

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstraksi Bagian-bagian dari Mangrove

Ekstraksi merupakan cara untuk mengisolasi senyawa bioaktif. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan 4 pelarut berbeda, yaitu metanol, kloroform, etil asetat, dan hexan. Perbedaan jenis pelarut dalam ekstraksi ini ialah untuk mengetahui jenis pelarut terbaik dalam mengisolasi senyawa bioaktif mangrove *R. mucronata*. Selain itu, perbedaan jenis pelarut juga untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif mangrove *R. mucronata*.

Hasil ekstraksi dari 6 bagian mangrove *R. mucronata*, yaitu bagian daun, akar, batang, kulit, buah, bunga, diperoleh data tentang warna dan rendemen ekstrak, seperti yang tertulis dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ekstraksi bagian mangrove *R. mucronata*.

Bagian Mangrove <i>R. mucronata</i>	Warna ekstrak				Rendemen ekstraksi (%)			
	Metanol	Kloroform	Etil asetat	Hexan	Metanol	Kloroform	Etil asetat	Hexan
Daun	Hijau pekat	Hijau kecoklatan	Hijau pekat	Kuning kehijauan	5,20 ± 2,01	1,36 ± 0,54	1,07 ± 0,42	0,47 ± 0,18
Akar	Kuning kemerahan	Kuning	Kuning kehijauan	Putih	2,19 ± 1,22	2,60 ± 1,44	0,08 ± 0,04	0,88 ± 0,48
Batang	Jingga kemerahan	Kuning	Kuning	Kuning	1,49 ± 0,58	0,33 ± 0,41	0,52 ± 0,59	0,05 ± 0,02
Kulit	Cokelat kemerahan	Kuning pekat	Kuning kehijauan	Kuning	3,21 ± 2,10	0,16 ± 0,11	0,15 ± 0,08	0,07 ± 0,05
Buah	Coklat kekuningan	Kuning pekat	Hijau kekuningan	Kuning	3,61 ± 1,72	0,84 ± 0,42	0,87 ± 0,43	0,67 ± 0,33
Bunga	Jingga kekuningan	Kuning pekat	Kuning kehijauan	Kuning	5,07 ± 2,25	1,13 ± 0,52	1,37 ± 0,63	1,55 ± 0,69

Berdasarkan hasil rendemen ekstraksi (Tabel 2), dapat diketahui jenis pelarut yang paling baik dalam mengisolasi senyawa antibakteri mangrove dan bagian tumbuhan mangrove yang paling banyak menghasilkan senyawa bioaktif.

Dari Tabel 2 diketahui bahwa rata-rata rendemen ekstraksi tertinggi diperoleh ekstrak daun dengan menggunakan pelarut metanol, yaitu sebesar $5,20 \pm 2,01\%$. Sedangkan rata-rata rendemen ekstraksi terendah diperoleh ekstrak batang dengan menggunakan pelarut heksan, yaitu sebesar $0,05 \pm 0,02\%$.

Berdasarkan perbandingan rata-rata rendemen ekstraksi pada setiap bagian tumbuhan mangrove, diketahui bahwa bagian bunga dan daun cenderung memiliki rata-rata rendemen yang tinggi, diikuti buah, akar, kulit dan terendah batang. Sedangkan berdasarkan perbandingan rata-rata rendemen pada setiap jenis pelarut ekstraksi, kecenderungan hasil rata-rata rendemen ekstraksi tertinggi terdapat pada pelarut metanol, diikuti kloroform, etil asetat dan terendah heksan. Hal ini bisa terjadi karena kandungan senyawa dalam 6 bagian mangrove *R. mucronata* (daun, akar, batang, kulit, buah, dan bunga) sebagian besar bersifat polar, sehingga senyawa tersebut banyak terisolasi dalam pelarut metanol. Menurut Salamah (2008), jumlah rendemen ekstrak bergantung pada kondisi alamiah senyawa, metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu ekstraksi, serta perbandingan sampel dengan pelarut. Ditambahkan oleh Fadhilla (2010), komposisi, warna, aroma dan rendemen pada hasil proses ekstraksi akan dipengaruhi oleh jenis, ukuran dan tingkat kematangan bahan baku, jenis pelarut, suhu, waktu serta metode ekstraksi.

Perbedaan nilai rendemen bisa disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya. Menurut Vogel (1987), terdapat kecenderungan bagi senyawa polar akan larut ke dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Ditambahkan oleh Watson (2010), bahwa semakin polar suatu pelarut, maka semakin jauh pelarut

tersebut dalam menggerakkan senyawa polar. Oleh karena itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan juga tergantung jenis pelarutnya.

