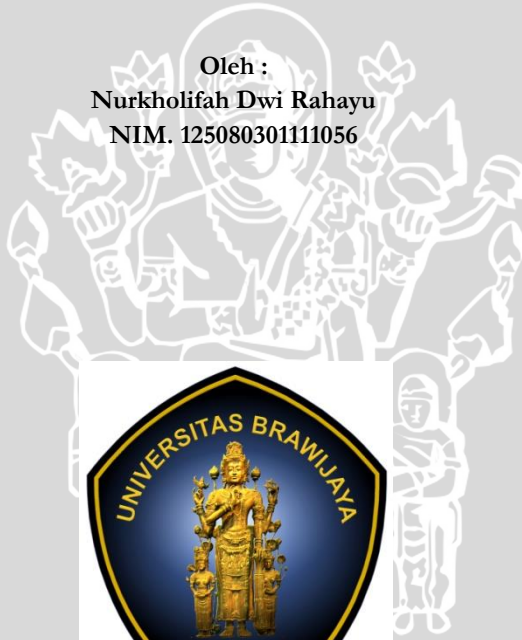


**PENGARUH PERBEDAAN SUHU PENGERINGAN DAN KONSENTRASI EKSTRAK  
KASAR DAUN LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
*Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

**ARTIKEL SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Oleh :  
Nurkholifah Dwi Rahayu  
NIM. 125080301111056



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

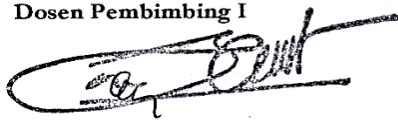


PENGARUH PERBEDAAN SUHU PENDINGINAN DAN KONSENTRASI EKSTRAK  
KASAR DAUN LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
*Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

ARTIKEL SKRIPSI  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
Di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

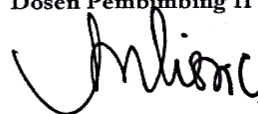
Oleh :  
Nurkholifah Dwi Rahayu  
NIM. 125080301111056

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS  
NIP. 19570119 198601 1 001  
Tanggal: 01 NOV 2016


Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP  
NIP. 19581231 198601 2 002  
Tanggal: 01 NOV 2016



Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

  
Dr. H. Agus Wijung Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal: 01 NOV 2016

**PENGARUH PERBEDAAN SUHU PENGERINGAN DAN KONSENTRASI EKSTRAK  
KASAR DAUN LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
*Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***

Nurkholifah Dwi Rahayu<sup>(1)</sup>, Bambang Budi Sasmito<sup>(2)</sup> dan Titik Dwi Sulistiyati<sup>(3)</sup>

Teknologi Hasil Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

**ABSTRAK**

Ikan mudah mengalami kerusakan dikarenakan aktivitas bakteri perusak pangan seperti *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Upaya penanggulangan diperlukan untuk mencegah kerusakan akibat aktivitas bakteri, yakni dengan pemberian antibakteri. Bahan alami yang diketahui mengandung senyawa antibakteri adalah daun lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). Untuk mendapatkan antibakteri alami, perlu diperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi efektifitas senyawa antibakteri tersebut diantaranya suhu pengeringan dan konsentrasi yang digunakan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kombinasi suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak kasar daun *B. gymnorrhiza* terbaik dalam menghambat *B. cereus* dan *P. aeruginosa*. *B. gymnorrhiza* didapatkan dari Wonorejo, Surabaya, Jawa Timur. Sampel dihaluskan, diekstraksi, dan dipekatkan. Uji yang dilakukan meliputi uji aktivitas antibakteri dengan uji daya hambat metode Kirby-Bauer (suhu pengeringan 30°C; 40°C dan 50°C serta konsentrasi ekstrak 5.000 ppm; 10.000 ppm; 20.000 ppm; streptomycin 100 ppm sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif), penentuan MIC dan MBC, uji toksisitas dengan metode BSLT, serta uji fitokimia. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan terbaik terdapat pada suhu pengeringan bahan 30°C dan konsentrasi ekstrak 20.000 ppm, dengan rerata zona hambat terhadap *B. cereus* sebesar 4,63 mm dan *P. aeruginosa* sebesar 3,07 mm. Nilai MIC ekstrak kasar daun *B. gymnorrhiza* terhadap *B. cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing reratanya 0,66 ppm dan 0,62 ppm, sedangkan nilai MBC masing-masing reratanya 2,63 ppm dan 2,47 ppm. Dari uji toksisitas didapatkan rerata LC<sub>50</sub> 4145,77 ppm > 1.000 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak *B. gymnorrhiza* tidak bersifat toksik pada konsentrasi 312,5-2500 ppm. Hasil fitokimia menunjukkan adanya flavonoid, tanin dan terpenoid yang diduga berperan sebagai antibakteri.

