kirby and bauer*

Metode *kirby and bauer* (metode kertas cakram) adalah metode yang digunakan untuk menguji sensitivitas agen antimikroba terhadap mikroorganisme. Kertas cakram steril yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroba yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Penentuan aktivitas antimikroba dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan antimikroba yang terbentuk yaitu berupa area jernih di sekitar kertas cakram dengan jangka sorong atau penggaris yang diukur menggunakan satuan milimeter.

### 2. *Ditch-plate technique*

Zat antimikroba diletakkan pada parit di sepanjang media yang dibuat dengan cara memotong media agar pada cawan petri. Mikroba uji digoreskan pada parit yang berisi antimikroba dan diukur zona hambat yang terbentuk.

### 3. Metode *E-test*

Strip plastik berskala yang terdapat zat antimikroba dengan berbagai kadar konsentrasi diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroba terlebih dahulu. Zona jernih yang ditimbulkan menunjukkan adanya kadar antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroba.

#### 4. *Cup-plate technique*

Agen antimikroba diletakkan pada sumuran media yang telah ditanami mikroba. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling sumuran (Hugo dan Russels, 1998).

Metode lain yang sering digunakan dalam pengujian antibakteri yaitu metode dilusi. Metode dilusi sering digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum atau konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Mahon dan Manoselis Jr, 1995). Metode ini menggunakan antimikroba dengan berbagai kadar konsentrasi uji yang berbeda dengan menggunakan media cair. Media tersebut dilarutkan pada agen antimikroba dengan berbagai kadar yang dapat menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroba, diinokulasi dengan mikroba uji dan diinkubasi. Tahap akhir pada uji kepekaan dengan metode dilusi ini agak memakan waktu pada prakteknya ( Jawetz dkk, 1996).

#### **E. Media Tumbuh Mikroba**

Media merupakan substansi yang terdiri atas campuran zat-zat makanan (nutrien) yang digunakan untuk pemeliharaan dan pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme merupakan makhluk hidup, untuk memeliharanya dibutuhkan medium yang harus mengandung semua zat yang diperlukan untuk pertumbuhannya, yaitu antara lain senyawa-senyawa organik (protein, karbohidrat, lemak, mineral dan vitamin). Hal yang dapat mempengaruhi

keefektifitas media tumbuh pada mikroba harus diperhatikan, diantaranya susunan makanan dari media tumbuh yang meliputi air, sumber nitrogen, sumber karbon, mineral, vitamin dan gas. Selain itu derajat keasaman, tekanan osmose, suhu dan sterilitas dari media tumbuh (Benson, 2001). Menurut Flores (1992) media tumbuh *Brain Heart Difusion* merupakan salah satu media yang umum digunakan untuk budidaya berbagai jenis organisme termasuk bakteri, ragi dan juga jamur.

#### **F. Antibakteri**

Bakteri merupakan sel prokariotik yang khas, tidak mengandung membran inti dan uniseluler. Dalam pemeliharaan lingkungan bakteri memiliki peran yang sangat penting, yaitu dengan menghancurkan bahan yang tertumpuk di daratan maupun di laut. Namun disisi lain bakteri juga dapat menimbulkan penyakit terhadap binatang, tumbuhan maupun manusia (Pelczar dan Chan, 1986). Banyak faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, antara lain temperatur, pH, tekanan osmotik, cahaya, karbon maupun oksigen (Pratiwi, 2008).

Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat

berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibakteri merupakan obat pilihan yang digunakan untuk menanggulangi penyakit infeksi, namun pemakaian antibiotik yang tidak tepat dalam pengobatan infeksi dapat menimbulkan masalah yaitu munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersebut. Antibiotik berasal dari senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau tumbuhan, yang dalam jumlah tertentu mempunyai daya penghambat terhadap sifat atau kegiatan mikroorganisme tumbuhan lain, namun pada dasarnya senyawa antibiotik digunakan untuk membunuh bakteri secara langsung (Dwidjoseputro, 1990). Berdasarkan efektifitas kerjanya terhadap berbagai mikroorganisme, senyawa antibiotik dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu antibiotik berspektrum luas yang efektif terhadap berbagai jenis mikroorganisme dan antibiotik berspektrum sempit yang hanya efektif terhadap beberapa jenis bakteri tertentu (Volk dan Wheeler, 1998).

Sedangkan berdasarkan sifat toksisitas senyawa antibiotik digolongkan menjadi dua golongan, yaitu antibiotik yang bersifat bakterisida atau senyawa yang dapat membunuh organisme dan antibiotik yang bersifat bakteriostatik atau senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Gan dan Setiabudi, 1987).