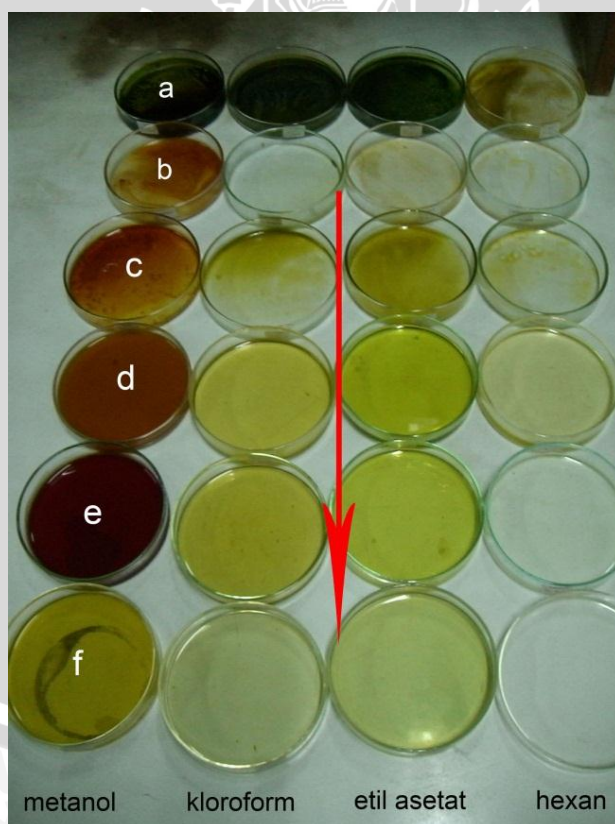
Kepolaran suatu pelarut dapat diketahui melalui indeks polaritas dari pelarut tersebut. Berdasarkan indeks polaritas, metanol merupakan pelarut terpolar dari pada kloroform, etil asetat dan heksan. Sedangkan heksan memiliki indeks polaritas terkecil dari pada kloroform, etil asetat, dan metanol. Indeks polaritas macam-macam pelarut dapat dilihat dalam Lampiran 1.

Berdasarkan perolehan nilai rendemen yang tertinggi, maka metanol dapat digunakan sebagai pelarut dalam mengekstraksi senyawa bioaktif mangrove *R. mucronata*. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Pratiwi (2010), bahwa secara umum pelarut metanol banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder. Menurut Ayuningrat (2009), metanol sebagai senyawa polar dapat disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar, dapat juga mengekstrak komponen non polar seperti lilin dan lemak.

Dari Tabel 2 juga dapat diketahui bahwa hasil ekstraksi pada bagian daun memiliki kecenderungan berwarna hijau, sedangkan pada 5 bagian lain cenderung berwarna kuning hingga coklat kemerahan. Warna hijau pada daun disebabkan daun mengandung banyak senyawa klorofil. Menurut Susanto (2011), sebagian besar klorofil terdapat dalam daun. Namun klorofil juga dapat dijumpai pada bagian-bagian tanaman yang berwarna hijau, seperti akar, batang, buah, biji dan bunga dalam jumlah yang terbatas. Sedangkan menurut Sastrohamidjojo (1996), warna kuning atau jingga pada tumbuhan disebabkan adanya flavin. Warna merah, ungu atau biru disebabkan kandungan senyawa antosianin. Ditambahkan oleh Lenny (2006), bahwa zat warna merah, ungu,

biru, dan sebagian zat warna kuning pada tumbuhan merupakan senyawa flavonoid.

Berdasarkan warna hasil ekstraksi bagian-bagian mangrove *R. mucronata* dalam setiap jenis pelarut, menunjukkan bahwa semakin polar pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi, maka warna yang dihasilkan semakin pekat, seperti yang tergambar dalam Gambar 15. Kepekatan warna tersebut juga bisa menunjukkan banyaknya senyawa yang terlarut. Gambar 15, juga menunjukkan bahwa warna hasil ekstraksi dengan pelarut metanol lebih pekat dari pada pelarut, kloroform, etil asetat, dan heksan. Sedangkan warna hasil ekstraksi dengan pelarut heksan terlihat bening, hampir tidak berwarna.



Gambar 16. Hasil ekstraksi bagian-bagian mangrove *R. mucronata*. (a) Daun, (b) Batang, (c) Buah, (d) Bunga, (e) Kulit, (f) Akar

4.2 Hasil Uji Fitokimia Mangrove *R. mucronata*

Uji fitokimia pada penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan senyawa antibakteri, yaitu alkaloid, tanin, saponin, fenolik, flavonoid, triterfenoid, steroid dan glikosida yang terdapat dalam mangrove *R. mucronata*. Hasil uji fitokimia dari 6 bagian mangrove *R. mucronata*, yaitu daun, akar, batang, kulit buah dan bunga, seperti yang tertulis dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia pada bagian-bagian tanaman *R. mucronata*.

No.	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan					
		Daun	Akar	Batang	Kulit	Buah	Bunga
1.	Alkaloid	++++	++++	++++	++++	+++	++++
2.	Tanin	+	+	++++	++++	++	+++
3.	Saponin	+	+	++	+++	++	+++
4.	Fenolik	++++	-	+++	++++	++	++
5.	Flavonoid	++++	-	+++	++++	+	++
6.	Triterfenoid	++++	-	+++	++++	+	+
7.	Steroid	++	+	-	-	-	-
8.	Glikosida	++++	+	+++	+++	++	+++

Keterangan :
 - : Negatif
 + : Positif lemah
 ++ : Positif
 +++ : Positif kuat
 ++++ : Positif kuat sekali

Menurut Miles *et al.*, (1999) tanaman mangrove mengandung senyawa kimia antara lain garam, asam organik, karbohidrat, benzokuinon, naptofuran, sesquiterpen, triterpenoid, alkaloid, flavonoid, polimers, derivat sulfur dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil uji fitokimia pada bagian-bagian tanaman *R. mucronata* pada Tabel 3 dapat diketahui bahwa bagian daun memiliki senyawa fitokimia lebih kompleks, dibandingkan dengan bagian kulit, batang, bunga, buah, dan akar.

Pada bagian daun terdeteksi positif kuat mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, triterfenoid, dan glikosida. Bagian daun juga mengandung steroid, saponin dan tanin, namun terdeteksi positif hingga positif lemah.

Pada bagian kulit terdeteksi positif kuat sekali mengandung senyawa alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, dan triterfenoid. Kulit juga positif kuat mengandung saponin dan glikosida, namun kulit tidak memiliki steroid.