**Kata Kunci :** *Bruguiera gymnorrhiza*, suhu pengeringan, konsentrasi, antibakteri

- (1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
- (2) dan (3) Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

repository.ub.ac

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

THE EFFECT OF THE DIFFERENCE OF DRYING TEMPERATURE AND CONCENTRATION OF LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) LEAVES CRUDE EXTRACT TOWARDS THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*

Nurkholifah Dwi Rahayu<sup>(1)</sup>, Bambang Budi Sasmito<sup>(2)</sup> dan Titik Dwi Sulistiyati<sup>(3)</sup>

Technology of Fishery Products  
Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University

ABSTRACT

Fish easily being damaged due to bacterial activity which is acts as a food destroyer such as *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Prevention efforts is required to prevent damages caused by the bacterial activity, that is a provision of antibacterial. Natural ingredients that are known to contain antibacterial compounds are lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) leaves. To obtain a natural antibacterial, we have to consider several factors that can affect the effectiveness of antibacterial compounds, such as drying temperature and the concentrations used. The purpose of the study is to determine the combination of material drying temperature and concentration of crude extract of *B. gymnorrhiza* leaves thats best in inhibiting *B. cereus* and *P. aeruginosa*. *B. gymnorrhiza* obtained from Wonorejo, Surabaya, East Java. Samples were crushed, dried, extracted and concentrated. The experiment conducted on the antibacterial activity by using inhibition method of Kirby-Bauer (drying temperature of 30°C; 40°C and 50°C and extract concentration of 5.000 ppm; 10.000 ppm and 20.000 ppm; streptomycin 100 ppm as a positive control and DMSO 1% as negative control), determination of MIC and MBC, toxicity tests with BSLT method, as well as the phytochemical test. The results showed that the best treatment material contained in a drying temperature of 30°C and extract concentration of 20.000 ppm, with an average zone of inhibition against *B. cereus* by 4,63 mm and *P. aeruginosa* by 3,07 mm. MIC average values of crude extract of *B. gymnorrhiza* leaves against *B. cereus* and *P. aeruginosa* respectively each 0,66 ppm and 0,62 ppm, while the MBC average value of them 2,63 ppm and 2,47 ppm. From the toxicity tests for about 4145,77 ppm  $LC_{50} > 1000$  ppm indicating that the *B. gymnorrhiza* extract were at nontoxic concentrations of 312,5 to 2500 ppm. Phytochemical results indicate the presence of flavonoids, tannins and terpenoids which acted as antibacterial.

Keywords : *Bruguiera gymnorrhiza*, drying temperature, concentration, antibacterial

- 
- (1) Student of the Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University  
(2) and (3) Lecturer of the Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University

## PENDAHULUAN

Bahan makanan sumber protein hewani seperti ikan merupakan bahan makanan yang mudah mengalami kerusakan oleh karena aktivitas bakteri perusak pangan. Bakteri perusak pangan diantaranya adalah *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas sp.* (Fardiaz, 1995). *Bacillus cereus* merupakan bakteri proteolitik perusak yang memiliki toksin sehingga bersifat patogen. Bakteri ini hidup pada media daging dan ikan berkenaan dengan aktivitas proteolitiknya (Purwani *et al.*, 2013). Sedangkan spesies dari *Pseudomonas* umumnya sering menyebabkan kebusukan pada makanan. *Pseudomonas aeruginosa* adalah salah satu spesies yang merupakan kontaminan, umumnya terdapat pada kulit dan pada keadaan tertentu bersifat patogenik (Purwani *et al.*, 2009).

Upaya pengawetan perlu dilakukan agar pangan terhindar dari kerusakan akibat aktivitas bakteri, salah satunya adalah dengan penambahan bahan pengawet yang mengandung senyawa antibakteri. Beberapa bahan antibakteri alami yang bersumber dari tumbuhan telah banyak diteliti untuk menghambat pertumbuhan bakteri, yang aman bagi kesehatan manusia. Menurut Mulyani *et al.*, (2013) pemanfaatan bahan-bahan dari alam yang salah satunya diketahui mengandung senyawa antibakteri adalah tumbuhan mangrove. Tumbuhan mangrove merupakan sumber senyawa metabolit sekunder disamping sebagai penghasil kayu untuk bahan bangunan, dan juga banyak digunakan sebagai obat tradisional. Tumbuhan ini mengandung bioaktif seperti flavonoid, steroid, fenol hidrokuinon dan tanin aktif sebagai bahan antibakteri.

*Bruguiera gymnorhiza* merupakan jenis mangrove yang paling banyak tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Jenis mangrove ini dapat tumbuh pada daratan, tanah yang memiliki aerasi yang baik, serta di daerah terlindung maupun yang mendapat sinar matahari secara langsung. *Bruguiera gymnorhiza* di beberapa daerah dikenal dengan nama bakau daun besar, bakau oranye, kandeka, lindur, pertut, putut, sala-sala, tenggel, tumu tanjang. Tanaman ini mengandung beberapa senyawa kimia seperti saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid (Liem *et al.*, 2013), yang diketahui berpotensi sebagai agen antibakteri alami.

