

UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWAAKTIF EKSTRA MURNI DAUN
MANGROVE MENENGAN (*Excoecaria agallocha*) TERHADAP BAKTERI *Shigella*
flexneri

ARTIKEL SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

Oleh:
SUVENIR DEBRI ANGGA
MIM. 125080307111014



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWAAKTIF EKSTRA MURNI DAUN MANGROVE
MENENGAN (*Excoecaria agallocha*) TERHADAP BAKTERI *Shigella flexneri*

Artikel Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana
Perikanan di Fakultas Peikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

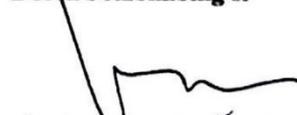
Oleh:
SUVENIR DEBRI ANGGA
MIM. 125080307111014

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Yahya, MP)
NIP. 19630706 199003 1 003
Tanggal: 17 OCT 2016

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Hartati Karilkaningsih, MS)
NIP. 19640726 198903 2 004
Tanggal: 17 OCT 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Arding Wilandari Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 17 OCT 2016

UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF EKSTRAK MURNI DAUN MANGROVE MENENGAN (*Excoecaria agallocha*) TERHADAP BAKTERI *Shigella flexneri*

Suvenir Debri Angga¹, Yahya², Hartati Kartikaningsih²

ABSTRAK

Excoecaria agallocha merupakan mangrove yang memiliki senyawa aktif excoecariotoxins, saponin dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas penghambatan ekstrak murni daun mangrove *E. agallocha* terhadap *Shigella flexneri* dan mengidentifikasi senyawa aktifnya. Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif. Daun *E. agallocha* diekstraksi dengan larutan etanol 1:3 (b/v) pada suhu ruang. Ekstrak kasar diuji fitokimia dan difraksinasi dengan kromatografi kolom. Kemudian fraksi murni diidentifikasi senyawa aktifnya dengan uji KLT, uji FT-IR untuk mengetahui gugus fungsinya dan uji LC-MS untuk menentukan berat molekul senyawa. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan uji dilusi tabung dan dilanjutkan dengan uji SEM untuk menunjukkan kerusakan morfologi bakteri *S. flexneri*. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun *E. agallocha* mengandung senyawa golongan alkaloid, tanin, saponin, tanin dan flavonoid. Kromatografi kolom menghasilkan 4 fraksi yang dipisahkan berdasarkan warna, yakni A, B, C dan D. Semua fraksi dapat menghambat pertumbuhan dan merusak morfologi *S. flexneri*, namun penghambatan terbesar terjadi setelah penambahan fraksi B dan crude. *S. flexneri* dengan kepadatan awal sebesar 2.4×10^9 /ml turun menjadi 0.9×10^9 /ml setelah penambahan fraksi B dan crude. Hasil FT-IR dan LC-MS crude memiliki gugus C-OH aromatik, C-H, CH₂ dan CH₃ dengan berat molekul 136 m/z (*hypoxanthine*), fraksi A memiliki gugus O-H, C-H, CH₃ dan CH₂ dengan berat molekul 314 m/z (*5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone*), fraksi B memiliki gugus O-H, CH₃ dan CH₂ dengan berat molekul 348 m/z (*3(2'-Chlorophenyl)-7-hydroxy-4-phenylcoumarin*), fraksi C memiliki gugus OH, CH₂ dan CH₃ dengan berat molekul 314 m/z (*6-Bromo-3'-methylflavone*) dan fraksi D memiliki gugus OH, CH₂, CH₃ dan NH dengan berat molekul 178 m/z (*6,7-Dihydroxycoumarin*).

Kata kunci: *Excoecaria agallocha*, *Shigella flexneri*, FT-IR, LC-MS

⁽¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

⁽²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ACTIVITY TEST AND ACTIVE COMPOUNDS IDENTIFICATION OF MANGROVE MENENGAN (*Excoecaria agallocha*) LEAF PURE EXTRACT AGAINST *Shigella flexneri* BACTERIA

Suvenir Debri Angga¹, Yahya², Hartati Kartikaningsih²

ABSTRACT

Excoecaria agallocha is a mangrove that has active compound *excoecariotoxins*, saponins and steroids. This study aimed to determine the inhibitory activity of *E. agallocha* leaf pure extract against *Shigella flexneri* and identify the active compound of this leaf. This research used descriptive method. *E. agallocha* leaves were extracted with ethanol 1:3 (w/v) at room temperature. Crude extract was tested with phytochemical screening and fractionated by column chromatography. Then pure fractions were identified the active compounds with TLC test, FT-IR tested to know the functional groups and LC-MS tested to determine the molecular weight of the compound. The antibacterial activity was screened using dilution tube test and continued by SEM to describe the damage morphology of *S. flexneri*. Phytochemical screening revealed that *E. agallocha* leaf extract contained alkaloids, steroids, saponin, tannins and flavonoids. From column chromatography, 4 fractions based on the colour were A, B, C and D. All fractions showed the growth inhibition and damaged the morphology of *S. flexneri*. Inhibition series of this extract were B and crude. Density of *S. flexneri* decreased from 2.4×10^9 col/mL to 0.9×10^9 col/mL after added crude and B fraction. From FT-IR and LC-MS analysis, crude extract had functional C-OH aromatic, C-H, CH₂ and CH₃ with 136 m/z (*hypoxanthine*), fraction A had functional groups O-H, C-H, CH₃ and CH₂ with 314 m/z (*5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone*), fraction B had functional groups O-H, CH₃ dan CH₂ with 348 m/z (*3(2'-Chlorophenyl)-7-hydroxy-4-phenylcoumarin*), fraction C had functional groups OH, CH₂ dan CH₃ with 314 m/z (*6-Bromo-3'-methylflavone*) and fraction D had functional groups OH, CH₂, CH₃ and NH with 178 m/z (*6,7-Dihydroxycoumarin*).

Keywords : *Excoecaria agallocha*, *Shigella flexneri*, FT-IR, LC-MS

¹⁾Student of Fisheries and Marine Science Faculty, Brawijaya University

²⁾Lecture of Fisheries and Marine Science Faculty, Brawijaya University

PENDAHULUAN

Excoecaria agallocha merupakan jenis pohon bakau yang biasa disebut bakau susu, sangat toleran terhadap kondisi lingkungan yang tercemar, *Excoecaria agallocha* dapat digunakan untuk pengobatan maag dan sebagai afrodisiak. Ekstrak tanaman ini digunakan sebagai obat pencahar, epilepsi, dermatitis, hematuria dan sakit gigi. *Excoecaria agallocha* memiliki senyawa aktif, seperti excoecariotoxins, fluratoxin, phorbol, ester, polyhenols, polisakarida, saponin, steroid (Manickam *et al.*, 2012).

Mangrove jenis ini secara tradisional telah digunakan untuk mengobati luka dan sengatan dari makhluk laut serta bisul. Minyak dari kulit kayu pohon ini juga efektif untuk mengobati rematik, lepra dan kelumpuhan. Uji klinis dilakukan pada jenis tanaman ini menunjukkan potensi untuk antibakteri, antikanker dan sifat antivirus (Arumugam *et al.*, 2012). Uji efektifitas ekstrak mangrove jenis ini menghasilkan daerah hambat terhadap bakteri Gram positif (*S. epidermidisi*, *S. Aureus* dan *S. agalactiae*) tetapi tidak terhadap bakteri Gram negatif. Bakteri *S. epidermidis* lebih sensitif dari pada bakteri uji yang lain dengan konsentrasi hambat minimum terkecil (Poeloengan dan Andriani, 2013). Dari hasil tersebut maka perlu dilakukan uji terhadap bakteri Gram negatif menggunakan ekstrak murni daun *Excoecaria agallocha*, bakteri Gram negatif salah satunya yaitu *Shigella flexneri*.

