

**PENGARUH PERBEDAAN SUHU PENGERINGAN DAN
KONSENTRASI EKSTRAK KASAR KULIT BATANG LINDUR
(*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
*Salmonella typhi***

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

Oleh:

**KHARIS LAILI YUNIARI
NIM. 125080301111057**



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

**PENGARUH PERBEDAAN SUHU PENGERINGAN DAN
KONSENTRASI EKSTRAK KASAR KULIT BATANG LINDUR
(*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
*Salmonella typhi***

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

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh:
KHARIS LAILI YUNIARI
NIM. 125080301111057**



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

SKRIPSI
PENGARUH PERBEDAAN SUHU PENGERINGAN DAN
KONSENTRASI EKSTRAK KASAR KULIT BATANG LINDUR
(*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
Salmonella typhi

Oleh:
KHARIS LAILI YUNIARI
NIM. 125080301111057

telah dipertahankan didepan penguji
 pada tanggal 21 Oktober 2016
 dan dinyatakan telah memenuhi syarat
 Tanggal : _____

Dosen Penguji I

(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D)
 NIP. 19640919 198903 1 002
 Tanggal: 09 NOV 2016

Menyetujui,
 Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Bambang Budi S, MS)
 NIP. 19570119 198601 1 001
 Tanggal: 09 NOV 2016

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Titik Dwi Sulistyati, MP)
 NIP. 19581231 198601 2 002
 Tanggal: 09 NOV 2016

Mengetahui,
 Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan

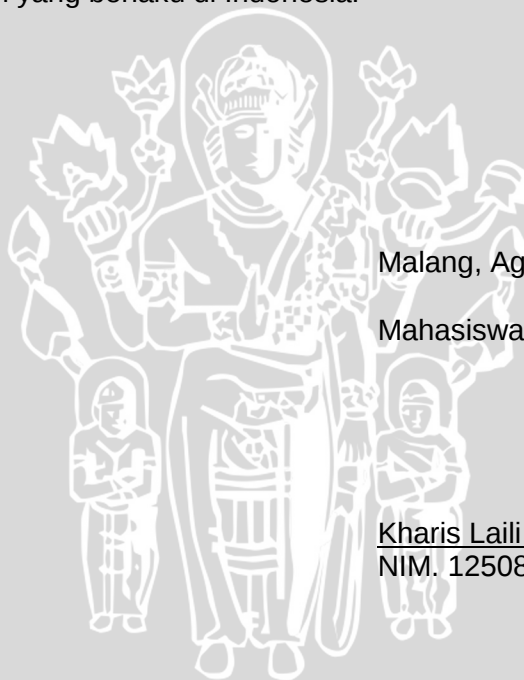


(Dr. Ir. Arning Wiluleng Ekawati, MS)
 NIP. 19620305 198603 2 001
 Tanggal: 09 NOV 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, Agustus 2016

Mahasiswa

Kharis Laili Yuniari
NIM. 125080301111057

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT atas segala Rahmat dan Hidayah-Nya yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian tugas akhir skripsi dengan judul “Pengaruh Perbedaan Suhu dan Konsentrasi Ekstrak Kasar Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi*”.

Dengan terselesaikannya penulisan laporan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kekuatan dan hikmah sehingga laporan skripsi ini dapat selesai.
2. Bapak Khoyul Ro'in dan Ibu Suciati yang telah memberikan do'a dan dorongan serta selalu memberi support dalam setiap langkah penulis.
3. Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS dan Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP selaku dosen pembimbing yang selalu memberi arahan dan kritikan yang membangun selama penyusunan laporan.
4. Prof. Ir. Sukoso, M.Sc, Ph.D selaku dosen penguji yang selalu memberikan masukan serta kritikan yang dapat membangun dan menyempurnakan laporan skripsi ini.
5. Keluarga tercinta (Adhe R. Prastyo, Indah Puspitasari, Mada W. Pamungkas, Prety D. Anggraini, Aisyah Wirnanda, Athalia, Saskiya) dan seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat untuk menyelesaikan laporan ini.
6. Tim Bakteri Bersatu (Devina, Nurkholifah, Iceu, Hamdi, Arif) yang telah menghabiskan waktu selama berbulan-bulan untuk penelitian dan mengerjakan laporan ini.

7. Binti, Ana, Diana, Afrya, Tata, Dina, Alif, dan Widiya yang setia menemani penulis dalam suka maupun duka serta selalu memberikan semangat dan menghibur dalam menyelesaikan laporan ini.
8. Teman-teman THP 2012 yang selalu memberikan dorongan dan arahan sehingga membantu penulis dalam menyelesaikan laporan ini.
9. Serta semua orang disekitar yang telah memberikan waktu dan tenaganya untuk mensupport penulis selama penelitian dan mengerjakan laporan ini.