Pada bagian batang terdeteksi senyawa-senyawa fitokimia yang sama dengan kulit, yaitu tidak terdapat senyawa steroid. Batang terdeteksi memiliki senyawa alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, triterfenoid, saponin dan glikosida. Namun, senyawa fitokimia yang terdeteksi positif kuat sekali hanya alkaloid dan tanin. Sedangkan senyawa fenolik, flavonoid, triterfenoid, serta glikosida terdeteksi positif kuat, dan senyawa saponin terdeteksi positif.

Sama dengan kulit dan batang, pada bagian buah dan bunga juga tidak memiliki steroid. Pada buah rata-rata senyawa alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, saponin, dan glikosida terdeteksi positif hingga positif lemah. Sedangkan, pada bagian bunga alkaloid terdeteksi positif kuat sekali.

Dari Tabel 3, diketahui bahwa akar memiliki keberagaman kandungan senyawa fitokimia paling sedikit dari pada kelima bagian mangrove lainnya. Bagian akar hanya memiliki alkaloid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Alkaloid pada akar terdeteksi positif kuat sekali. Sedangkan kandungan senyawa tanin, saponin, steroid dan glikosida terdeteksi positif. Menurut Robinson (1995), alkaloid dapat mengganti basa mineral untuk mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan dengan menukar kation dalam tanah. Sehingga, alkaloid dalam akar mampu meningkatkan pengambilan nitrat dari dalam tanah.

Pada Tabel 3 juga menunjukkan bahwa senyawa-senyawa fitokimia tersebar luas pada setiap bagian tumbuhan dan tidak semua bagian memiliki kandungan senyawa fitokimia yang sama. Keadaan tersebut dikarenakan produksi fitokimia sebagai salah satu sumber metabolit sekunder berkaitan dengan beberapa faktor luar. Menurut Sastrohamidjojo (1996), faktor luar yang mempengaruhi produksi metabolit sekunder ialah, seperti replikasi pertumbuhan, pembungaan, musim, suhu, habitat, panjangnya siang hari, dan sebagainya.

Diantara kedelapan senyawa fitokimia pada Tabel 3, alkaloid merupakan senyawa yang terdeteksi positif kuat sekali pada hampir keseluruhan bagian tumbuhan. Menurut Robinson (1995), beberapa alkaloid mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen yang merupakan komponen penyusun dari banyak senyawa esensial bagi tumbuhan, seperti asam-asam amino penyusun protein dan enzim. Oleh sebab itu, alkaloid tersebar luas ke setiap bagian tumbuhan.

Tanin, fenolik, flavonoid, dan terpenoid juga terdeteksi positif kuat sekali pada beberapa bagian tumbuhan. Tanin banyak ditemukan pada bagian kulit dan batang untuk membantu proses metabolisme (Najib, 2010). Tanin merupakan senyawa fenol yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan, seperti karboksil, untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Horvart, 1981). Menurut Wei Chuan (2008), tanin sering ditemukan pada area pertumbuhan aktif dari pohon, seperti floem dan xilem sekunder, serta merupakan lapisan antara epidermis dan korteks.

Fenolik, flavonoid, dan triterpenoid banyak ditemukan pada bagian daun dan kulit. Hal ini disebabkan, fenolik dan flavonoid merupakan komponen dalam pigmentasi tumbuhan. Menurut Lattanzio, *et al.*, (2006), tanaman memerlukan fenolik untuk pigmentasi, pertumbuhan, resistensi terhadap bakteri patogen. Ditambahkan oleh Lenny, (2006), bahwa flavonoid merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning pada tumbuh-tumbuhan. Sedangkan triterpenoid, menurut Basyuni (2007), berfungsi untuk mengatur tekanan kadar garam.

4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri (*S. aureus* dan *E. coli*) Ekstrak *R. mucronata*

Uji aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada ekstrak *R. mucronata* digunakan untuk mengetahui bagian mangrove dan jenis pelarut terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak mangrove *R. mucronata* ditunjukkan dalam Tabel 4, yaitu berupa rata-rata zona penghambatan dari 6 bagian mangrove (daun, akar, batang, kulit, buah dan bunga) dan 4 pelarut (metanol, kloroform, etil asetat, dan heksan).

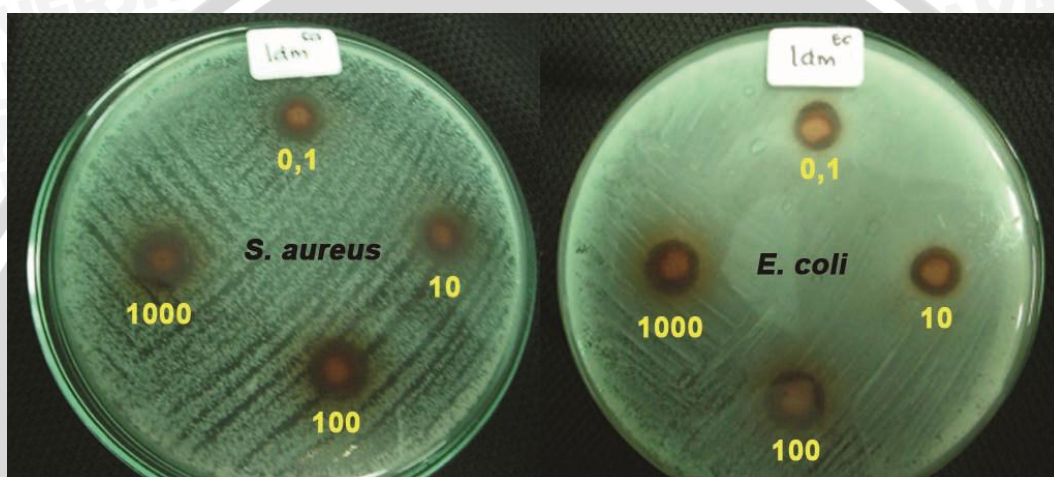
Tabel 4. Rata-rata zona penghambatan bakteri *S. Aureus* dan *E. Coli* oleh ekstrak 6 bagian mangrove *R. mucronata* dengan 4 pelarut berbeda (mm).