Bakteri Gram negatif seperti *Shigella flexneri* merupakan bakteri nonmotile dan berbentuk batang. Bakteri ini dapat menimbulkan penyakit *Shigellosis* (disentri basiler) dengan cara menginvasi epitel usus besar. 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 (Ainurrochmah *et al.*, 2013). Pada penelitian Firdaus *et al.* (2013) ekstrak mangrove jenis *Excoecaria agallocha* menunjukkan hasil yang positif menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*.

Untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* perlu dilakukan uji kekeruhan dengan standard *McFarland* untuk mengetahui pertumbuhan bakteri dilihat dari kekeruhan dan aktivitas yang terjadi pada bakteri *Shigella flexneri*. Setelah diperoleh hasil kekeruhan dilakukan pengamatan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) pada konsentrasi terbaik untuk mengetahui perubahan morfologi pada bakteri *Shigella flexneri*.

METODE PENELITIAN

Persiapan sampel

Daun menengan segar dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya daun dihaluskan menggunakan blender untuk memperluas permukaan kontak antara daun mangrove dengan larutan pengeksrak dan mempermudah proses ekstraksi, penggunaan sampel segar dimaksudkan untuk menghindari terjadinya penguapan senyawa bioaktif yang terkandung pada sampel yang disebabkan oleh proses pemanasan atau pengeringan.

Ekstraksi

Proses ekstraksi daun menengan dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yang merupakan modifikasi dari penelitian terdahulu. Dimana sampel yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 1200 gram, lalu dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1000 mL dan ditambahkan pelarut etanol pro analisis (PA) dengan perbandingan 1:3 (w/v). Kemudian larutan sampel dimaserasi pada suhu ruang 27°C selama 24 jam, selama perlakuan maserasi *beaker glass* ditutup menggunakan aluminium foil untuk menghindari terjadinya penguapan larutan dan sampel. Maserat didapatkan dengan menyaring campuran ekstrak menggunakan kertas saring *Whattman no.42* untuk memisahkan antara filtrat dan residu, filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 45°C. Proses evaporasi dilakukan agar pelarut dapat terpisah tanpa merusak senyawa aktif yang terkandung pada sampel.

Uji fitokimia

Analisa fitokimia yang dilakukan meliputi uji kandungan senyawa aktif alkaloid, steroid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin. Analisa fitokimia ekstrak daun menengan meliputi :

- **Uji Alkaloid**

Sebanyak 0,5 gram sampel ditambahkan 1 mL HCl 2 N, kemudian ditambahkan aquades 9 mL, setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 2 menit dan kemudian disaring, setelah itu diambil 3 tetes filtrat. Dalam uji alkaloid menggunakan pereaksi wagner, sebanyak 3 tetes pereaksi diteteskan pada sampel, positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan warna coklat pada pereaksi wagner.

- **Uji Steroid**

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan asetat anhidrat 2 mL, lalu ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat

(H₂SO₄). Perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau mengidentifikasi adanya steroid.

- **Uji Flavonoid**

Sebanyak 0,5 gram sampel ditambahkan 15 mL metanol. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 50°C selama 5 menit. Lalu disaring dan ditambahkan 5 tetes H₂SO₄ pekat. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan.

- **Uji Tanin**

Sebanyak 5 gram sampel ditambahkan 50 mL aquades. Lalu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 10 menit. Kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambah 3 tetes FeCl₃. Reaksi positif ditandai dengan warna hitam kehijauan.

- **Uji Terpenoid**

Sebanyak 5 mL ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung eaksi dan ditambahkan 2 ml kloroform. Setelah itu ditambahkan asam sulfat pekat secara perlahan sebanyak 3 mL. Positif terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan.

- **Uji Saponin**

Sebanyak 0,5 gram sampel ditambahkan 20 mL aquades. Lalu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 80°C selama 5 menit. Kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang dihasilkan dikocok selama 10 menit, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya busa.

Kromatografi kolom

Uji kromatografi kolom bertujuan untuk memisahkan fraksi-fraksi murni yang terkandung dalam ekstrak. Prosedur uji kolom yang dilakukan mengacu pada penelitian yang telah dimodifikasi. Fase gerak yang digunakan yakni pelarut n-heksan:etil asetat pro analisis yang bersifat non polar:polar. Teknik elusi yang digunakan adalah teknik elusi gradien dengan perbandingan eluen dimulai dari 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, dan 2:8 (200 mL). Fase diam yang digunakan yaitu silika gel (SiO₂) berukuran 60 mesh.

Kromatografi lapis tipis (KLT)

Metode yang digunakan berdasarkan metode terdahulu menggunakan plat silika gel G-60 dengan ukuran panjang 5 cm dan lebar 1 cm. Plat diberi jarak tepi bawah 1 cm dan tepi atas 0,5 cm, sehingga didapat jarak tempuh 3,5 cm. Uji kemurnian ini menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat (8:2-2:8 v/v). Sampel ditotolkan pada batas bawah menggunakan pipet kapiler, selanjutnya plat dicelupkan ke dalam bejana kromatografi yang berisi fase gerak. Biarkan fase gerak bergerak naik pada silika gel, sampai batas plat. Kemudian ditentukan nilai *Retodansi factor* (Rf).

Uji kekeruhan bakteri

Uji ini diawali dengan pembuatan media *Nutrien Broth* (NB) sebagai media pengujian pertumbuhan bakteri berdasarkan kekeruhannya. Sebanyak 2,08 gram NB dilarutkan dalam 160 mL

aquades, kemudian media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya media steril dituangkan pada 20 tabung reaksi masing-masing sebanyak 8 mL. Lalu tabung reaksi berisi media NB tersebut selanjutnya ditambahkan 1 mL suspensi bakteri *Shigella flexneri* yang telah disesuaikan dengan standar *McFarland* dan 1 mL larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi yang telah dibuat sebelumnya. Kemudian diinkubasi dengan suhu 32°C selama 48 jam.

Setelah diinkubasi, selanjutnya dilakukan pengukuran kepadatan bakteri yang tumbuh pada media NB yang telah ditambah fraksi murni dengan membandingkan sampel dengan standar *McFarland* dari tabung nomor 1 hingga 10. Kemudian didapatkan hasil kepadatan pertumbuhan bakteri sebelum dan sesudah diberi penambahan fraksi murni daun menengan. Diamati perubahan yang terjadi melalui kenaikan atau penurunan jumlah kepadatan bakteri dari masing-masing konsentrasi yang telah diujikan. Pengujian kepekaan bakteri *Shigella flexneri* terhadap ekstrak daun *Excoecaria agallocha* dengan teknik pengenceran tabung (*Tube Dilution Method*) yang telah dimodifikasi.

Perhitungan kepadatan bakteri berdasarkan standar *McFarland* dilakukan penyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan *McFarland* ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba.