Penulis menyadari dalam laporan ini tentunya ada kekurangan, maka diharapkan kritik dan saran sehingga dapat menjadi lebih sempurna. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya, dan bagi pembaca pada umumnya.



Malang, Agustus 2016

Penulis

RINGKASAN

Kharis Laili Yuniari (NIM 125080301111057). Skripsi tentang Pengaruh Perbedaan Suhu Pengeringan dan Konsentrasi Ekstrak Kasar Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS dan Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**)

Salmonella typhi adalah bakteri penyebab Salmonellosis yang merupakan penyakit serius di Indonesia dan masih bersifat endemis. Bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang bersifat patogen di dalam tubuh manusia. Sejauh ini pengobatan yang dilakukan adalah dengan menggunakan antibiotik. Pemberian antibiotik secara rutin dapat menyebabkan terjadinya efek samping berupa resistensi. Salah satu cara untuk mencegah resistensi antibakteri dari spesies patogen adalah dengan menggunakan senyawa baru yang tidak didasarkan pada agen antibakteri sintetik. Salah satu bahan antibakteri alami adalah tanaman mangrove jenis *Bruguiera gymnorrhiza* pada bagian kulit batang. Sebagai bahan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu dan konsentrasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan suhu pengeringan kulit batang dan konsentrasi terbaik dari ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang dapat menghambat *Salmonella typhi*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Ilmu Kelautan, Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Mikrobiologi LSIH (Laboratorium Sentral Ilmu Hayati), dan Laboratorium Mekatronik Alat dan Mesin Agroindustri Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian ini meliputi ekstraksi, uji kadar air, uji fitokimia, uji daya hambat terhadap *Salmonella typhi*, uji MIC, uji MBC dan uji toksisitas. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 2 faktor dan 3 ulangan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat tertinggi pada suhu pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) 50°C dan konsentrasi tertinggi ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi* adalah 20.000 ppm. Nilai MIC ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* adalah 0,62 ppm dan nilai MBC sebesar 2,64 ppm.

Suhu pengeringan yang terbaik kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yaitu 50°C. Konsentrasi terbaik ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi* adalah 20.000 ppm. Perlakuan kombinasi terbaik untuk ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) adalah pada suhu pengeringan 50°C dan 20.000 ppm. Disarankan pada penelitian selanjutnya perlu adanya pemurnian dari ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) untuk mengetahui komposisi spesifik senyawa bioaktif yang terkandung dalam kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat ALLAH SWT, atas Limpahan rahmat dan Hidayah-Nya penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul Pengaruh Perbedaan Suhu Pengeringan dan Konsentrasi Ekstrak Kasar Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi*. Di dalam penulisan ini, disajikan pokok pokok bahasan meliputi pengujian aktivitas antibakteri, pengujian MIC, pengujian MBC dan pengujian toksisitas dari ekstrak kasar kulit batang kering *Bruguiera gymnorrhiza*.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Hipotesis	4
1.6 Tempat dan Waktu.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Mangrove.....	6
2.2 Klasifikasi dan Morfologi Mangrove Lindur	7
2.3 Senyawa Bioaktif Mangrove.....	9
2.3.1 Tanin	10
2.3.2 Flavonoid.....	10
2.3.3 Alkaloid	11
2.3.4 Steroid.....	11
2.3.5 Terpenoid	12
2.3.6 Saponin.....	12
2.4 Pengeringan	13
2.4.1 Pengering vakum	13
2.5 Antibakteri.....	15
2.5.1 <i>Salmonella typhi</i>	16
2.5.2 Uji Aktivitas Antibakteri	19
2.5.2.1 Metode Difusi Agar	19
2.5.2.2 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	19
2.5.2.3 <i>Minimum Bacterisidal Concentration</i> (MBC)	19
2.5.2.4 Uji Toksisitas	20
2.6 Isolasi	20
2.6.1 Ekstraksi.....	20
2.6.1.1 Maserasi.....	20
2.6.1.2 Pelarut.....	21
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	23
3.1 Materi Penelitian	23
3.1.1 Bahan Penelitian	23
3.1.2 Alat Penelitian	24
3.2 Metode Penelitian	24