Bakteri	Bagian Mangrove*	Metanol	Kloroform	Etil asetat	Hexan
S. aureus	a	11,75 ± 5,79	11,25 ± 9,04	9,22 ± 6,78	-
	b	10,65 ± 5,30	5,75 ± 0,44	6,55 ± 1,13	-
	c	8,45 ± 2,84	6,52 ± 1,10	6,38 ± 1,15	-
	d	12,88 ± 6,65	-	-	6,78 ± 0,65
	e	7,75 ± 3,42	-	-	-
	f	7,38 ± 2,79	-	-	-
E. coli	a	5,88 ± 0,71	8,15 ± 5,02	9,05 ± 5,26	-
	b	8,32 ± 2,87	6,08 ± 0,51	6,25 ± 0,95	-
	c	7,98 ± 2,42	6,02 ± 1,00	7,05 ± 0,52	-
	d	9,32 ± 2,06	-	-	6,38 ± 1,96
	e	5,48 ± 0,40	-	-	-
	f	5,55 ± 0,52	-	-	-

Keterangan : *Bagian Mangrove *R. mucronata* : a = Daun, b = Akar, c = Batang, d = Kulit, e = Buah, f = Bunga

Dari Tabel 4, dapat diketahui bahwa rata-rata zona penghambatan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dari setiap bagian-bagian mangrove berkisar antara 5,48 ± 0,40 mm sampai dengan 12,88 ± 6,65 mm. Rata-rata zona penghambatan terbesar pada bakteri *S. aureus* diperoleh ekstrak kulit dengan pelarut metanol, yaitu sebesar 12,88 ± 6,65 mm. Demikian juga pada *E. coli* rata-rata zona penghambatan terbesar diperoleh ekstrak kulit dengan pelarut

metanol, yaitu sebesar $9,32 \pm 2,06$ mm. Sedangkan rata-rata zona penghambatan terkecil bakteri *S. aureus* sebesar $5,75 \pm 0,44$ mm, yaitu pada ekstrak bagian akar dengan pelarut kloroform. Rata-rata zona penghambatan bakteri *E. coli* terkecil diperoleh pada bagian buah dengan pelarut metanol, yaitu sebesar $5,48 \pm 0,40$ mm. Adapun gambar hasil uji antibakteri dari ekstrak kulit dengan pelarut metanol seperti pada Gambar 16.



Gambar 17. Hasil uji antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* dari ekstrak kulit dengan pelarut metanol.

Berdasarkan hasil uji fitokimia (Tabel 3), pada bagian kulit mangrove *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, fenolik, flavonoid, triterfenoid dan glikosida. Menurut Rowe (1989), senyawa kimia dari mangrove yang berperan sebagai antimikrobia, yaitu golongan alkaloid yang dikenal sebagai berberina, emitina, kuinina dan tetrametil pirazina. Pada jaringan kayu biasanya terdapat senyawa asam amino aromatik dari golongan fenolik. Senyawa tersebut berasal dari jalinan asam sikimat yang bisa digunakan sebagai herbisida. Tanin biasa digunakan untuk menyamak kulit, karena kemampuannya dalam memotong dan mendenaturasi protein serta mencegah proses pencernaan bakteri. Flavonoid serta isoprenoid dengan turunannya, yaitu

saponin dan triterfenoid, merupakan iritan yang kuat dan juga berperan sebagai antimikrobal.

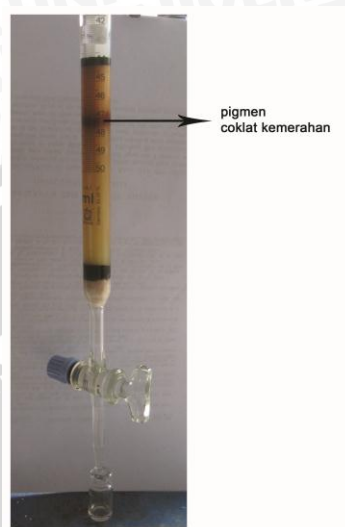
Berdasarkan hasil zona penghambatan uji aktivitas antibakteri yang terbesar dan hasil uji fitokimia, bagian mangrove *R. mucronata* yang paling berpotensi sebagai antibakteri ialah kulit. Didukung oleh Miles (1999) yang menyatakan, bahwa bagian kulit *R. mucronata* biasa digunakan juga dalam pengobatan diare, disentri, dan leprosy. Oleh sebab itu, untuk tahap selanjutnya (pemisahan hingga karakterisasi) digunakan sampel ekstrak kulit dengan pelarut metanol.

4.4 Hasil Pemisahan

Partisi dalam penelitian ini digunakan untuk memisahkan lagi senyawa ekstrak kasar mangrove *R. mucronata*, sehingga diperoleh senyawa yang lebih murni. Ekstrak sampel yang digunakan dalam partisi adalah ekstrak sampel dengan zona penghambatan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* terbesar. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *R. mucronata* diketahui bahwa ekstrak kulit dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antibakteri terbesar. Maka ekstrak sampel yang digunakan untuk partisi adalah ekstrak kulit dengan pelarut metanol.