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

Uji spektrofotometer FT-IR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari ekstrak daun menengan. Instrumen yang digunakan dalam pengujian ini yakni FT-IR 8400S merk Shimadzu. Spektrofotometer FT-IR merupakan spektroskopi infrared yang dilengkapi dengan transformasi fourier untuk mendeteksi dan menganalisis spektrumnya. Spektrum infrared yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm⁻¹). Analisis gugus fungsi pada sampel daun menengan dilakukan dengan cara membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum infrared menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding yang sudah diketahui.

Uji *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS)

Uji LC-MS dimulai dari pemisahan sampel pada kromatografi (LC) berdasarkan sifat kepolaran sampel dengan kolom dan fase gerak dalam kolom. Komponen-komponen sampel yang telah terpisah mengalami ionisasi yang kemudian berat molekul sampel dapat diidentifikasi berdasarkan fragmentasi komponen oleh detektor pada spektrometer (MS). Secara umum prinsip dari spektrometer massa dalam

menghasilkan spektrum massa melalui empat tahap, yakni pengenalan sampel, ionisasi molekul sampel untuk mengubah molekul netral menjadi ion dalam fase gerak, menganalisis massa (memisahkan ion yang dihasilkan oleh rasio massa ke muatan) dan mendeteksi ion yang telah dipisahkan tadi.

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa sesuai rasio fragmentasi. Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion dan analisa massa (*mass analyzer*) yang menyeleksi ion. *Mass Spectrometer* (MS) merupakan alat yang dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul dari struktur senyawa organik. Selain itu, alat ini juga dapat mengidentifikasi dan menentukan komponen-komponen suatu senyawa (Maryam, 2007).

Uji SEM (*Scanning Electron Microscope*)

Cara kerja metode SEM adalah gelombang elektron yang dipancarkan electron terkondensasi di lensa kondensor dan terfokus sebagai titik yang jelas oleh lensa objektif. *Scanning coil* yang diberi energi menyediakan medan magnetik bagi sinar elektron. Berkas sinar elektron yang mengenai cuplikan menghasilkan elektron skeunder dan kemudian dikumpulkan oleh detektor *backscatter*. Gambar yang dihasilkan terdiri dari ribuan titik berbagai intensitas di permukaan *Cathode Ray Tube* (CRT) sebagai topografi gambar (Kroschwitz, 1990).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa fitokimia

Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam daun menengan, senyawa-senyawa yang terdeteksi antara lain flavonoid, tanin, steroid dan alkaloid (Tabel 1). Hasil uji fitokimia dari penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Firdaus *et al.* (2013) yang berhasil mengisolasi senyawa bioaktif jenis alkaloid, steroid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin.

Tabel 1. Uji fitokimia

Uji	Hasil
Alkaloid	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Tanin	++
Steroid/Triterpenoid	++
Terpenoid	-

Ket : (-) = tidak ada (+) = sedikit (++) = banyak

Dari hasil tersebut terdapat perbedaan hasil dengan penelitian Prihanto *et al.* (2011) dimana hasil isolasi bioaktif senyawa terpenoid menunjukkan hasil positif pada daun mangrove *Excoecaria agallocha* yang diekstrak menggunakan pelarut metanol. Hasil ini diduga pengaruh perbedaan jenis pelarut yang digunakan pada saat proses maserasi, dimana peneliti

menggunakan pelarut etanol untuk proses maserasi dan didapat hasil negatif pada senyawa terpenoid. Senyawa aktif dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut yang sesuai dimana tingkat kepolaran pelarut dapat menentukan komponen senyawa aktif yang diisolasi.

Kromatografi Kolom

Dari kromatografi kolom yang dilakukan menghasilkan 71 botol fraksi (15 mL/botol). Kemudian fraksi-fraksi tersebut dikelompokkan ke dalam 4 kelompok fraksi besar yakni fraksi A, B, C, dan D.

Tabel 2. Hasil kromatografi kolom

No. Botol	Warna	Fraksi
1-4	Hijau terang kecoklatan	A
5-6	Hijau terang	B
7-9	Kuning kehijauan	C
10-13	Hijau kemerahan	D

Dari hasil diatas diduga penggunaan senyawa campuran polar pada penelitian ini mempengaruhi hasil fraksi yang keluar. Campuran senyawa polar akan tertahan lebih lama di dalam kolom dibandingkan senyawa non polar dan sebaliknya (Permata, 2012). Prinsip pemisahan pada kromatografi kolom didasarkan pada perbedaan polaritas dan kelarutan senyawa yang akan dipisahkan, penggunaan fase stasioner yang bersifat polar, maka fase gerak yang digunakan untuk mengelusi sampel yaitu pelarut organik yang bersifat non polar.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak kasar daun menengan menunjukkan bahwa nilai Rf yang diperoleh dari kelompok fraksi kolom menunjukkan adanya senyawa aktif, nilai Rf ekstrak kasar dan kelompok fraksi dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Hasil uji kromatografi lapis tipis

Fraksi	Warna Total	Rf
<i>Crude</i>	Kuning kecoklatan	0,68
A	Hijau kecoklatan	0,714
B	Hijau kekuningan	0,65
C	Kuning terang	0,214
D	Kuning keabu-abuan	0,5

Hasil diatas menunjukkan bahwa hasil uji KLT pada *crude* menunjukkan nilai Rf sebesar 0,68 dimana hasil ini diduga terdapat senyawa aktif seperti tanin, steroid, flavonoid dan alkaloid. Hasil Rf fraksi A sebesar 0,714 dengan warna hijau kecoklatan, pada penelitian yang dilakukan oleh Sa'adah (2010) menunjukkan standar senyawa tanin memiliki nilai Rf sebesar 0,737 diduga hasil Rf fraksi A tersebut merupakan senyawa tanin. Nilai Rf fraksi B sebesar 0,65 dengan warna hijau kekuningan, pada penelitian yang dilakukan oleh Hayati *et al.* (2012) menunjukkan

standar senyawa steroid sebesar 0,06-0,82 diduga hasil Rf fraksi B tersebut merupakan senyawa Steroid.

Nilai Rf fraksi C sebesar 0,214 dengan warna kuning terang, pada penelitian yang dilakukan oleh Wijono (2003) menunjukkan standar senyawa flavonoid sebesar 0,22-0,60 diduga hasil Rf fraksi C tersebut merupakan senyawa flavonoid. Nilai Rf fraksi D sebesar 0,5 dengan warna kuning keabu-abuan, pada penelitian yang dilakukan oleh Hayati *et al.*, (2012) menunjukkan standar senyawa flavonoid sebesar 0,56-0,8 diduga hasil Rf fraksi D tersebut merupakan senyawa alkaloid.