3.3 Prosedur Penelitian.....	26
3.3.1 Persiapan Bahan.....	27
3.3.1.1 Pembuatan Tepung.....	27
3.3.1.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang.....	27
3.3.1.3 Uji Kadar Air.....	28
3.3.1.4 Perhitungan Rendemen.....	29
3.3.2 Uji Fitokimia Ekstrak Kasar.....	30
3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri.....	31
3.3.3.1 Uji Cakram (Kirby-Bauer).....	31
3.3.3.2 Uji MIC dan MBC.....	32
3.3.4 Uji Toksisitas.....	32
3.4 Rancangan Penelitian.....	33
3.4.1 Variabel Penelitian.....	34
3.5 Parameter Uji.....	34
3.6 Analisa Data.....	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Penelitian Pendahuluan.....	36
4.1.1 Uji Kadar Air.....	36
4.2 Penelitian Utama.....	36
4.2.1 Pengeringan Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	36
4.2.2 Ekstraksi.....	38
4.2.3 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Lindur.....	39
4.2.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kulit Batang Lindur.....	42
4.2.5 Hasil Uji MIC dan MBC.....	47
4.2.7 Uji Toksisitas.....	49
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	58

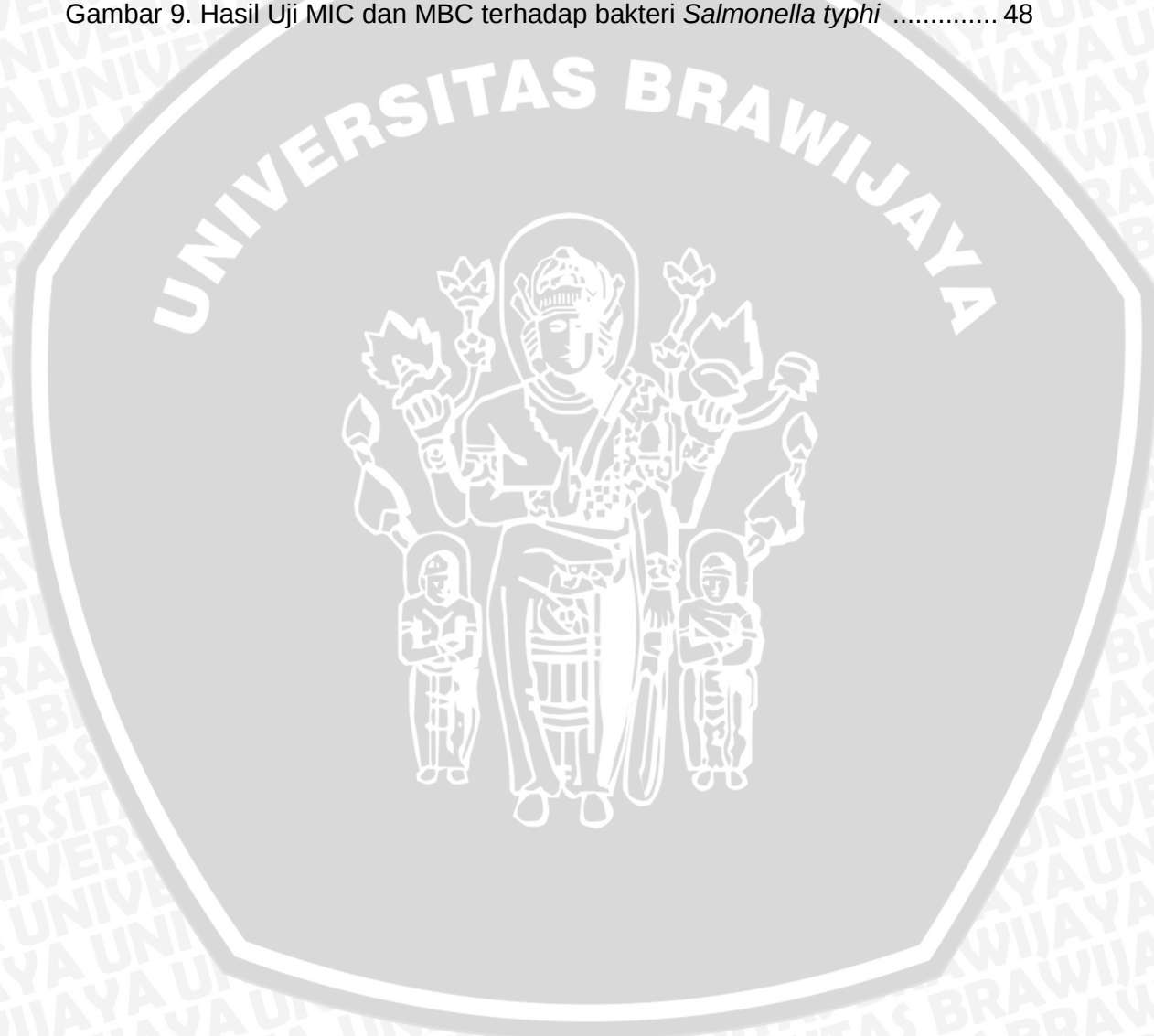
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Denah Rancangan Data Pengamatan.....	34
Tabel 2. Data Kadar Air, Lama Waktu Pengeringan dan Rendemen.....	38
Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia	41
Tabel 4. Data Rerata Zona Hambat Terhadap <i>Salmonella typhi</i>	43
Tabel 5. Hasil Uji Toksisitas Nilai LC ₅₀	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Mangrove <i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	8
Gambar 2. Mekanisme kerja oven vakum	14
Gambar 3. Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	18
Gambar 4. Diagram Alir Proses Penelitian	26
Gambar 5. Ekstraksi Kulit Batang Lindur	39
Gambar 6. Uji Fitokimia Kulit Batang Lindur.....	42
Gambar 7. Histogram Rerata Zona Hambat ekstrak kulit batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	44
Gambar 8. Pengamatan daya hambat suhu 30°C, 40°C, dan 50°C	47
Gambar 9. Hasil Uji MIC dan MBC terhadap bakteri <i>Salmonella typhi</i>	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Kadar Air Kulit Batang Lindur (<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>)	58
Lampiran 2. Rendemen Simplisia dan Ekstrak Kulit Batang Lindur (<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>)	60
Lampiran 3. Pembuatan Larutan.....	62
Lampiran 4. Pembuatan Media <i>Muller Hilton Agar</i> (MHA).....	65
Lampiran 5. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer	66
Lampiran 6. Data Pengamatan	67
Lampiran 7. Perhitungan Toksisitas	71
Lampiran 8. Perhitungan Uji MIC dan MBC	75
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	77