Proses partisi dilakukan dengan menggunakan kolom kromatografi. Pelarut yang digunakan untuk kolom kromatografi merupakan campuran pelarut polar dan non polar, dengan perbandingan bertingkat, yaitu 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1. Hasil partisi ditandai dengan terbentuknya pita kromatogram pada kolom. Hasil partisi terbaik diperoleh menggunakan campuran pelarut metanol dan air dengan perbandingan 5:5. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa hasil partisi ekstrak kulit mangrove bersifat sangat polar, karena

metanol dan air merupakan pelarut-pelarut yang bersifat polar. Adapun gambar proses partisi dengan kolom seperti yang terlihat pada Gambar 17.



Gambar 18. Proses kolom kromatografi ekstrak kulit dengan pelarut metanol.

Kemudian hasil partisi kolom ekstrak kulit dengan pelarut metanol ditampung dalam botol vial, seperti dalam Gambar 18.



Gambar 19. Proses kolom kromatografi ekstrak kulit dengan pelarut metanol.

Berdasarkan hasil kolom kromatografi menunjukkan hasil warna coklat kemerahan hingga jingga yang diduga merupakan senyawa golongan flavonoid. Menurut Robinson (1995), warna coklat-jingga merupakan ciri warna dari senyawa flavanonol yang termasuk dalam salah satu golongan flavonoid. Harborne (2006) menyatakan bahwa warna merah atau jingga menunjukkan adanya antosianidin 3-glikosida atau aknosianidin 3,5-diglikosida. Sedangkan warna coklat bisa menunjukkan adanya senyawa 6-hidroksi flavonol dan flavon,

beberapa khalkon glikosida, khalkon, auron, flavonol glikosida, atau isoflavon dan flavanonol.

4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri (*S. aureus* dan *E. coli*) Partisi *R. mucronata*

Uji aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada partisi ekstrak kulit *R. mucronata* dengan pelarut metanol dilakukan untuk mengetahui aktivitas bioaktif yang terkandung dalam partisi polar dan non polar dari ekstrak tersebut, sehingga diketahui partisi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil zona penghambatan bakteri pada partisi polar dan non polar ditunjukkan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata zona penghambatan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* oleh Partisi polar dan non polar kulit metanol mangrove *R. mucronata*

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata			
	Polar		Non polar	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
7000	7,05 ± 2,55	5,75 ± 0,42	5,75 ± 0,00	-
3500	6,05 ± 1,13	5,80 ± 0,21	5,90 ± 0,07	-
1750	5,60 ± 0,49	6,45 ± 0,28	5,85 ± 0,14	-
875	5,95 ± 0,99	5,80 ± 0,49	5,65 ± 0,00	5,55 ± 0,42

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa hasil rata-rata zona penghambatan bakteri *S. aureus* terbesar diperoleh pada ekstrak partisi polar, yaitu 7,05 ± 2,55 mm. Rata-rata zona penghambatan bakteri *S. aureus* terkecil juga diperoleh pada ekstrak partisi polar, yaitu 5,60 ± 0,49 mm. Demikian juga dengan hasil rata-rata terbesar zona penghambatan bakteri *E. coli* diperoleh pada ekstrak partisi polar, yaitu sebesar 6,45 ± 0,28 mm. Namun, hasil rata-rata terkecil zona penghambatan bakteri *E. coli* diperoleh pada ekstrak partisi non polar, yaitu sebesar 5,55 ± 0,42 mm.

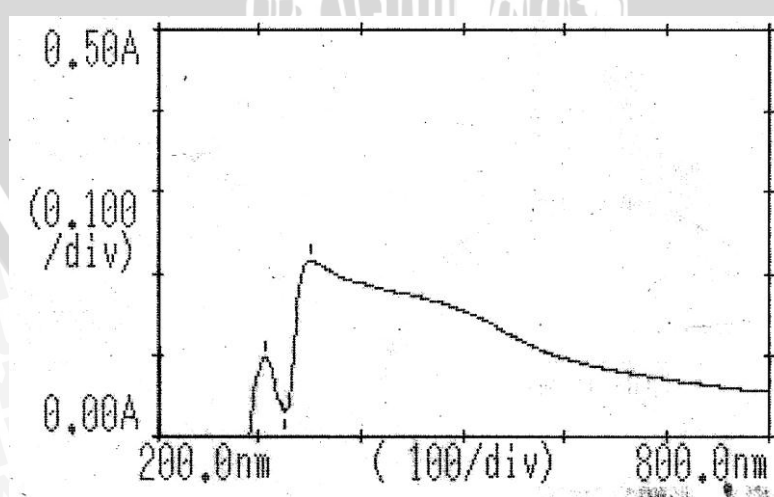
Tabel 5 menunjukkan bahwa senyawa bioaktif, khususnya senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri, sebagian besar terdapat dalam ekstrak dengan pelarut polar. Hal ini memperjelas bahwa senyawa antibakteri dari kulit *R. mucronata* adalah termasuk dalam senyawa bersifat polar.

4.6 Identifikasi senyawa Antibakteri (*S. aureus* dan *E. coli*) dari mangrove *R. mucronata*

Bioaktif mangrove *R. mucronata* diidentifikasi menggunakan uji spektrofotometri UV-Vis dan FT-IR. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak kulit mangrove *R. mucronata* dengan pelarut metanol, maka fraksi polar lah yang diidentifikasi kandungan senyawanya.