Uji Kekeruhan bakteri

Uji kekeruhan ini digunakan untuk mengetahui jenis senyawa bioaktif pada ekstrak daun menengan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Berikut adalah tabel standar *McFarland*:

Tabel 4. Standar *McFarland*

Skala <i>McFarland</i>	Jumlah Bakteri ($\times 10^6$ /mL)
1	300
2	600
3	900
4	1.200
5	1.500
6	1.800
7	2.100
8	2.400
9	2.700
10	3.000

Sumber : Putri (2010)

Kepadatan awal bakteri didapatkan dari inokulan bakteri yang di encerkan pada Na fisiologi yang kemudian di bandingkan dengan standar *McFarland* yang diperoleh hasil bahwa kepadatan bakteri awal sama dengan *McFarland* tabung nomor 8 atau $2,4 \times 10^9$ /mL. Setelah penambahan fraksi didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 5. Hasil uji kekeruhan

Konsentrasi (ppm)	Fraksi				
	A	B	C	D	Crude
5.000	6	5	6	5	5
10.000	6	5	5	5	4
15.000	5	4	4	4	3
20.000	5	3	4	4	3

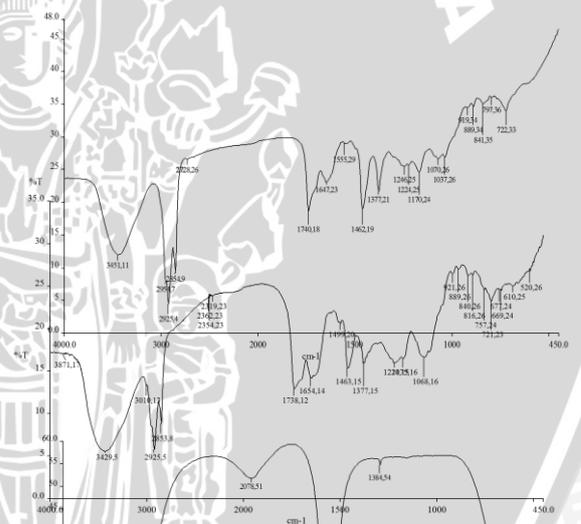
Dari hasil diatas diketahui bahwa setiap fraksi mengalami penurunan, dimana penurunan yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* yaitu fraksi B dan *crude* daun menengan, dimana penurunan jumlah bakteri dari $2,4 \times 10^9$ /mL menjadi $0,9 \times 10^9$ /mL pada fraksi B pada konsentrasi 20.000 ppm, sedangkan pada *crude* jumlah bakteri awal $2,4 \times 10^9$ /mL menjadi $0,9 \times 10^9$ /mL pada konsentrasi 15.000 dan 20.000 ppm. Semakin tinggi konsentrasi

semakin kecil pula kerapatan optik, yang berarti semakin sedikit jumlah bakteri yang mampu bertahan hidup.

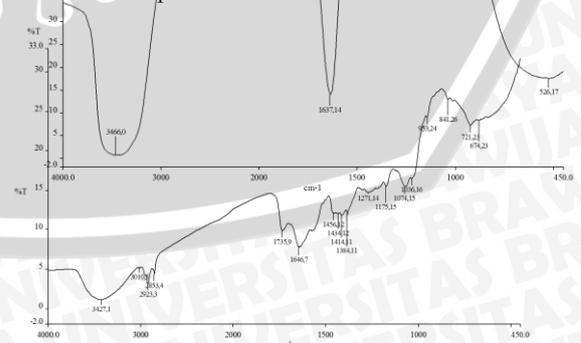
Hal ini menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan suatu bahan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba yang diberikan (Ajizah, 2004). Hal ini terlihat pada hasil uji dengan konsentrasi ekstrak 15.000 dan 20.000 ppm yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*.

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

Hasil uji spektra inframerah pada penelitian ini digunakan untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung di dalam senyawa bioaktif ekstrak daun menengan terfraksinasi. Pola spektra inframerah dan hasil identifikasi gugus fungsi yang terdapat pada senyawa bioaktif ekstrak daun menengan terfraksinasi dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Spektrum FT-IR crude



Gambar 2. Spektrum FT-IR fraksi A

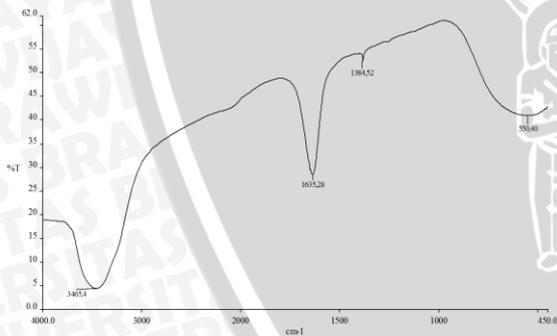
Gambar 3. Spektrum FT-IR fraksi B

Gambar 4. Spektrum FT-IR fraksi C

Tabel 6. Gugus fungsional pita serapan FT-IR

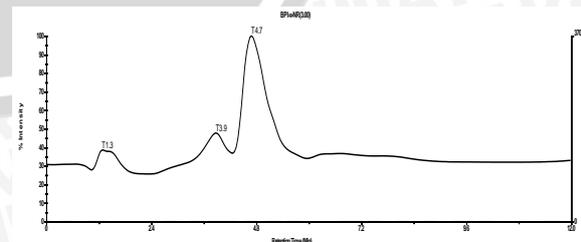
<u>Sampel</u>	<u>Bilangan Gelombang (cm⁻¹)</u>	<u>Bilangan Gelombang (cm⁻¹) *</u>	<u>Finger Print</u>	<u>Gugus Dugaan</u>	
Crude	3429	3300-3600	921	C-OH	<u>Benzen</u> , <u>Orto</u>
	3010	3010-3095	1463, 889	C-H	<u>Alkana</u>
	2853	2853-2962	1068	CH ₂	<u>Alkana</u>
	2925	2853-2962	1377	CH ₃	<u>Alkena</u>
Fraksi A	3427	3200-3650	1271, 1384	O-H	<u>Alkohol</u>
	3010	3000-3100	721, 841	C-H	
	2923	2800-2950	1384	CH ₃	
	2853	2800-2950		CH ₂	
		1375-1460	1456		<u>Aromatik</u>
Fraksi B	3451	3230-3550	1377	O-H	<u>Alkohol</u>
	2925	2850-2950		CH ₃	
	2854	2850-2950	1462	CH ₂	
Fraksi C	3466	3200-3550		OH	<u>Alkohol</u>
	1637	1400-1650		CH ₂	
		1300-1475	1384		<u>Alkena</u>
		500-750	526	CH ₃	<u>Halogen</u>
Fraksi D	3465	3200-3550		OH dan NH	<u>Alkohol</u>
	1635	1628-1650		CH ₂	<u>Alkena</u>
		1300-1475	1384	CH ₃	
		500-700	550		<u>Halogen</u>

Sumber : * Nur (1989), Pavia *et al.* (2001), Novadania *et al.* (2014), Asih *et al.* (2015), Lenny *et al.* (2010)



Gambar 5. Spektrum FT-IR fraksi D

Hasil FT-IR pada crude dengan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3429,5 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi regang gugus C-OH yang menunjukkan pita serapan yang kuat dan lebar untuk gugus benzen, pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada daerah bilangan 921,26 cm⁻¹ yang menunjukkan serapan C-OH lemah. Pada pita serapan 3010,13 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H yang menunjukkan pita serapan yang lemah pada gugus alkana, pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada bilangan 1463,15 cm⁻¹, 1377,15 dan 889,26 cm⁻¹ yang menunjukkan serapan C-H. Pada pita serapan 2925,5 cm⁻¹ dan 2853,8 cm⁻¹ menunjukkan



adanya vibrasi ulur CH₂ dan CH₃ yang menunjukkan pita serapan kuat pada gugus alkena, hasil tersebut diperkuat oleh serapan pada bilangan 1068,16 cm⁻¹ dan

1377,15 cm^{-1} yang menunjukkan serapan CH_2 dan CH_3 .