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salmonella typhi adalah bakteri penyebab Salmonellosis yang merupakan penyakit serius di Indonesia dan masih bersifat endemis. Hal ini terjadi karena angka kejadian cukup tinggi (0,36 – 0,81 % per tahun) serta adanya berbagai kendala dalam kelompok gambaran klinis, diagnosa dan pengobatannya. Penyakit ini dianggap serius karena dapat disertai berbagai penyakit dan juga mempunyai angka kematian yang cukup tinggi, yaitu 1-5 % dari penderita. Bakteri *Salmonella typhi* ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau tinja dari seseorang penderita demam typoid (Darmawati dan Dewi., 2008). Bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang bersifat patogen di dalam tubuh manusia. Sejauh ini pengobatan yang dilakukan adalah dengan menggunakan antibiotik (Tarman *et al.*, 2013).

Antibiotik ialah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba terutama fungi, yang dapat menghambat dan membunuh mikroba jenis lainnya. Antibiotik sebagai obat yang digunakan untuk membunuh mikroba penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik terhadap penggunaannya (Santoso *et al.*, 2015). Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik (Rinawati, 2011). Akan tetapi, pemberian antibiotik secara rutin dapat menyebabkan terjadinya efek samping berupa resistensi. Resistensi terhadap antibiotik mempengaruhi aktivitas dan perkembangan bakteri, sehingga jumlahnya dapat meningkat pada tubuh manusia (Jafari *et al.*, 2012).

Salah satu cara untuk mencegah resistansi antibakteri dari spesies patogen adalah dengan menggunakan senyawa baru yang tidak didasarkan pada agen antibakteri sintetik. Masalah resistansi, kerusakan lingkungan dan polusi yang terkait dengan penggunaan rasional obat-obatan ortodoks telah mengharuskan penemuan senyawa baru di alam sebagai sumber alternatif yang efektif dan aman dalam pengelolaan penyakit infeksi pada manusia. Selama beberapa dekade terakhir ini penelitian terhadap *mangrove* mencapai minat yang tinggi karena berpotensi sebagai *bioresource* dalam pengembangan obat-obatan. Sampai sekarang, lebih dari 200 metabolit bioaktif telah diisolasi dari populasi *mangrove* tropis dan subtropis. Ekstrak dari beberapa spesies *mangrove* secara biologis mengandung senyawa aktif antiviral, antibakterial dan antijamur. Berdasarkan struktur kimianya, senyawa-senyawa hasil isolasi mengandung steroid, triterpen, saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenolik yang mempunyai jangkauan luas terhadap kemungkinan penyembuhan (Hingkua *et al.*, 2013).