## G. Bakteri Uji

Bakteri uji dapat dibedakan antara bakteri gram positif dan gram negatif. Atas dasar teknik pewarnaan diferensial yang disebut pewarnaan gram, kedua kelompok bakteri ini dibedakan terutama mengenai dinding selnya (Volk dan Weller, 1993). Perbedaan nyata dalam komposisi dan struktur di dinding sel antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif penting untuk dipahami karena diyakini bahwa dinding sel itulah yang menyebabkan perbedaan kedua kelompok bakteri ini memberikan respons. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram positif juga lebih tebal dari dinding sel bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan jauh lebih sedikit dan peptidoglikan ini mempunyai ikatan silang yang kurang efektif dibandingkan dengan yang dijumpai pada dinding bakteri gram positif. Dalam hal kerentanan terhadap antibiotik, bakteri gram positif lebih rentan terhadap penisilin daripada bakteri gram negatif, demikian juga saat pewarnaan dengan ungu kristal pertumbuhan bakteri gram positif lebih dihambat daripada bakteri gram negatif (Pelczar dan Chan, 1986).

Pada penelitian ini digunakan bakteri uji *Shigella flexneri* yang merupakan salah satu genus dari *Shigella sp.* Bakteri ini umumnya ditemukan dalam air yang tercemar oleh kotoran manusia kemudian ditransmisikan ke dalam air atau makanan yang terkontaminasi dan melalui kontak antara manusia. *Shigella flexneri* merupakan bakteri gram negatif, non motile berbentuk batang dan bersifat



anaerob fakultatif. *Shigella flexneri* dapat menyebabkan disentri basiler dengan cara menginvasi epitel usus besar. *Shigella flexneri* mampu menyerang dan memecah sel-sel epitel serta makrofag dan sel dendritik kemudian masuk ke sitosol (Lucchini dkk, 2005). Menurut Castelani and Chalmers (1919) taksonomi klasifikasi *Shigella flexneri* dapat dilihat di bawah ini dan ilustrasi *Shigella flexneri* dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini.

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gammaproteobacteria  
Order : Enterobacteriales  
Family : Enterobacteriaceae  
Genus : Shigella  
Species : *Shigella flexneri*



**Gambar 2.** *Shigella flexneri*

(CDC, 2011)

#### **H. Analisis Kandungan Kimia Menggunakan Metode KLT**

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk pemisahan, isolasi, identifikasi, dan kualifikasi komponen di dalam campuran senyawa. KLT merupakan metode analisis cepat yang memerlukan bahan yang sangat sedikit serta dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobik dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan

kromatografi kertas. Analisis metode KLT terdiri dari dua jenis yaitu KLT analitik yang digunakan hanya untuk sebatas uji kualitatif dengan fase diam yang tipis berkisar 0,10 - 0,25 mm dan KLT preparatif yang digunakan untuk preparasi sampel dengan ketebalan fase diam sampai 1 mm. Analisis dengan metode KLT melibatkan dua komponen yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap atau penyangga untuk lapisan zat cair. Adapun untuk fase gerak penggunaannya sesuai dengan keinginan dan hampir sebagian besar jenis pelarut atau campuran pelarut dapat dipakai (Gritter *et al*, 1991). Silika gel merupakan fase diam yang paling sering digunakan untuk KLT. Ukuran pemilihan fase diam dapat mempengaruhi kecepatan alir dan pemisahan. Sedangkan proses serapan terutama dipengaruhi oleh ukuran porinya yang bervariasi.

Fase gerak dapat bergerak disepanjang fase diam karena pengaruh daya gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) atau karena pengaruh kapiler pada pengembangan menaik (*ascending*) (Gandjar dan Rohman, 2007). Sistem pelarut atau fase gerak dapat dipilih dengan membandingkan nilai polaritasnya, namun dalam pemilihannya sering kali menggunakan metode trial and error. Sistem yang paling sederhana adalah campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan yang optimal dapat terjadi (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Pemilihan pelarut yang disarankan yaitu pelarut yang mempunyai titik didih antara 50-100 derajat dikarenakan dapat dengan mudah menguap dari