4.6.1 Hasil Uji Spektrofotometer *Ultraviolet Visible* (UV-Vis)

Pada hasil pengujian spektrofotometer UV-Vis untuk ekstrak kulit mangrove (*R. mucronata*) diketahui terdapat 2 puncak, yaitu pada absorbansi 0,2152 A dengan panjang gelombang 352,0 nm dan pada absorbansi 0,0984 A dengan panjang gelombang 307,0 nm. Spektra UV-Vis ekstrak kulit mangrove *R. mucronata* dengan pelarut metanol, seperti pada Gambar 5.



Gambar 20. Spektra UV-Vis ekstrak kulit mangrove *R. mucronata* dengan pelarut metanol.

Panjang gelombang 352,0 nm dan 307,0 nm termasuk dalam kisaran panjang gelombang flavonoid. Menurut Harborne (2006), panjang gelombang 350-390 nm termasuk dalam ciri spektrum golongan flavonoid utama, khususnya flavonol. Sedangkan panjang gelombang 307,0 nm berada pada kisaran panjang gelombang flavanon dan flavanonol, yaitu 275-290 nm untuk panjang gelombang maksimum utama dan 310-330 nm untuk panjang gelombang maksimum tambahan dengan intensitas nisbi 30%. Panjang gelombang 307,0 nm juga bisa menunjukkan spektrum isoflavon. Adapun panjang gelombang isoflavon menurut Harborne (2006) ialah 225-265 nm untuk panjang gelombang maksimum utama dan 310-330 nm untuk panjang gelombang maksimum tambahan dengan intensitas nisbi 25%.

Menurut Fessenden dan Fessenden (1999), dalam molekul yang memiliki ikatan rangkap tak terkonjugasi, mengakibatkan penyerapan sinar UV-Vis terjadi pada panjang gelombang yang lebih pendek dari pada yang dialami sistem terkonjugasi. Makin banyak ikatan rangkap tak terkonjugasi, maka makin besar energi yang diperlukan untuk mengalami transisi, sehingga absorpsi akan semakin bergeser kepanjang gelombang yang lebih kecil.

Berdasarkan hasil panjang gelombang tersebut maka diduga senyawa antibakteri dalam mangrove *R. mucronata* terutama pada ekstrak kulit dengan pelarut metanol adalah senyawa flavonoid, antara lain flavonol, flavanon, flavanonol, atau isoflavon.

4.6.2 Hasil Uji Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Hasil uji spektrofotometer FT-IR pada ekstrak partisi polar kulit mangrove *R. mucronata* dengan pelarut metanol diperoleh 15 puncak.

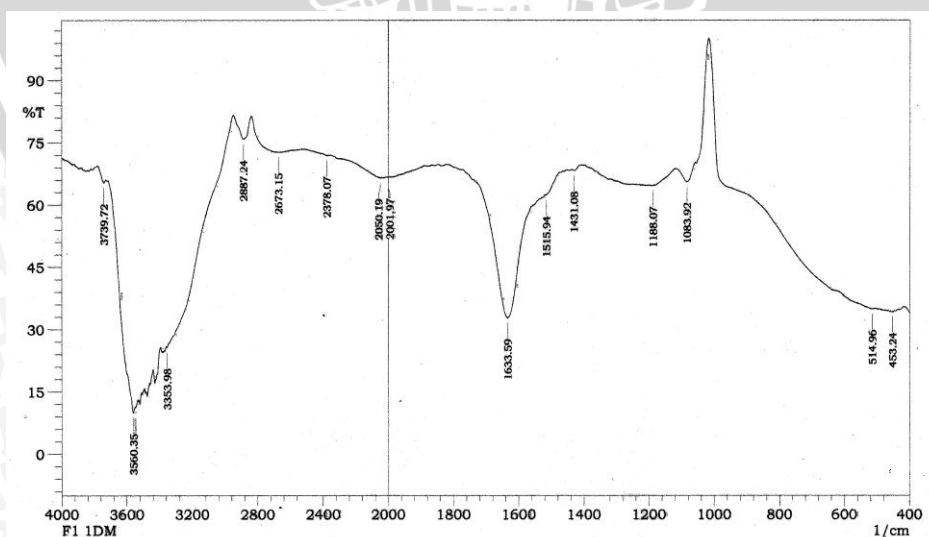
Kemudian dianalisa menggunakan tabel korelasi inframerah pada Lampiran 2.

Maka didapatkan hasil seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji spektra FT-IR dari fraksi polar kulit *R. mucronata*.

Panjang Gelombang (cm ⁻¹)		Kemungkinan Gugus Fungsi
Pada Spektra	Pada Pustaka (Sastrohamidjojo, 1992; Pavia et al., 2001)	
453,24	-	-
514,96	-	-
1083,92	1400-1000, 1350-1000, 1300-1000	Florida (C-X), Amin (C-N), (C-O) Alkohol, Ester, Asam Karboksilat, Anhidrida.
1188,07	1400-1000, 1350-1000, 1300-1000	Florida (C-X), Amin (C-N), (C-O) Alkohol, Ester, Asam Karboksilat, Anhidrida.
1431,08	1400-1000, 1450 dan 1375	Florida (C-X), bengkokan -CH ₃ (C-H)
1515,94	-	-
1633,59	1850-1630, 1680-1600, 1640-1550	Karbonil (C=O), Alkene (C=C), bengkokan Amin primer dan Sekunder dan Amida (N-H)
2001,97	2270-1950	Allen, Keten, Isosianat, Isotisianat (X = C = Y)
2050,19	2270-1950	Allen, Keten, Isosianat, Isotisianat (X = C = Y)
2378,07	-	-
2673,15	3400-2400	Asam Karboksilat (O - H)
2887,24	3400-2400, 3000-2850	Asam Karboksilat (O - H), rentangan Alkana (C-H)
3353,98	3400-2400, 3500-3200, 3500-3100	Asam Karboksilat (O - H), alkohol fenol dengan ikatan -H (O-H), rentangan Amin primer dan Sekunder dan Amida (N-H)
3560,35	3650-3200	Hidroksil (O-H)
3739,72	-	-

Adapun gambar spektra hasil uji spektrofotometer FT-IR pada ekstrak partisi polar kulit metanol mangrove *R. mucronata*, seperti pada Gambar 20.