Tanaman lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) merupakan salah satu jenis tanaman mangrove yang berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang banyak ditemukan di wilayah tropis Pasifik dari Asia Tenggara, Kepulauan Ryukyu, Mikronesia, dan Polinesia (Samoa) hingga wilayah subtropis Australia. Bahkan kulit batang tanaman ini dilaporkan digunakan untuk penyembuhan penyakit diare dan demam di Indonesia. Kulit batang juga telah digunakan untuk mengobati malaria di Kamboja (Allen dan Duke 2006). Menurut penelitian Haq *et al.* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun dan kulit batang yang diperoleh dari tumbuhan lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) menunjukkan adanya senyawa antioksidan dan antimikroba, khususnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji daya hambat ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dengan variasi suhu pengeringan kulit batang dan konsentrasi ekstrak kasar terhadap *Salmonella typhi*. Untuk mengetahui adanya efek suhu pengeringan bahan dan konsentrasi terhadap kemampuan bahan antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mengetahui suhu pengeringan kulit batang dan konsentrasi ekstrak kasar optimum yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Pada suhu berapa pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*?
2. Pada konsentrasi berapa ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*?
3. Pada kombinasi suhu pengeringan bahan dan konsentrasi berapa ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan umum dari penelitian ini yaitu, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

Tujuan khusus dari penelitian ini yaitu:

1. Mendapatkan suhu pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang mampu untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi*.
2. Mendapatkan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang mampu untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi*.
3. Mendapatkan kombinasi suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini yaitu untuk meningkatkan kegunaan dari kulit batang mangrove lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dalam bentuk ekstrak kasar sebagai salah satu produk perikanan yang mempunyai manfaat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

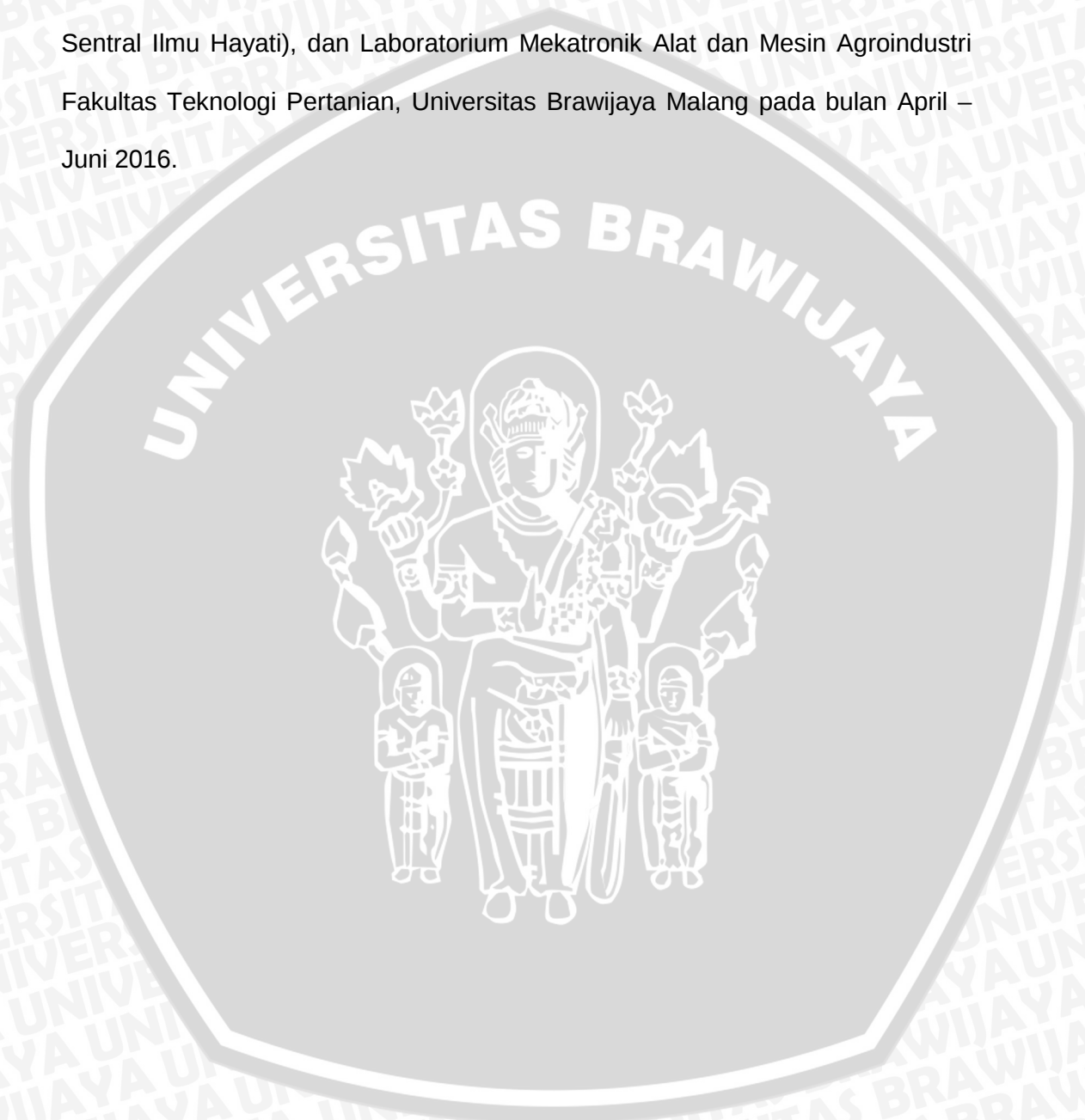
1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Diduga semakin tinggi suhu pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*), kemampuan hasil ekstrak kasar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* semakin menurun.
2. Diduga semakin tinggi konsentrasi ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*), kemampuan ekstrak kasar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* semakin baik.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Ilmu Kelautan, Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Mikrobiologi LSIH (Laboratorium Sentral Ilmu Hayati), dan Laboratorium Mekatronik Alat dan Mesin Agroindustri Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang pada bulan April – Juni 2016.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mangrove