Pada hasil uji FT-IR fraksi A diperoleh pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3427,1 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang gugus O-H yang menunjukkan pita serapan yang kuat dan lebar untuk gugus alkohol, pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada daerah bilangan 1271,14 cm^{-1} dan 1384,11 cm^{-1} yang menunjukkan serapan O-H lemah. Pada pita serapan 3010,5 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H, pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada bilangan 721,23 cm^{-1} dan 841,26 cm^{-1} yang menunjukkan serapan C-H ulur lemah. Pada pita serapan 2853,4 cm^{-1} dan 2923,3 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur CH_2 dan CH_3 yang menunjukkan pita serapan regang lemah, hasil tersebut diperkuat oleh serapan pada bilangan 1434,12 cm^{-1} dan 1384,11 cm^{-1} yang menunjukkan serapan CH_2 dan CH_3 lemah.

Pada hasil uji FT-IR fraksi B diperoleh pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3451,11 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang gugus O-H yang menunjukkan pita serapan yang kuat dan lebar untuk gugus alkohol, pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada daerah bilangan 1377,21 cm^{-1} yang menunjukkan serapan O-H kuat. Pada pita serapan 2925,4 cm^{-1} dan 2854,9 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang CH_2 dan CH_3 , pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada bilangan 1462,19 cm^{-1} yang menunjukkan serapan CH_2 regang tajam. Pada pita serapan 2954,4 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H yang menunjukkan pita serapan lemah.

Pada hasil uji FT-IR fraksi C diperoleh pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3466,0 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang gugus O-H yang menunjukkan pita serapan yang kuat dan lebar untuk gugus alkohol. Pada pita serapan 1637,14 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang tajam CH_2 , pita serapan tersebut diperkuat oleh serapan pada bilangan 1384,54 cm^{-1} yang menunjukkan serapan C- CH_3 ulur lemah. Pada pita serapan 526,17 cm^{-1} menunjukkan gugus halogen.

Pada hasil uji FT-IR fraksi D diperoleh Pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3465,4 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang gugus O-H yang menunjukkan pita serapan yang kuat dan lebar untuk gugus alkohol. Pada pita serapan 1635,28 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang tajam gugus alkena. Pada pita serapan 1384 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regang lemah C-(CH_3), dan pada pita serapan 550,40 menunjukkan adanya gugus halogen.

Uji Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS)

Identifikasi senyawa aktif dilanjutkan dengan uji LC-MS untuk mengetahui struktur suatu senyawa dan berat molekul senyawa yang ada pada *crude* dan fraksi murni daun menengan.

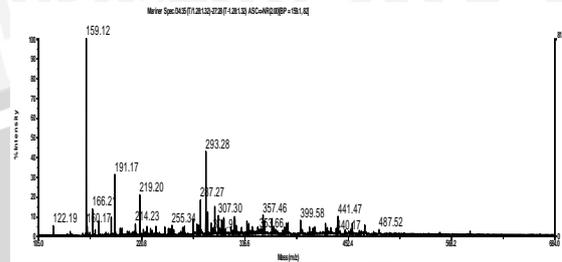
Gambar 6. Spekttrum LC pada *crude*

Gambar 7. Spekttrum MS *Crude* pada Rt 1,27

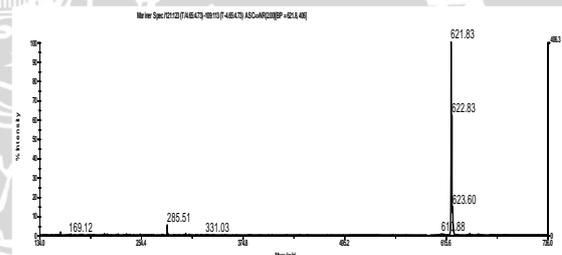
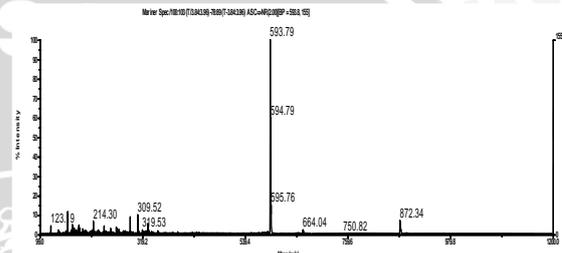
Gambar 8. Spekttrum MS *Crude* Rt 3,9

Gambar 9. Spekttrum MS *Crude* Rt 4,7

Hasil LC-MS menunjukkan terdapat spektrum fragmentasi senyawa dengan berat molekul 136 m/z yang diduga sebagai *base peak* dan diduga sebagai ion molekuler $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Dari *peak* yang diduga sebagai ion molekuler tersebut menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 136 m/z (tabel 7).



Berdasarkan berat molekul golongan alkaloid pada



massbank, senyawa dengan berat molekul 136 m/z diduga adalah senyawa turunan dari alkaloid yaitu *Hypoxanthine* dengan rumus kimia $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$. Senyawa tersebut juga memiliki gugus-gugus fungsional yang ditunjukkan oleh hasil FT-IR yang telah diuji sebelumnya.

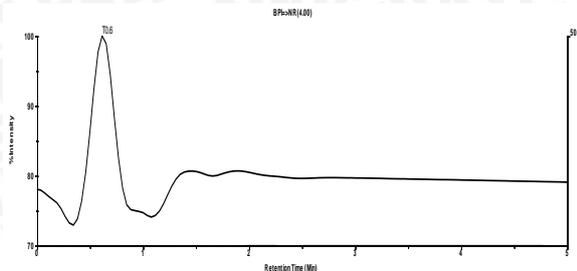
Tabel 7. Massa ion dan pecahan molekul *crude*

Massa Ion (m/z)	Dugaan Pecahan Ion Molekul	Massa Senyawa Dugaan (m/z)
159.11	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}-\text{Na}$	136
593.78	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}-\text{H}$	
621.83	$2(\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O})-\text{Na}$	

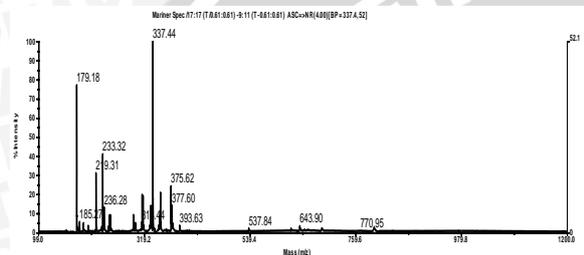
Untuk memastikan senyawa $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$ memiliki berat molekul 136 m/z, maka dihitung berdasarkan berat tiap atom molekulnya dengan perhitungan sebagai berikut.