Untuk mendapatkan antibakteri alami, perlu diperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi efektifitas senyawa antibakteri tersebut. Pertama yakni faktor yang mempengaruhi keberadaan metabolit sekunder atau senyawa bioaktif yang terkandung pada bahan. Menurut Hernani dan Nurdjanah (2009) tinggi rendahnya kandungan metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh cara pengolahan terutama proses pengeringan (suhu, aktivitas UV, kelembapan). Pemilihan metode atau cara pengeringan yang tepat akan menghasilkan simplisia dengan kualitas yang baik. Selain itu, Pelczar dan Chan (1988) menyebutkan bahwa banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi penghambatan atau pembasmian bakteri oleh bahan antibakteri, salah satunya adalah konsentrasi zat antibakteri. Sehubungan dengan hal ini, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan kombinasi suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak kasar daun lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) terhadap aktivitas antibakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas*

*aeruginosa*, dengan tujuan untuk mengetahui kombinasi suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak yang terbaik.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dari Wonorejo, Surabaya, Jawa Timur, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, *Mueller Hinton Agar* (Merck), *streptomycin*, kertas cakram (oxoid), DMSO 1%, *aquadest*, alkohol 70%, *cotton swab* (onemed), *Artemia salina* Leach yang didapat dari Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, air laut, HCl pekat, reagen dragendorff, serbuk Mg, asetat anhidrat, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat, kloroform,  $FeCl_3$  1%, HCl 2N, dan aluminium foil.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven vakum (Memmert), *blender* (Panasonic), timbangan digital (Camry EK5055), botol kaca, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer, corong, spatula, *rotary vacuum evaporator* (IKA), botol vial, lemari es, timbangan digital (Mettler Toledo), botol timbang, oven (Memmert), *crushable tang*, desikator, *autoclave* (Hirayama HL-36Ae), *Laminar Flow Cabinet* (BIOBASE), erlenmeyer 500 mL, *beaker glass* 100 mL, cawan petri, pinset, bunsen, *sprayer*, inkubator (redLINE by BINDER), jangka sorong, akuarium, pipet serologis, bola hisap, tabung reaksi, dan rak tabung reaksi.

### Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Subiyanto (2000) metode eksperimen banyak digunakan dalam penelitian yang bersifat laboratoris. Penelitian ini dilakukan dengan membuat manipulasi atas obyek yang diteliti sebagai *dependent variable* guna mengamati *independent variable* atau dengan membuat suatu kondisi tertentu yang akan diuji seberapa pengaruhnya terhadap variabel lain sebagai pengontrolnya.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari persiapan bahan (pembuatan ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza*, perhitungan rendemen, dan uji kadar air), uji aktivitas antibakteri (uji daya hambat, penentuan MIC dan MBC), uji toksisitas, serta uji fitokimia.

### Persiapan Bahan

Daun *Bruguiera gymnorhiza* dihaluskan menggunakan *blender* lalu dikeringkan dalam oven vakum pada suhu 30°C, 40°C, 50°C, masing-masing dengan berat awal 1 kg hingga mencapai berat akhir dan kadar air yang relatif sama. Tepung (*simplisia*) yang didapat diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol (1:4) selama 2x24 jam pada suhu ruang. Filtrat dipisahkan dari residu dengan penyaringan menggunakan kertas saring, lalu dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan putaran hingga 95 rpm yang dimaksimalkan dengan pemberian gas nitrogen.

### Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan pada *simplisia* daun *Bruguiera gymnorhiza* serta pada

ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza*. Rumus perhitungan rendemen adalah:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100 \%$$

#### Uji Kadar Air (Legowo *et al.*, 2007)

Pengujian kadar air dilakukan pada daun *Bruguiera gymnorrhiza* segar dan kering (simplicia), serta ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* dengan metode thermogravimetri. Cawan porselin yang telah diberi kode sesuai kode sampel dipanaskan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama  $\pm 1$  jam. Setelah itu dimasukkan dalam desikator  $\pm 15$  menit, kemudian cawan ditimbang. Sebanyak 1 g sampel ditimbang dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 4 jam. Ditimbang, dioven kembali, dan ditimbang hingga konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg. Setelah itu dimasukkan dalam desikator  $\pm 15$  menit, dilanjutkan dengan penimbangan. Kadar air dihitung berdasarkan bobot basah atau *wet basis* (WB) dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{W1 - (W3 - W2)}{W1} \times 100 \%$$

Dimana,

W1 = Berat awal sampel

W2 = Berat botol timbang kosong

W3 = Berat botol timbang dan isi

#### Uji Daya Hambat (Modifikasi Prihanto *et al.*, 2011)

Uji daya hambat dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Kertas cakram direndam selama 24 jam dalam ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm, dan 20.000 ppm, *streptomycin* 100 ppm sebagai kontrol positif (K+) dan DMSO 1 % sebagai

kontrol negatif (K-). Cawan petri diisi dengan 20 mL MHA dan ditunggu hingga media padat. Bakteri uji yakni *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan kepadatan  $10^7$  CFU/mL, disebar secara merata diatas lempengan MHA. Selanjutnya, kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak ditempatkan di atas lempengan MHA. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilakukan pengamatan terhadap zona hambat yang dihasilkan.

#### Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) (Bloomfield, 1991)

Data hasil pengujian daya hambat ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* digunakan untuk menentukan nilai MIC dan MBC dengan memplotkan antara  $\ln Mo$  ( $\ln$  konsentrasi ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza*) pada sumbu X terhadap kuadrat diameter zona hambat ( $Z^2$ ) pada sumbu Y. Hasil perpotongan antara persamaan regresi linier dengan sumbu x adalah nilai  $Mt$ . Nilai MBC ditentukan dari anti  $\ln Mt$  dan nilai MIC diperoleh dari nilai  $0,25 \times$  MBC.

#### Uji Toksisitas (Modifikasi Apriyanto *et al.*, 2014; dan Juniarti *et al.*, 2009)

Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan Larva *Artemia salina* Leach. Sampel yang akan diuji BSLT adalah ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* dengan konsentrasi 2.500, 1.250, 625, dan 3,125 ppm serta kontrol (air laut), dilakukan secara duplo. Larutan ekstrak ditambahkan air laut sampai 10 mL. Larva *A. salina* dimasukkan masing-masing 10 ekor dengan menggunakan

pipet ke dalam wadah uji. Larutan dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dari tiap perlakuan. Dihitung % mortalitas dengan rumus berikut:

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Artemia Mati}}{\text{Total Artemia Uji}} \times 100 \%$$

Dicari nilai % probit. Grafik dibuat dengan % probit mortalitas sebagai sumbu x terhadap log konsentrasi sebagai sumbu y. Nilai  $LC_{50}$  merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier  $y = ax + b$ . Menurut Juniarti *et al.*, (2009) suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai  $LC_{50} < 1.000$  ppm untuk ekstrak dan  $\leq 30$  ppm untuk suatu senyawa.

#### **Uji Fitokimia (Modifikasi Harborne, 1987)**

##### **Uji Alkaloid**

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 2 mL HCl. Selanjutnya 3 tetes reagen dragendorff ditambahkan. Warna jingga atau merah pada presipitat menunjukkan positif alkaloid.

##### **Uji Flavonoid**

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

##### **Uji Tanin**

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes larutan  $FeCl_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

##### **Uji Saponin**

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL *aquades*, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang.

##### **Uji Steroid**

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan asetat anhidrat 2 mL, lalu ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ). Perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau mengindikasikan adanya steroid.

##### **Uji Terpenoid**

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL kloroform, lalu perlahan ditambahkan 3 mL asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) sampai terbentuk lapisan berwarna. Warna merah kecoklatan menunjukkan positif terpenoid.

##### **Variabel Penelitian**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan suhu pengeringan daun *Bruguiera gymnorrhiza* dan konsentrasi ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza*. Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah perbedaan luas daerah hambatan antibakteri terhadap masing-masing bakteri, yakni *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan millimeter.



**Parameter Uji**

Parameter uji dalam penelitian ini yaitu berdasarkan daya hambat terbaik yang dihasilkan ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza*. Penentuan MIC, MBC, dan uji toksisitas dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai konsentrasi minimum ekstrak yang bersifat bakteriostatik dan bakteriosida, serta potensi toksisitasnya.

**Analisis Data**

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5 %. Apabila hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil dari penelitian ini meliputi daya hambat, nilai MIC dan MBC, toksisitas, serta kandungan fitokimia. Rendemen dan kadar air sampel dapat dilihat pada Tabel 1. dan Tabel 2.

**Tabel 1.** Rendemen Sampel

Sampel	Rendemen (%)	
	Simplisia	Ekstrak Kasar
A	37	9,32
B	37	9,23
C	37,2	6,85

**Tabel 2.** Kadar Air Sampel

Sampel	Kadar Air (%)		
	Daun	Simplisia	Ekstrak Kasar
Segar	65	-	-
A	-	11	7
B	-	17	8
C	-	14	11

Keterangan (Tabel 1 dan Tabel 2):

- A = Suhu Pengeringan 30°C
- B = Suhu Pengeringan 40°C
- C = Suhu Pengeringan 50°C

**Daya Hambat Antibakteri**

*Bacillus cereus*

Daya hambat ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun *Bruguiera gymnorrhiza* Terhadap *Bacillus cereus*

Perlakuan	Rerata Zona Hambat (mm)
A1.B1	2,47 ± 0,32 <sup>de</sup>
A1.B2	3,37 ± 0,25 <sup>ef</sup>
A1.B3	4,63 ± 0,40 <sup>g</sup>
A1.B4	12,27 ± 1,59 <sup>h</sup>
A1.B5	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
A2.B1	1,97 ± 0,21 <sup>bed</sup>
A2.B2	3,00 ± 0,10 <sup>def</sup>
A2.B3	3,67 ± 0,25 <sup>fg</sup>
A2.B4	11,63 ± 1,23 <sup>h</sup>
A2.B5	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
A3.B1	1,17 ± 0,29 <sup>b</sup>
A3.B2	1,87 ± 0,15 <sup>bc</sup>
A3.B3	2,47 ± 0,25 <sup>cde</sup>
A3.B4	12,27 ± 0,76 <sup>h</sup>
A3.B5	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>

Keterangan:

- A1 = Suhu Pengeringan 30°C
- A2 = Suhu Pengeringan 40°C
- A3 = Suhu Pengeringan 50°C
- B1 = Konsentrasi 5.000 ppm
- B2 = Konsentrasi 10.000 ppm
- B3 = Konsentrasi 20.000 ppm
- B4 = Kontrol Positif *streptomycin* 100 ppm
- B5 = Kontrol Negatif DMSO 1%

Dari hasil uji ANOVA daya hambat ekstrak *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Bacillus cereus* diperoleh nilai F hitung interaksi (2,397) > F tabel 5% (2,27) dan probabilitas (0,039) < 0,05.