Gambar 21. Spektra FT-IR ekstrak kulit mangrove *R. mucronata* dengan pelarut metanol.

Berdasarkan hasil uji spektrofotometer FT-IR dapat diketahui bahwa ekstrak kulit dengan pelarut metanol mangrove *R. mucronata* memiliki gugus fungsi alkohol dan fenol. Hal ini dapat dilihat dari perolehan serapan lebar dan kuat pada puncak $3353,98\text{ cm}^{-1}$ dan $3560,35\text{ cm}^{-1}$. Selain itu, pada ekstrak kulit dengan pelarut metanol mangrove *R. mucronata* juga terdapat serapan lebar pada $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan ikatan C–O, yaitu pada puncak $1083,92\text{ cm}^{-1}$ dan $1188,07\text{ cm}^{-1}$. Menurut Sastrohamidjojo (1992), suatu senyawa dikatakan termasuk dalam golongan alkohol dan fenol apabila terdapat ikatan O–H dan C–O yang ditunjukkan dengan puncak serapan lebar dekat $3600\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ dan $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$.

Pada ekstrak kulit dengan pelarut metanol mangrove *R. mucronata* juga terdapat serapan pada $2400\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan ikatan O–H dari asam karboksilat, yaitu pada puncak $2673,15\text{ cm}^{-1}$, $2887,24\text{ cm}^{-1}$, dan $3353,98\text{ cm}^{-1}$. Puncak $2887,24\text{ cm}^{-1}$ juga menunjukkan rentangan alkana (C–H) simetris. Puncak $2001,97\text{ cm}^{-1}$ dan $2050,19\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus Allen, Keten, Isosianat, Isotisianat dengan bentuk ikatan $\text{X}=\text{C}=\text{Y}$. Puncak $1633,59\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus karbonil (C=O), gugus Alkene (C=C) atau bengkokan Amin primer dan Sekunder serta Amida (N–H). Puncak $1083,92\text{ cm}^{-1}$, $1188,07\text{ cm}^{-1}$, dan $1431,08\text{ cm}^{-1}$ termasuk dalam kisaran gugus Florida (C–X) dan bengkokan –CH₃. Puncak $1083,92\text{ cm}^{-1}$ dan $1188,07\text{ cm}^{-1}$ juga termasuk dalam kisaran gugus Amin (C–N) dan ikatan C–O dari Alkohol, Ester, Asam Karboksilat, atau Anhidrida.

Serapan kuat pada puncak $1633,59\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya cincin C=C aromatik. Diperkuat juga dengan munculnya serapan pada daerah sebelah kiri dari 3000 cm^{-1} ($>3000\text{ cm}^{-1}$). Berdasarkan bentuk dan jumlah puncak serapan kombinasi dan overton lemah yang muncul antara 2000 dan 1667 cm^{-1} ,

diketahui bahwa cincin aromatik berbentuk pentasubstitusi. Bengkokan --CH_3 asimetris yang terjadi pada puncak $1431,08\text{ cm}^{-1}$, diperkuat dengan C-H simetris pada puncak $2887,24\text{ cm}^{-1}$, menunjukkan adanya gugus metil alkohol atau fenol. Hal ini sesuai dengan Silverstein *et al.* (1986), bahwa gugus-gugus metil (CH_3) pada alkohol dan fenol biasanya memiliki bengkokan simetris didekat 1375 cm^{-1} , sedangkan bengkokan asimetris didekat 1450 cm^{-1} .

Dalam hasil penelitian Akbar (2010), menyatakan bahwa hasil analisis FT-IR golongan flavonoid, khususnya flavon dan flavonol, pada daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) menunjukkan gugus fungsi O-H, C=O, C-O, C=C aromatik, dan C-H alifatik. Gugus-gugus tersebut hampir sama dengan gugus fungsi yang dimiliki senyawa fraksi kulit *R. mucronata*, yaitu gugus fungsi O-H, C-O, C=C, dan C-H aromatik. Maka diduga isolat antibakteri fraksi kulit *R. mucronata* mengandung gugus fungsi flavonoid.

Flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon yang dapat larut dalam air. Flavonoid dapat berupa senyawa fenol yang warnanya dapat berubah bila ditambahkan basa atau amonia. Sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 2006). Menurut Salamah, *et al.* (2008), kelompok flavonoid mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi yang mempunyai aktivitas antioksidan. Flavonoid diketahui sebagai antioksidan yang baik karena mempunyai sedikitnya dua gugus hidroksil pada posisi *orto* dan *para* (Winarno, 1996). Senyawa flavonoid pada umumnya bersifat aromatik, sehingga dapat menyerap spektrum ultraviolet (UV) secara intensif.

4.7 Karakter Bioaktif Mangrove *R. mucronata*

Berdasarkan hasil-hasil pengujian yang telah dipaparkan sebelumnya, maka dapat diketahui karakteristik senyawa bioaktif yang berperan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dalam ekstrak kulit mangrove *R. mucronata* dengan pelarut metanol. Senyawa antimikroba dalam ekstrak kulit dengan pelarut metanol bersifat polar. Hal ini diketahui dari setiap pengujian antimikroba, perolehan zona penghambatan tertinggi selalu diperoleh dari ekstrak dengan pelarut polar.