Ar C = 12
 Ar H = 1
 Ar O = 16
 Ar N = 14
 Mr C₅H₄N₄O = (5x12)+(4x1)+(4x14)+(1x16)
 = 60 + 4 + 56 + 16
 = 136 m/z

• Fraksi A



Gambar 10. Spektrum LC pada Fraksi A



Gambar 11. Spektrum MS pada Fraksi A

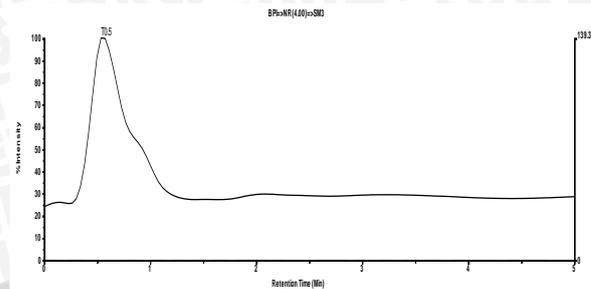
Hasil LC-MS menunjukkan terdapat spektrum fragmentasi senyawa dengan berat molekul 314 m/z yang diduga sebagai *base peak* dan diduga sebagai ion molekuler [M+Na]⁺. Dari *peak* yang diduga sebagai ion molekuler tersebut menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 314 m/z (tabel 8). Berdasarkan berat molekul golongan flavonoid pada *massbank*, senyawa dengan berat molekul 136 m/z diduga adalah senyawa turunan dari flavonoid yaitu 5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone dengan rumus kimia C₁₇H₁₄O₆. Senyawa tersebut juga memiliki gugus gugus fungsional yang ditunjukkan oleh hasil FT-IR yang telah diuji sebelumnya.

Tabel 8. Massa ion dan pecahan molekul fraksi A

Massa Ion (m/z)	Dugaan Pecahan Ion Molekul	Massa Senyawa Dugaan (m/z)
337,44	C ₁₇ H ₁₄ O ₆ -Na	314

Untuk memastikan senyawa C₁₇H₁₄O₆ memiliki berat molekul 314 m/z, maka dihitung berdasarkan berat tiap atom molekulnya dengan perhitungan sebagai berikut.

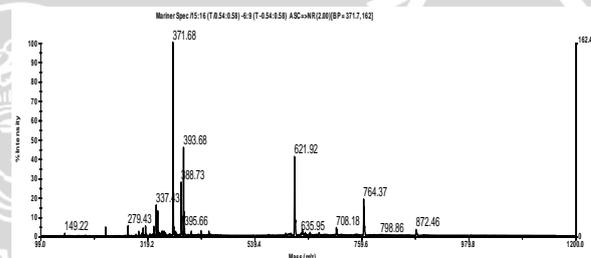
Ar C = 12
 Ar H = 1
 Ar O = 16
 Mr C₁₇H₁₄O₆ = (17x12)+(14x1)+(6x16)
 = 204 + 14 + 96
 = 314 m/z



• Fraksi B

Gambar 12. Spektrum LC pada Fraksi B
 Gambar 13. Spektrum MS pada Fraksi B

Hasil LC-MS menunjukkan terdapat spektrum fragmentasi senyawa dengan berat molekul 348 m/z yang diduga sebagai *base peak* dan diduga sebagai ion molekuler [M+Na]⁺. Dari *peak* yang diduga sebagai ion molekuler tersebut menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 348 m/z (tabel 9). Berdasarkan berat molekul golongan flavonoid pada *massbank*, senyawa dengan berat



molekul 348 m/z diduga adalah salah satu jenis senyawa kumarin yaitu 3-(2'-Chlorophenyl)-7-hydroxy-4-phenylcoumarin dengan rumus kimia C₂₁H₁₃ClO₃. Senyawa tersebut juga memiliki gugus fungsional yang ditunjukkan oleh hasil FT-IR yang telah diuji sebelumnya.

Tabel 9. Massa ion dan pecahan molekul fraksi B

Massa Ion (m/z)	Dugaan Pecahan Ion Molekul	Massa Senyawa Dugaan (m/z)
371,68	C ₂₁ H ₁₃ ClO ₃ -Na	348

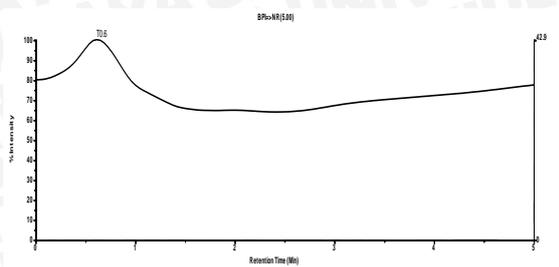
Untuk memastikan senyawa C₂₁H₁₃ClO₃ memiliki berat molekul 348 m/z, maka dihitung berdasarkan berat tiap atom molekulnya dengan perhitungan sebagai berikut.

Ar C = 12
 Ar H = 1
 Ar O = 16
 Ar Cl = 35,5
 Mr C₂₁H₁₃ClO₃ = (21x12)+(13x1)+(1x35,5)+(3x16)

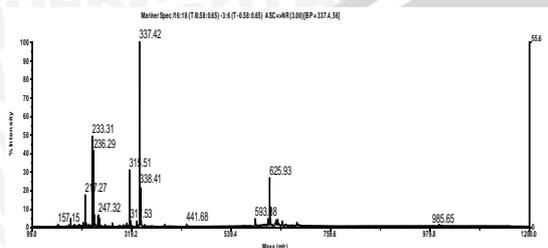
$$= 252 + 13 + 35,5 + 48$$

$$= 348,5 \text{ m/z}$$

• Fraksi C



Gambar 14. Spektrum LC Fraksi C



Gambar 15. Spektrum MS Fraksi C

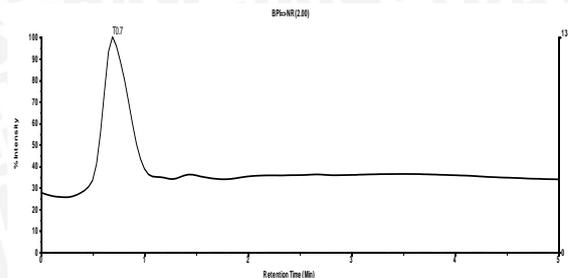
Hasil LC-MS menunjukkan terdapat spektrum fragmentasi senyawa dengan berat molekul 314 m/z yang diduga sebagai *base peak* dan diduga sebagai ion molekuler $[M+Na]^+$. Dari *peak* yang diduga sebagai ion molekuler tersebut menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 314 m/z (tabel 9). Berdasarkan berat molekul golongan flavonoid pada *massbank*, senyawa dengan berat molekul 314 m/z diduga senyawa turunan dari flavonoid yaitu 6-Bromo-3'-methylflavone dengan rumus kimia $C_{16}H_{11}BrO_2$. Senyawa tersebut juga memiliki gugus fungsional yang ditunjukkan oleh hasil FT-IR yang telah diuji sebelumnya.