Mangrove adalah komunitas tanaman pepohonan yang hidup di habitat payau dan berfungsi sebagai pelindung daratan dari gelombang laut yang besar. Tumbuhan mangrove memiliki kemampuan khusus untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti kondisi tanah yang tergenang, kadar garam yang tinggi serta kondisi tanah yang kurang stabil. Dari sekian banyak tanaman mangrove di Indonesia, jenis mangrove yang banyak ditemukan antara lain adalah jenis api-api (*Avicennia sp.*), bakau (*Rhizophora sp.*), tanjang/lindur (*Bruguiera sp.*), dan bogem atau pedada (*Sonneratia sp.*) yang merupakan tumbuhan mangrove utama (Sulistyawati *et al.*, 2012).

Mangrove merupakan tumbuhan yang hidup antara laut dan darat, ada yang berbentuk pohon ada pula yang berbentuk semak, pada waktu pasang akar-akarnya tergenang oleh air garam tetapi pada waktu air surut akar-akar itu nampak. Tumbuhan ini banyak diketemukan pada daerah pantai terlindung, terjadi antara rata-rata permukaan laut terendah dan rata-rata tinggi air pasang penuh dalam garis pasang surut, muara dan di beberapa terumbu karang yang telah mati. Tanah tempat tumbuh hutan mangrove pada umumnya berupa lumpur atau lumpur berpasir. Lapisan tajuk hanya satu lapis dengan ketinggian pohon dapat mencapai 50 meter. Jenis pohon yang terdapat di hutan mangrove berbeda antara tempat satu dengan tempat lainnya, tergantung pada jenis tanahnya, intensitas genangan air laut, kadar garam dan daya tahan terhadap ombak serta arus (Soeroyo, 1992).

Hutan mangrove merupakan ekosistem utama pendukung kehidupan yang penting di wilayah pesisir dan lautan. Selain mempunyai fungsi ekologis

sebagai penyedia nutrisi bagi biota perairan, tempat pemijahan dan asuhan bagi berbagai macam biota, penahan abrasi, amukan angin tofan, dan tsunami, penyerap limbah, pencegah intrusi air laut dan lain sebagainya, hutan mangrove juga mempunyai fungsi ekonomis penting seperti, penyedia kayu, daun-daunan sebagai bahan baku obat-obatan dan lain-lain. Secara garis besar fungsi ekonomis mangrove merupakan sumber pendapatan bagi masyarakat, industri maupun bagi negara (Saprudin dan Halidah, 2012).