Berdasarkan hasil identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR diduga senyawa ekstrak kulit *R. mucronata* adalah golongan flavonoid. Hasil tersebut diperkuat dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid terdeteksi dalam senyawa-senyawa yang positif kuat sekali dalam kulit *R. mucronata*.

Namun, aktivitas antibakteri dari kulit *R. mucronata* juga dipengaruhi oleh senyawa-senyawa lain, seperti alkaloid, tanin, fenolik, triterfenoid, saponin dan glikosida. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji aktivitas antibakteri, yaitu semakin murni senyawa hasil ekstraksi, maka semakin kecil zona penghambatan bakteri.

Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri. Dinding sel bakteri, yang terdiri atas lipid dan asam amino, akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Selanjutnya, senyawa ini akan kontak dengan DNA pada inti sel bakteri dan menimbulkan kerusakan struktur lipid dari DNA bakteri akibat perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada

senyawa flavonoid. Sehingga akan berakibat pula pada kerusakan inti sel bakteri.

Mekanisme aktivitas biologis flavonoid pada dasarnya sama dengan senyawa fenolik dan tanin, karena senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus hidroksil yang akan mempengaruhi kepolaran lipid penyusun sel bakteri dengan gugus hidroksil dari senyawa tersebut. Apabila sel bakteri semakin banyak mengandung lipid maka akan semakin banyak diperlukan senyawa tannin untuk membuat bakteri tersebut lisis (Gunawan, 2009). Namun, ini berbeda dengan yang dilakukan oleh senyawa alkaloid, dimana senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Sedangkan pada senyawa alkaloid memanfaatkan sifat reaktif gugus basa pada senyawa alkaloid untuk bereaksi dengan gugus asam amino pada sel bakteri.

Menurut Gunawan (2009), kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri sangat dipengaruhi oleh adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Adanya gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA bakteri yang merupakan penyusun utama inti sel yang merupakan pusat pengaturan segala kegiatan sel. Reaksi ini terjadi karena secara kimia suatu senyawa yang bersifat basa akan bereaksi dengan senyawa asam, dalam hal ini adalah asam amino. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, karena sebagian besar asam amino telah bereaksi dengan gugus basa dari senyawa alkaloid. Perubahan susunan asam amino ini jelas akan merubah susunan rantai DNA pada inti sel yang semula memiliki susunan asam dan basa yang saling berpasangan. Perubahan susunan rantai asam amino pada DNA akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik

pada asam DNA. Sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA tersebut akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel bakteri. Lama kelamaan akan membuat sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme, sehingga juga akan mengalami lisis. Dengan demikian bakteri akan menjadi inaktif dan hancur (lisis).

Berdasarkan hasil-hasil uji aktivitas antibakteri terdapat kecenderungan untuk zona penghambatan bakteri *S. aureus* lebih besar jika dibandingkan zona penghambatan bakteri *E. coli*. Hal ini disebabkan bakteri gram positif, yaitu *S. aureus*, cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Menurut Kusmiati dan Agustini (2006), struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk kedalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan bakteri gram negative menurut Fadhilla (2010), ialah pada bakteri gram positif 90% dinding selnya terdiri lapisan peptidoglikan, sedangkan bakteri gram negatif lapisan peptidoglikan hanya sekitar 5-20%. Senyawa antibakteri dapat mencegah sintesis peptidoglikan pada sel yang sedang tumbuh, maka bakteri gram positif umumnya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif. Senyawa fenol dapat bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran luar sel, sehingga menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran dan akan mengakibatkan sel mengalami kebocoran. Perubahan permeabilitas membran akan menyebabkan keluarnya metabolit seluler selain protein, asam nukleat dan ion-ion logam (Ca^{2+} , K^+ , dan Mg^+) dan perubahan morfologi.

Menurut Buck (2001), menyatakan dalam penelitiannya bahwa awal-awal terjadinya interaksi mekanisme antimikroba pada bakteri gram negatif umumnya senyawa antimikroba akan dihambat oleh membran luar berupa

lipopolisakarida. Kemudian terjadi akumulasi yang kemudian mengganggu ikatan-ikatan hidrofilik membran luar. Secara selektif sebagian senyawa antimikroba dengan ukuran molekul kecil masuk melalui protein porin hingga menuju sitoplasma.

Dari sebagian senyawa aktif yang terdapat pada mangrove, sebagian besar berfungsi sebagai antibakteri. Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri ditentukan oleh adanya gugus fungsi -OH (hidroksi) bebas dari ikatan rangkap karbon-karbon, seperti flavon, flavanon, skualen, tokoferol, β -karoten dan vitamin C (Djarmiko, 1998).

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Bryan, 1982, dan Wilson, 1982). Sementara Mirzoeva *et al.* (1995), dalam penelitiannya mendapatkan bahwa flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Di Carlo *et al.* (1999) dan Estrela *et al.* (1995) yang menyatakan bahwa gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri (Sabir, 2005).

Berdasarkan data diatas maka diperoleh hasil zona penghambatan terbaik terdapat pada ekstrak bunga dengan pelarut metanol pada fraksi polar. Menurut Kanazawa *et al.*, (1995), suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, Karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan

hidrofilik-lipofilik (HLB: *hydrophilic lipophilic balance*). Polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antimikroba yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik untuk mencapai aktifitas yang optimal.

Pada konsentrasi rendah, fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran isi sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan, dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat berpenetrasi dengan mudah dan merusak sel (Branen dan Davidson, 1993).