Tabel 10. Massa ion dan pecahan molekul fraksi C

Massa Ion (m/z)	Dugaan Pecahan Ion Molekul	Massa Senyawa Dugaan (m/z)
337,42	$C_{16}H_{11}BrO_2-Na$	314

Untuk memastikan senyawa $C_{16}H_{11}BrO_2$ memiliki berat molekul 314 m/z, maka dihitung berdasarkan berat tiap atom molekulnya dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \text{Ar C} &= 12 \\ \text{Ar H} &= 1 \\ \text{Ar O} &= 16 \\ \text{Ar Br} &= 80 \\ \text{Mr } C_{16}H_{11}BrO_2 &= (16 \times 12) + (11 \times 1) + (1 \times 80) + (2 \times 16) \\ &= 192 + 11 + 80 + 32 \\ &= 315 \text{ m/z} \end{aligned}$$

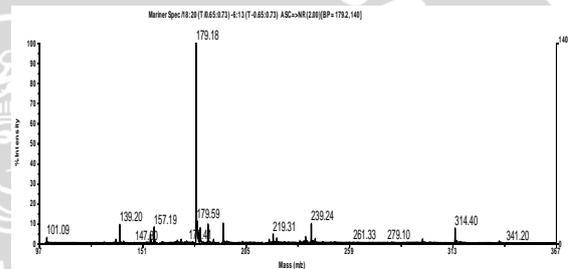


• Fraksi D

Gambar 16. Spektrum LC Fraksi D

Gambar 17. Spektrum MS Fraksi D

Hasil LC-MS menunjukkan terdapat spektrum fragmentasi senyawa dengan berat molekul 178 m/z yang diduga sebagai *base peak* dan diduga sebagai ion molekuler $[M+H]^+$. Dari *peak* yang diduga sebagai ion molekuler tersebut menunjukkan fragmentasi senyawa dengan berat molekul 178 m/z (tabel 11). Berdasarkan berat molekul golongan flavonoid pada *massbank*, senyawa dengan berat



molekul 178 m/z diduga salah satu senyawa dari kumarin yaitu 6,7-Dihydroxycoumarin dengan rumus kimia $C_9H_6O_4$. Senyawa tersebut juga memiliki gugus fungsional yang ditunjukkan oleh hasil FT-IR yang telah diuji sebelumnya.

Tabel 9. Massa ion dan dugaan pecahan molekul

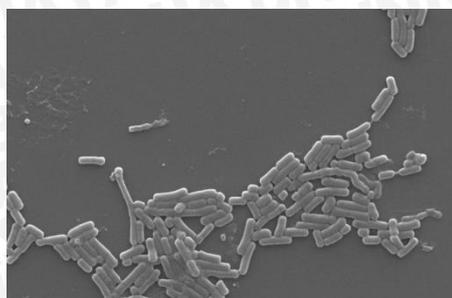
Massa Ion (m/z)	Dugaan Pecahan Ion Molekul	Massa Senyawa Dugaan (m/z)
179,18	$C_9H_6O_4-H$	178

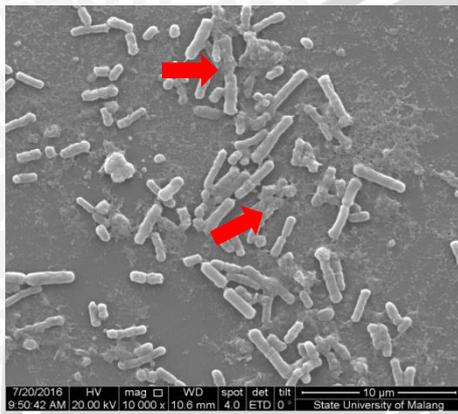
Untuk memastikan senyawa $C_9H_6O_4$ memiliki berat molekul 178 m/z, maka dihitung berdasarkan berat tiap atom molekulnya dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \text{Ar C} &= 12 \\ \text{Ar H} &= 1 \\ \text{Ar O} &= 16 \\ \text{Mr } C_9H_6O_4 &= (9 \times 12) + (6 \times 1) + (4 \times 16) \\ &= 108 + 6 + 64 \\ &= 178 \text{ m/z} \end{aligned}$$

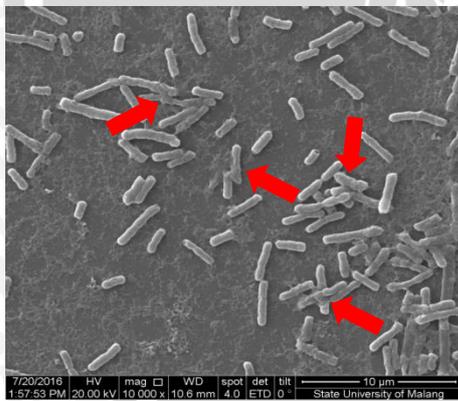
Hasil Scanning Electron Microscope (SEM)

Hasil uji SEM (*Scanning Electron Microscope*) pada bakteri *Shigella flexneri* yang telah ditambahkan *crude* dan hasil fraksinasi ekstrak daun mangrove *Excoecaria agallocha* dapat dilihat pada gambar 18.

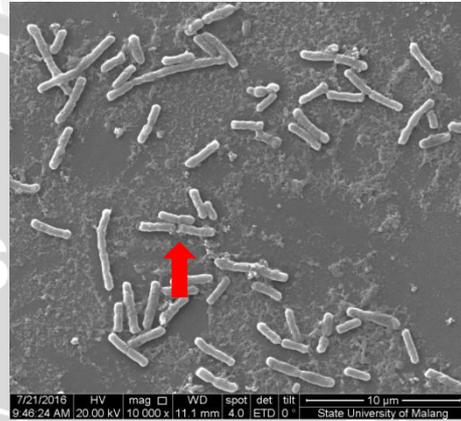




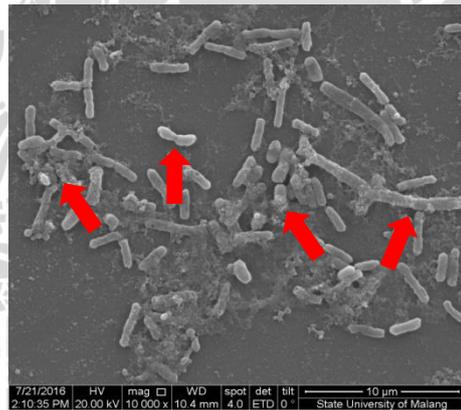
b.



c.



e.

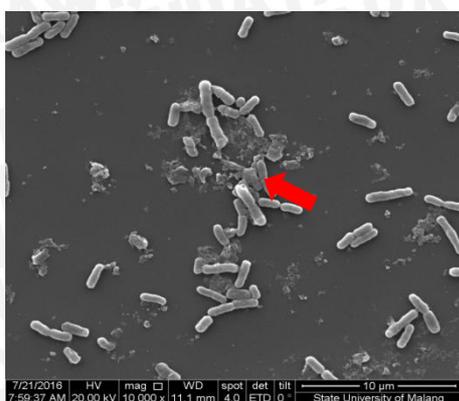


f.

Gambar 18. Hasil Uji SEM (*Scanning Electron Microscope*), a. Kontrol *Higella flexneri*, b. penambahan fraksi A, c. penambahan fraksi B, d. penambahan fraksi C. e. penambahan fraksi D, e. penambahan *crude*.

Dari hasil uji SEM (*Scanning Electron Microscope*) di atas dapat dilihat kerusakan struktur bakteri yang diduga adalah reaksi senyawa bioaktif pada mangrove dengan bakteri *Shigella flexneri*, dimana penambahan *crude* dan hasil fraksinasi dari daun mangrove *Excoecaria agallocha* dengan konsentrasi 20.000 ppm efektif merusak dinding sel bakteri *Shigella flexneri*.

Pada penambahan *crude*, diduga senyawa yang berperan yaitu *hypoxanthine*, senyawa tersebut



d.

merupakan turunan dari purin dimana purin adalah turunan dari senyawa metabolit sekunder alkaloid (Suhartana, 2007). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati dan menghambat pertumbuhan bakteri (Amalia *et al.*, 2016).