Interaksi antara suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak berbeda nyata, jadi dapat disimpulkan bahwa antara penggunaan suhu 30°C, 40°C, dan 50°C dalam pengeringan bahan

dengan konsentrasi ekstrak bertingkat memberikan pengaruh yang signifikan.

Hasil uji Duncan terhadap *Bacillus cereus* menunjukkan perlakuan kombinasi terbaik yaitu pada ekstrak dengan suhu pengeringan bahan 30°C dan konsentrasi 20.000 ppm, (ditunjukkan dengan notasi). Perlakuan ini mampu menghasilkan zona hambat terbesar yaitu 4,63 mm. Dengan demikian, ekstrak dengan suhu pengeringan bahan 30°C pada konsentrasi 20.000 ppm dianggap paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*

#### ***Pseudomonas aeruginosa***

Daya hambat ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun *Bruguiera gymnorrhiza* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Rerata Zona Hambat (mm)
C1.D1	1,53 ± 0,06 <sup>cd</sup>
C1.D2	1,97 ± 0,06 <sup>de</sup>
C1.D3	3,07 ± 0,15 <sup>f</sup>
C1.D4	5,57 ± 0,86 <sup>g</sup>
C1.D5	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
C2.D1	1,07 ± 0,12 <sup>bc</sup>
C2.D2	1,73 ± 0,15 <sup>d</sup>
C2.D3	2,53 ± 0,21 <sup>ef</sup>
C2.D4	5,03 ± 0,76 <sup>g</sup>
C2.D5	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
C3.D1	0,77 ± 0,15 <sup>b</sup>
C3.D2	1,03 ± 0,15 <sup>bc</sup>
C3.D3	1,67 ± 0,31 <sup>d</sup>
C3.D4	5,20 ± 0,44 <sup>g</sup>
C3.D5	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>

Keterangan:

- C1 = Suhu Pengeringan 30°C
- C2 = Suhu Pengeringan 40°C
- C3 = Suhu Pengeringan 50°C
- D1 = Konsentrasi 5.000 ppm
- D2 = Konsentrasi 10.000 ppm

- D3 = Konsentrasi 20.000 ppm
- D4 = Kontrol Positif *streptomycin* 100 ppm
- D5 = Kontrol Negatif DMSO 1%

Dari hasil uji ANOVA daya hambat ekstrak *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh nilai F hitung interaksi (2,292) > F tabel 5% (2,27) dan probabilitas (0,048) < 0,05. Interaksi antara suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak berbeda nyata, jadi dapat disimpulkan bahwa antara penggunaan suhu 30°C, 40°C, dan 50°C dalam pengeringan bahan dengan konsentrasi ekstrak bertingkat memberikan pengaruh yang signifikan.

Hasil uji Duncan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan perlakuan kombinasi terbaik yang sama yaitu pada ekstrak dengan suhu pengeringan bahan 30°C dan konsentrasi 20.000 ppm (ditunjukkan dengan notasi). Perlakuan ini mampu menghasilkan zona hambat terbesar yaitu 3,07 mm. Dengan demikian, ekstrak dengan suhu pengeringan bahan 30°C pada konsentrasi 20.000 ppm dianggap paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan hasil daya hambat ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap kedua jenis bakteri diatas diketahui bahwa penggunaan suhu pengeringan bahan yang bervariasi memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan, yang mana suhu terendah yakni 30°C merupakan suhu paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ini diduga karena pada pengeringan suhu 30°C kandungan metabolit sekunder pada simplisia daun *Bruguiera gymnorrhiza* lebih terjaga. Menurut Hernani dan Nurdjanah (2009) suhu pengeringan sangat

berpengaruh terhadap kualitas, terutama pada perubahan kadar fitokimia atau senyawa aktif. Pemilihan metode atau cara pengeringan yang tepat akan menghasilkan simplisia dengan kualitas yang baik, terutama dalam segi bahan aktif, warna, kontaminasi mikroba, dan kandungan metabolit sekunder seperti minyak atsiri, fenol, flavonoid, dan khlorif yang tinggi. Daun, herba, dan bunga dapat dikeringkan dengan kisaran suhu 20-40°C, kulit batang dan akar masing-masing pada suhu 30 dan 65°C. Ditambahkan oleh Indartiyah *et al.*, (2011) bahwa suhu pengeringan yang ideal untuk daun adalah maksimal 50°C dengan ketebalan tumpukan 3-4 cm.