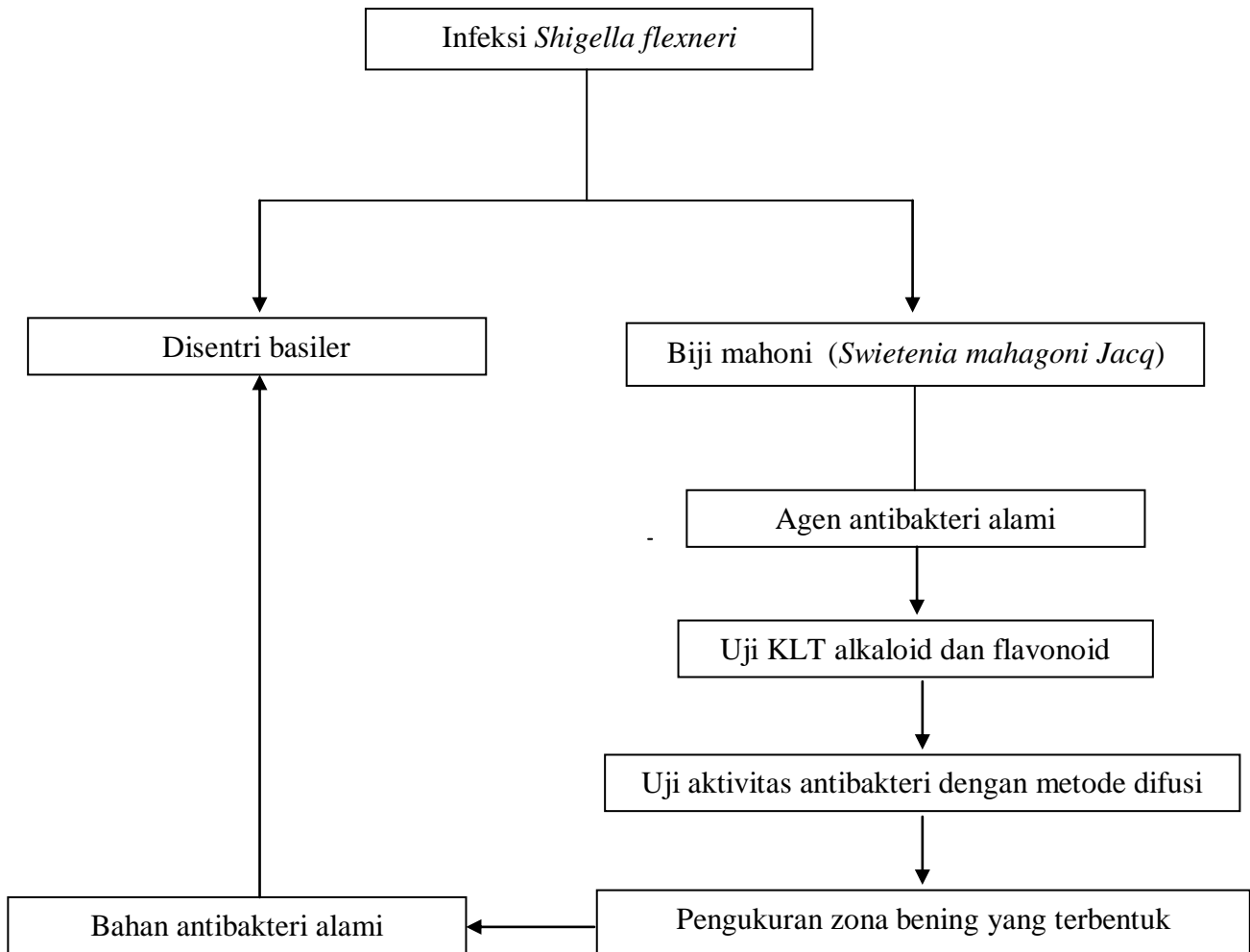
lapisan. Data yang diperoleh dari analisis KLT dinyatakan dengan Rf (*Retardation factor*) yang berguna untuk idenifikasi senyawa. Nilai Rf dapat sebagai jarak yang ditempuh oleh sampel dibagi dengan jarak yang diempuh fase gerak dari titik awal. Metode analisis KLT juga dapat menampakan senyawa dalam sampel dalam bentuk noda atau spot yang muncul (Kristanti dkk, 2008)

Umumnya bercak pemisahan hasil pengembangan tidak dapat dilihat secara langsung, hal ini dikarenakan hasil pengembangan umumnya berupa bercak yang tidak berwarna. Oleh karena itu diperlukan bantuan dalam penentuan bercak hasil pengembangan. Cara yang dapat dilakukan adalah dengan cara fisika, biologi ataupun kimia. Cara fisika dapat menggunakan fluoresensi sinar ultraviolet dan pencacahan radioaktif. Bila komponen tersebut tidak berwarna dan sulit diamati dengan mata telanjang maka komponen tersebut dapat dieksitasi dengan sinar ultra violet (UV) untuk menghasilkan fluoresensi dan fluoresensi pada panjang 254 nm dan 366 nm (Sherma dan Fried, 1994).

## **I. Kerangka Konsep**

Infeksi *Shigella flexneri* merupakan salah satu infeksi bakteri yang sering terjadi pada manusia, dan dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit. Dalam dunia kesehatan penggunaan antibiotik sebagai antibakteri sudah banyak dilakukan, namun itu belum cukup untuk mengatasi infeksi antibakteri. Akibatnya dibutuhkan alternatif lain yang bisa digunakan untuk mengatasi masalah infeksi bakteri, salah satunya dengan menggunakan zat aktif yang

terkandung di dalam tumbuhan, salah satu bahan yang berasal dari tumbuhan yang sering digunakan yaitu biji mahoni. Senyawa kimia yang terkandung dalam biji mahoni diduga mampu untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan dari *Shigella flexneri*, karena hal itu dibutuhkan uji lebih lanjut untuk memastikan efek antibakteri biji mahoni terhadap *Shigella flexneri*. Analisis kualitatif kandungan senyawa biji mahoni yaitu alkaloid dan flavonoid yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri menggunakan metode analisis Kromatografi Lapis tipis (KLT). Adapun kerangka konsepnya dapat dilihat pada gambar 3 pada halaman selanjutnya.



**Gambar 3.** Kerangka Konsep

**J. Hipotesis**

1. Biji mahoni mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid dan flavonoid yang diduga berpotensi sebagai antibakteri.
2. Ekstrak metanolik biji mahoni mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri*.
3. Terdapat nilai diameter hambatan pada tiap konsentrasi ekstrak metanolik yang diujikan terhadap *Shigella flexneri*.