Fungsi dan manfaat mangrove telah banyak diketahui, baik sebagai tempat pemijahan ikan di perairan, pelindung daratan dari abrasi oleh ombak, pelindung daratan dari tiupan angin, penyaring intrusi air laut ke daratan dan kandungan logam berat yang berbahaya bagi kehidupan, tempat singgah migrasi burung, dan sebagai habitat satwa liar serta manfaat langsung lainnya bagi manusia (Anwar dan Hendra, 2007). Tumbuhan mangrove merupakan salah satu tumbuhan yang diketahui mengandung senyawa antibakterial. Tumbuhan ini mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, steroid, fenol hidrokuinon dan tanin yang aktif sebagai bahan antimikroba (Mulyani *et al.*, 2013). Salah satu jenis tanaman mangrove yang mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat bakteri adalah mangrove jenis lindur (*Bruguiera gymnorhiza*).

2.2 Klasifikasi dan Morfologi Mangrove Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)

Tanaman lindur adalah tanaman mangrove yang biasa dikenal sebagai bakau daun besar, yang memiliki akar papan dan lutut serta ketinggiannya dapat mencapai 30 m. Tanaman lindur banyak terdapat di daerah tropis, di Indonesia sendiri tanaman lindur tersebar di daerah Jawa, Sumatera, Kalimantan, Maluku, dan Bali. Masyarakat Tual di Kabupaten Maluku Tenggara biasa memanfaatkan buahnya sebagai sumber karbohidrat pengganti nasi ketika terjadi panceklik, obat penyakit herpes, penyakit mata, dan kulit batangnya digunakan sebagai

obat diare dan malaria serta akar dan daunnya digunakan untuk mengobati luka bakar. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat pewarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat. Secara empiris buah lindur sudah dimanfaatkan dalam bidang medis, namun masih belum cukup informasi untuk menjelaskan hal-hal tersebut secara ilmiah sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui kandungan gizi, aktivitas antioksidan serta komponen bioaktif yang dikandungnya (Jacoeb *et al.*,2013). Adapun klasifikasi dari *Bruguiera gymnorrhiza* menurut Allen dan Duke (2006) yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Family	: Rhizophoraceae
Genus	: <i>Bruguiera</i>
Species	: <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> (L.) Lamk.

Mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* (Allen dan Duke, 2006)

Bruguiera gymnorhiza memiliki perawakan: pohon, tinggi dapat mencapai 20 m, kulit kayu abu-abu kehitaman, kasar, berlenti sel dan bercelah. Daun: tunggal, permukaan hijau tua, permukaan bawah hijau kekuningan, tulang daun kadangkala berwarna kemerah-merahan, tersusun berlawanan, ujung runcing, bentuk elip sampai bulat panjang, ukuran panjang 8-15 cm, lebar 4-6 cm. Bunga: soliter, terletak di ketiak daun, kelopak berjumlah 10-14, bentuk genta, warna merah sampai merah muda, mahkota runcing dan sedikit pendek dari kelopak, benangsari berpasang-pasangan dan melekat pada daun mahkota. Buah: bulat, diameter 1,5-2 cm, hipokotil halus, mirip cerutu, berwarna hijau tua sampai ungu kecoklatan, ujung tumpul, panjang 7-15 cm, diameter 1,5-2 cm. Akar: akar papan yang melebar, disertai akar lutut. Habitat: tanah basah, yang sedikit berpasir (Sudarmadji, 2004).

2.3 Senyawa Bioaktif Mangrove

Tanaman lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang banyak ditemukan di wilayah tropis Pasifik dari Asia Tenggara, Kepulauan Ryukyu, Mikronesia, dan Polinesia (Samoa) hingga wilayah subtropis Australia. Secara empiris, kulit batangnya digunakan mengobati luka bakar (Kepulauan Solomon), obat diare, dan malaria (Indonesia, Kamboja). Senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman lindur adalah senyawa alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin dan fenol hidrokuinon. Senyawa bioaktif dapat ditentukan melalui uji fitokimia (Dia et al., 2015). Kandungan senyawa kimia tumbuhan mangrove sangat berpotensi sebagai sumber senyawa baru agrokimia dan senyawa bernilai obat (Setyawan dan Winarno, 2006).

2.3.1 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang bersifat asam dengan rasa sepat, ditemukan dalam banyak tumbuhan, tersebar di berbagai organ tanaman, seperti batang, daun dan buah. Tanin dapat dipakai sebagai antimikroba (bakteri dan virus) dan juga berkhasiat sebagai astringen yang dapat menciutkan selaput lendir sehingga mempercepat penyembuhan sariawan (Hangerman, 2002). Tanin dapat diperoleh dari hampir semua jenis tumbuhan hijau baik tumbuhan tingkat rendah maupun tingkat tinggi dengan kadar dan kualitas yang bervariasi. Tanin merupakan senyawa polifenol yang sangat kompleks. Oleh karena adanya gugus fenol, maka tanin dapat bereaksi dengan formaldehid (polimerisasi kondensasi) membentuk produk thermosetting (Danarto *et al.*, 2011). Tanin dapat digunakan sebagai antijamur dan antibakteri karena kemampuannya untuk mengendapkan protein yang merupakan komponen penyusun membran sel, senyawa tannin rusak pada suhu 120°C dengan lama pemanasan selama 4 menit (Fitoni *et al.*, 2013).