Selain itu, penggunaan konsentrasi bertingkat juga memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan. Diameter zona hambat meningkat seiring kenaikan konsentrasi ekstrak. Perbedaan diameter zona hambat masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya senyawa aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut. Pelczar dan Chan (1986) menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Hasil ini didukung oleh pernyataan Prawata dan Dewi (2008), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

Aktivitas antibakteri oleh bahan aktif dikelompokkan menjadi 4 kategori berdasarkan zona hambatnya, yaitu aktivitas lemah (<5 mm),

sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (>20-30 mm) (Morales *et al.*, 2003).

Berdasarkan pada kategori tersebut zona hambat yang dihasilkan ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza* masih tergolong lemah (<5 mm).

Reratanya yakni 1,17-4,63 mm untuk *Bacillus cereus* dan 0,77-3,07 mm untuk *Pseudomonas aeruginosa*.

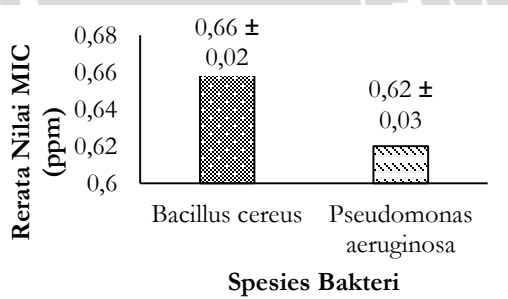
Hal ini diduga karena jumlah ekstrak yang dilarutkan terlalu sedikit sehingga kandungan zat antibakteri yang terkandung di dalamnya sedikit, akibatnya daya hambat terhadap bakteri uji juga rendah. Selain itu, ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar. Menurut Miksusanti *et al.*, (2011) di dalam ekstrak kasar terkandung berbagai senyawa aktif yang masing-masing memberikan efek berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut bukan berarti menyebabkan terjadinya sinergisme ketika berbagai senyawa aktif bercampur. Rinawati (2011) menambahkan bahwa ekstrak kasar memiliki kandungan senyawa polar dan non polar yang bersatu sehingga daya kerja senyawa biaktifnya kurang optimal. Menurut Pelczar dan Chan (2008) ekstrak kasar mengandung bahan organik lain selain antibakteri. Senyawa organik lain dapat menurunkan aktivitas zat antibakteri dengan cara menginaktivasi dan mengganggu kontak antara zat antibakteri dengan sel bakteri sehingga dapat melindungi bakteri dari zat antibakteri tersebut.

Ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza* memberikan zona hambatan yang lebih luas terhadap *Bacillus cereus* yang merupakan golongan bakteri gram positif dibanding terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan golongan bakteri gram negatif. Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki kedua bakteri. Menurut Haryati *et al.*, (2015)

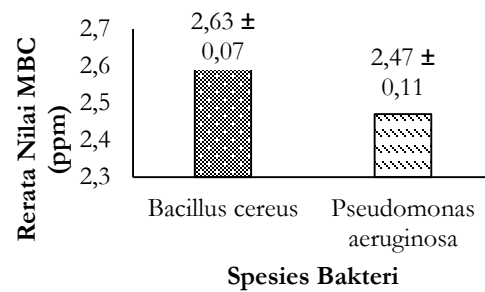
struktur dinding sel bakteri gram positif memiliki lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida (asam teikoat) yang mudah larut dalam air sehingga bersifat polar. Dinding sel bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan serta membran luar yang terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida (lapisan luar) sehingga bersifat nonpolar. Menurut Rahmanytyas (2012) bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang sederhana dibandingkan bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih rumit, sehingga dinding sel bakteri gram negatif lebih sulit ditembus oleh zat antibakteri.

**MIC dan MBC**

Nilai MIC dan MBC terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 1. dan Gambar 2.



**Gambar 1.** Nilai MIC ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*



**Gambar 2.** Nilai MBC ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Dari Gambar 1. dan Gambar 2. dapat diketahui bahwa rerata nilai MIC ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Bacillus cereus* sebesar 0,66 ppm dan nilai MBC sebesar 2,63 ppm. Nilai MIC untuk *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0,62 ppm dan nilai MBC sebesar 2,47 ppm. Nilai MIC dan MBC pada *Bacillus cereus* lebih tinggi dibandingkan dengan *Pseudomonas aeruginosa* sesuai dengan diameter zona hambat yang dihasilkan pada uji daya hambat, yang mana daya hambat *Bacillus cereus* lebih besar dibandingkan dengan *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini diduga karena perbedaan jenis dan karakter dari masing-masing bakteri. Kemampuan ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* berdifusi pada *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri gram negatif lebih sedikit dibandingkan dengan *Bacillus cereus* yang merupakan bakteri gram positif. Menurut Paramartha *et al.*, (2015) nilai MIC dan MBC mengindikasikan bahwa bahan aktif yang terdifusi pada bakteri gram negatif lebih sedikit dibandingkan pada bakteri gram positif yang disebabkan karena bakteri gram negatif memiliki membran luar yang mampu melindungi bakteri dari senyawa yang bersifat bakteriostatik dan bakterisidal.

### Toksistasitas

Hasil uji toksistasitas dapat dilihat pada

Tabel 5.