Penambahan fraksi A dari ekstrak daun mangrove *Excoecaria agallocha* diduga merupakan senyawa 5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone yang merupakan senyawa turunan dari flavonoid. Dimana senyawa jenis ini memiliki kemampuan menghambat bakteri dengan mekanisme perusakan membran sel dengan ion H⁺ dari senyawa flavonoid akan menyerang gugus polar sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dari asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membrane sel. Akibatnya membrane akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan akan menyebabkan kematian pada bakteri (Sari dan Sari, 2011).

Pada penambahan fraksi B dari ekstrak daun mangrove *Excoecaria agallocha* diduga senyawa yang berperan dalam merusak bakteri yaitu 3(2'-Chlorophenyl)-7-hydroxy-4-phenylcoumarin yang merupakan salah satu jenis dari senyawa kumarin. Senyawa ini memiliki sifat sebagai antibakteri dengan mekanisme penghambatan dari senyawa ini yaitu masuk kedalam sel bakteri dengan cara memutuskan ikatan peptidoglikan pada dinding sel dan merusak ikatan hidrofobik dari membran sel. Sehingga terjadi perubahan permeabilitas dinding sel yang akan menghambat pertumbuhan sel bakteri (Pratiwi, 2014).

Penambahan fraksi C dari ekstrak daun mangrove *Excoecaria agallocha* diduga merupakan 6-Bromo-3'-methylflavone yang merupakan senyawa turunan dari flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri dimana mekanisme kerjanya yaitu mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki kembali (Putri, 2010).

Penambahan fraksi D dari ekstrak daun mangrove *Excoecaria agallocha* diduga merupakan 6,7-Dihydroxycoumarin, senyawa tersebut merupakan salah satu jenis senyawa kumarin dimana senyawa ini menunjukkan aktivitas anti koagulasi darah, menghambat kerja enzim, anti mikroba, anti biotik, dan dapat mengganggu sintesa DNA/RNA (Adfa, 2006). Ditambahkan oleh Setiaji (2009) DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal tersebut berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi ada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada suatu sel.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi murni daun menengan

(*Excoecaria agallocha*) mampu menghambat pertumbuhan dan merusak sel bakteri *Shigella flexneri*. Konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan dan merusak sel bakteri *Shigella flexneri* yaitu 20.000 ppm.

Senyawa aktif yang teridentifikasi pada ekstrak daun mangrove *Excoecaria agallocha* setelah di uji menggunakan LC-MS dan didukung dengan gugus-gugus yang telah teridentifikasi dengan uji FT-IR diantaranya yaitu 5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavone (C₁₇H₁₄O₆) pada fraksi A, 3(2'-Chlorophenyl)-7-hydroxy-4-phenylcoumarin (C₂₁H₁₃ClO₃) pada fraksi B, 6-Bromo-3'-methylflavone (C₁₆H₁₁BrO₂) pada fraksi C, 6,7-Dihydroxycoumarin (C₉H₆O₄) pada fraksi D dan pada ekstrak crude teridentifikasi senyawa *Hypoxanthine* (C₅H₄N₄O).

Kemampuan senyawa bioaktif dalam menghambat dan merusak sel bakteri *Shigella flexneri* dilihat dari hasil *Scanning Electron Microscope* (SEM), yang menunjukkan bahwa fraksi B dan ekstrak crude paling efektif merusak sel bakteri *Shigella flexneri*.

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan metode cakram untuk mengetahui potensi bakteriostatik dan bakteriosidal pada daun menengan. Pada identifikasi senyawa aktif disarankan melakukan analisa dengan uji NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) untuk menentukan jumlah atom pada suatu senyawa yang terdapat pada ekstrak daun menengan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainurrochmah A., E. Ratnasari dan L. Lisdiana. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. *LenteraBio*. 2(3). 223-237.
- Ajizah. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstraksi Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*. 1(1). Halaman 31-38.
- Amalia S., S. Wahdaningsih, E. K. Untari. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 1(2). 61-64.
- Arumugam M., U. R. Pawar, M. Gomathinayagam, G. M. A. Lakshmanan dan R. Panneerselvam. 2012. Antibacterial And Antioxidant Activity Between Micropropagated And Field Grown Plants Of *Excoecaria agallocha* L. *International Research Journal Of Pharmacy*. 3(3). 235-240.
- Asih I. A. R. A., I. W. Sudiarta dan A. A. W. Suci. 2015. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Flavonoid Ekstrak Etanol Daging Buah

- terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). Jurnal Kimia. 9(1). 35-40.
- Firdaus M., A. A. Prihanto dan R. Nurdiani. 2013. Tanaman Bakau: Biologi dan Bioaktivitas. Universitas Brawijaya Press (UB Press). Hal. 51-146. Malang.
- Hayati E. K., A. Jannah, R. Ningsih. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting Anting (*Acalypha indica* L.). Molekul. 7(1). 20-32.
- Kroschwitz, J. 1990. Polymer Characterization and Analysis. John Wiley and Sons. Inc. Canada.
- Lenny S., T. Barus dan E. Y. Sitopu. 2010. Isolasi Senyawa Alkaloid Dari Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.). Jurnal Kimia Mulawarman. 8(1). 40-43.
- Manickam A., U. P. Ramachandra, P. Rajaram. 2012. A Micropropagation Protocol For A Critically Endangered Mangrove *Excoecaria agallocha* L. International Journal Of Conservation Science. 3(2). 119-126.
- Maryam. 2007. Metode Deteksi Mikotoksin. Jurnal Mikol Ked Indon 1 (2). 12-24.
- Novadania A., Erwin, S. P. Pasaribu. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Kloroform Dari Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.). Jurnal Kimia Mulawarman. ISSN 1695-5616. 12(1). 8-13.
- Nur, M. A. 1989. Spektroskopi. IPB : Bogor
- Permata, D. 2012. Optimasi Metode Identifikasi Antalgin dan Klorfeniramin Maleat Secara KCKT Photodiode Array Setelah Pemisahan dengan Solid Phase Extraction Pada Sediaan Serbuk Obat Tradisional. Skripsi. Program Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA. Universitas Indonesia. Depok.
- Poeloengan M. dan Andriani. 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. Jurnal Veteriner. ISSN 1411-8320. 14(2). 145-152.
- Pratiwi D. A. N. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) Dan Bioautografi Terhadap *Bacillus subtilis* Dan *Shigella sonnei*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Prihanto, A. A., M. Firdaus dan R. Nurdiani. 2011. Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) dari Muara Sungai Porong. BerkPanel Hayati 17 : 69-72.
- Putri, Z. F. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle* L.) terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Sa'adah L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Sari F. P. dan S. M. Sari, 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba Dari Tanaman Yodium (*Jatropha Multifida* Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suhartana. 2007. Kemampuan Ligan Hipoxantin dan Quinin Untuk Ekstraksi Kation Perak pada Fasa Air-Kloroform. Jurnal Sains & Matematika (JSM). 15(1). Hal. 25-32.
- Wijono S. H. S. 2003. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Pada Daun Katu (*Sauropus androgynous* (L.) Merr). Makara. Sains. 7(2). 51-54.