**Tabel 5.** Toksistasitas Ekstrak Kasar Daun

*Bruguiera gymnorrhiza*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	% Mortalitas		Rerata LC <sub>50</sub> (ppm)
	1	2	
2.500	30	30	4145,77 ± 1098,48
1.250	20	30	
625	10	20	
312,5	10	10	
0	0	0	
LC <sub>50</sub>	4922,51	3369,03	

Dari Tabel 5. diketahui bahwa pada konsentrasi ekstrak tertinggi yakni 2.500 ppm memberikan angka mortalitas paling tinggi, pada ulangan 1 dan 2 masing-masing 30%. Sedangkan konsentrasi ekstrak terendah yakni 312,5 ppm memberikan angka mortalitas paling rendah, pada ulangan 1 dan 2 masing-masing 10%. Kontrol negatif (0 ppm) dengan air laut tanpa pemberian ekstrak, tidak memberikan efek kematian terhadap larva *Artemia salina*. Dari hasil tersebut didapat rerata LC<sub>50</sub> 4145,77 ppm > 1.000 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak *Bruguiera gymnorrhiza* tidak bersifat toksik pada konsentrasi 312,5-2.500 ppm. Menurut Apriyanto *et al.*, (2014) semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka akan semakin tinggi mortalitas artemia.

### Fitokimia

Hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Fitokimia Ekstrak Kasar Daun

*Bruguiera gymnorrhiza*

Parameter Uji	Hasil		
	Suhu Pengeringan Bahan 30°C	40°C	50°C
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+
Tanin	+	+	+
Saponin	-	-	-
Steroid	-	-	-
Terpenoid	+	+	+

Keterangan: (+) Terdeteksi, (-) Tidak terdeteksi

Tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorrhiza* dengan suhu pengeringan bahan yang berbeda yakni 30°C, 40°C, dan 50°C terdeteksi senyawa flavonoid, tanin, dan terpenoid yang mana ketiga senyawa ini diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Senyawa flavonoid terdeteksi ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga. Flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri yakni menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005). Flavonoid mengandung senyawa fenol yang merupakan suatu alkohol bersifat asam dan biasa disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel, fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak (Umar *et al.*, 2012). Menurut Ajizah (2004), penghambatan pertumbuhan sel mikroba oleh komponen fenol atau alkohol dari herba disebabkan oleh kemampuan fenol untuk mendenaturasi protein dan merusak dinding sel dengan cara melarutkan lipid yang terdapat pada dinding sel. Dinding sel bakteri tersusun dari peptidoglikan atau

mukopeptida, lipopolisakarida dan lipoprotein. Hal ini menyebabkan sel bakteri rentan bereaksi dengan flavonoid. Didukung dengan pernyataan Volk *et al.*, (1992), bahwa membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transpor nutrisi melalui membran sel sehingga sel mikroba mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya.

Senyawa tanin terdeteksi ditandai dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau. Tanin memiliki persenyawaan fenol yang memiliki gugus hidroksil di dalamnya maka mekanisme dalam menginaktivkan bakteri dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Apabila sel bakteri semakin banyak mengandung lipid maka dibutuhkan konsentrasi yang tinggi untuk membuat bakteri tersebut lisis (Siregar *et al.*, 2012). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995).

Senyawa terpenoid terdeteksi ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan. Senyawa terpen atau terpenoid diketahui dapat bersifat aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa. Mekanisme antibakteri senyawa terpen diduga terlibat dalam perusakan membrane sel oleh senyawa lipofilik (Widowati *et al.*, 2014). Ditambahkan oleh Rosyidah *et al.*, (2010) bahwa senyawa triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen

penyusun sel bakteri itu sendiri. Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid sifat inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif dan sel bakteri gram negatif.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza* mampu menghambat *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* meskipun respon hambatnya lemah, dengan rerata zona hambat 1,17-4,63 mm untuk *B. cereus* dan 0,77-3,07 mm untuk *P. aeruginosa*. Perbedaan penggunaan suhu pengeringan daun *B. gymnorhiza* dan konsentrasi ekstrak kasar daun *B. gymnorhiza*, memberikan pengaruh terhadap daya hambat *B. cereus* dan *P. aeruginosa*. Dimana, penggunaan suhu pengeringan terendah yakni 30°C dan konsentrasi tertinggi yakni 20.000 ppm memberikan zona hambatan paling besar. Sehingga didapat perlakuan terbaik yaitu suhu pengeringan bahan 30°C dan konsentrasi ekstrak 20.000 ppm, dengan rerata zona hambat terhadap *B.* sebesar 4,63 mm dan *P. aeruginosa* sebesar 3,07 mm.

### Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan ekstrak murni untuk mendapatkan respon daya hambat antibakteri yang lebih optimal serta dilakukan identifikasi senyawa aktif untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang lebih rinci pada tiap perlakuan suhu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak kasar daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae* 1 (1): 31-38.
- Apriyanto, H., E. Harpeni, A. Setyawan, dan Tarsim. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Buah *Rhizopora* sp. Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen Air Tawar. e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan 3 (1): 289-296.
- Bloomfield, S. F. 1991. Method of Assessing Antimicrobial Activity. Blackwell Scientific Publication. London. pp. 1-22.
- Fardiaz, S. 1995. *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Press. Jakarta. 308 hlm
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Penerbit ITB. Bandung. 354 hlm.
- Haryati, N. A., C. Saleh, dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Ekstrak kasar daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman* 13 (1): 35-40.
- Hernani dan R. Nurdjanah. 2009. Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Obat. *Perkembangan Teknologi TRO* 21 (2): 33-39.
- Indartiyah, N., I. Siregar, Y.D. Agustina, S. Wahyono, E. Djauhari, B. Hartono, W. Fika, Maryam, dan Y. Supriyatna. 2011. Pedoman Teknologi Penanganan Pascapanen Tanaman Obat. Kementerian Pertanian. Jakarta. 81 hlm.
- Juniarti, D. Osmeli, dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) Dari Ekstrak kasar daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains* 13 (1): 50-54.
- Legowo, A.M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. *Buku Ajar: Analisis Pangan*. Universitas Diponegoro. Semarang. 58 hlm.
- Liem, A.F., E. Holle, I.Y. Gemnafle, dan S. Wakum. 2013. Isolasi Senyawa Saponin dari Mangrove Tanjung (*Bruguiera gymnorrhiza*) dan Pemanfaatannya sebagai Pestisida Nabati pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua* 5 (1): 29-36.
- Miksusanti, Fitriya, dan N. Marfinda. 2011. Aktivitas Campuran Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Bacillus cereus*. *Jurnal Penelitian Sains* 14 (3C): 41-47.
- Morales, G., P. Sierra, Mancilla, A. Paredes, L. A. Loyola, O. Gallardo, and J. Bourquez. 2003. Secondary Metabolites of Four Medicinal Plants From Northern Chile, Antimicrobial Activity, And Biototoxicity Against *Artemia salina*. *Journal Chile Chem* 48 (2): 35-41.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar, dan M.U. Kurnia. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika* 4 (1): 1-9.
- Paramartha, D. N. A., I. N. K. Putra, dan N. S. Antara. 2015. Kajian Aktivitas Antibakteri Minyak Daun Sereh (*Cymbopogon citratus*) pada Adonan Sate Lilit Ikan Laut. *Media Ilmiah Teknologi Pangan* 2 (1): 29-40.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Terjemahan oleh Hadioetomo, R. S., T. Imas, S. S. Tjirosomo, S. L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta. 997 hlm.
- . 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Terjemahan oleh Hadioetomo, R. S., T. Imas, S. S. Tjirosomo, S. L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta. 997 hlm.
- . 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Terjemahan oleh Hadioetomo, R. S., T.

- Imas, S. S. Tjirosomo, S. L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta. 997 hlm.
- Purwani, E., S.W.N. Hapsari, dan R. Rauf. 2009. Respon Hambatan Bakteri Gram Positif dan Negatif Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diawetkan Dengan Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Kesehatan* 2 (1): 61-70.
- \_\_\_\_\_, E. Retnaningtyas, dan D. Widowati. 2013. Pengembangan Model Pengawet Alami dari Ekstrak Lengkuas (*Languas galanga*), Kunyit (*Curcuma domestica*) dan Jahe (*Zingiber officinale*) Sebagai Pengganti Formalin Pada Daging Segar. Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS. Surakarta. hlm 629-634.
- Prawata, L.M.O.A dan P.F.S. Dewi. 2008. Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Atsiri Dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.) *Jurnal Kimia* 2 (2):4-10.
- Prihanto, A.A., M. Firdaus, dan R. Nurdiani. 2011. Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) Dari Muara Porong. *Berkala Penelitian Hayati* 17: 69-72.
- Rahmaningtyas, R. 2012. Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Sisik Naga (*Drynglossum piloselloides*) dengan GC-MS dan Uji Aktivitas Antibakteri. *Artikel Skripsi*. Universitas Pakuan. Bogor. hlm 1-9.
- Rinawati, N. D. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Artikel Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya. hlm 1-13.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 367 hlm.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, Komari, dan M.D. Astuti. 2010. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi *Mangifera casturi*. *Bioscientiae* 7 (2): 25-31.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona sp* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In Vitro). *Majalah Kedokteran Gigi*. (Dent. J.) 38 (3): 135-141.
- Siregar, A .F., A. Sabdono, D. Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research* 1 (2): 152-160.
- Subiyanto, I. 2000. *Metodologi Penelitian Edisi 3*. UPP Akademi Manajemen Perusahaan YKPN. Yogyakarta. 272 hlm.
- Umar, A., D. Krihariyani, dan D. T. Mutiarawati. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak kasar daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Mencit. *Analisis Kesehatan Sains* 1 (2): 68-75.
- Widowati, I., S. Efiyati, dan S. Wahyuningtyas. 2014. Uji Aktivitas Esktrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (*Pseudomonas aeruginosa*). *PELITA* 9 (1): 146-157.
- Volk, W. A. 1992. *Basic Microbiology*. Harper Collins Publisher. New York. pp 1-602.