2.3.2 Flavonoid

Flavonoid adalah turunan senyawa fenolat, flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan hijau, seperti pada: akar, daun, kulit kayu, benang sari, bunga, buah dan biji buah (Nugrahaningtyas *et al.*, 2005). Tanaman mangrove banyak mengandung senyawa flavonoid, karena tanaman mangrove memiliki daun, akar, batang sejati. Flavonoid yang ditemukan pada tanaman mangrove berperan sebagai antioksidan dengan menghambat peroksidasi dari lipid dan berpotensi menginaktifkan oksigen triplet (Bayu, 2009). Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responsnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah

mikroorganisma. Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki bermacam-macam efek antara lain efek antioksidan, anti tumor, anti radang, antibakteri dan anti virus (Parubak, 2013). Senyawa flavonoid (fenol) memiliki suhu optimal 0°C – 65°C.

2.3.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara *et al.*, 2013).

Senyawa ini banyak terdapat dalam tumbuh-tumbuhan dan mempunyai efek fisiologi yang kuat. Alkaloid termasuk kelompok produk metabolit sekunder yang memiliki populasi sangat besar. Umumnya memperlihatkan sifat farmakologis serta telah dikenal ratusan tahun yang lalu sebagai obat, contohnya alkaloid "cinchona". Alkaloid ini diperoleh dari kulit batang cinchona (Mamonto *et al.*, 2013). Senyawa Alkaloid xantina memiliki titik didih yaitu pada suhu 178°C.

2.3.4 Steroid

Steroid terdapat pada tumbuhan dan hewan. Kata "sterol" ditujukan khusus untuk steroid alkohol, namun karena semua steroid tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil pada C-3 maka semua disebut sterol. sterol tidak larut air namun larut dalam hampir semua pelarut organik. Dilihat dari strukturnya, sterol memiliki satu atau dua atom tambahan. Semua sterol alam mempunyai gugus hidroksil C-3 (Risnafiani *et al.*, 2015).

Steroid menurut Imawati (2013), adalah sebuah kelas tanaman metabolit sekunder. Steroid merupakan senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang merupakan hasil reaksi dari turunan terpena atau skualena. Menurut

Pramana dan Chaerul (2013), karakterisasi senyawa steroid Isolat murni yang diperoleh dari fraksi n-heksana sebanyak 10 mg berupa kristal berwarna putih berbentuk jarum dengan titik leleh 147-148°C.

2.3.5 Terpenoid

Terpenoid mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, antibakteri, antijamur dan gangguan kesehatan. Senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Karena mekanisme itulah terpenoid lebih bersifat bakteriostatik. Senyawa – senyawa ini yang mempunyai aktivitas bakteristatik itu dapat meningkat menjadi bakterisid, jika kadar senyawa antibakteri itu ditingkatkan melebihi kadar hambat minimal (Krisnata *et al.*, 2014). Sifat fisika terpena/ terpenoida adalah cairan tidak berwarna, berbau khas, titik didih 150-200°C, berat jenis lebih kecil dari air, menguap dengan uap air, tidak larut dalam air, tapi larut dalam pelarut organik, pada umumnya optik aktif (Mutho, 2011).

2.3.6 Saponin

Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Karena sifat itulah saponin pada konsentrasi 1 – 12 µg/ml tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *E.coli* sehingga saponin mempunyai sifat bakteriostatik. Saponin juga tidak mampu menghambat bakteri gram negatif dan jamur tetapi saponin mampu

menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Krisnata *et al.*, 2014). Saponin dapat terdegradasi pada suhu 80°C.

2.4 Pengerinan

Pengerinan merupakan kegiatan yang paling penting dalam pengolahan tanaman obat, kualitas produk yang digunakan sangat dipengaruhi oleh proses pengerinan yang dilakukan. Terdapat berbagai metode dalam pengerinan yaitu antara lain pengerinan dengan sinar matahari langsung, pengerinan dengan oven, dan kering angin. Pengerinan dengan matahari langsung merupakan proses pengerinan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (*oven*) akan memberikan produk yang lebih baik. Sinar ultra violet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan. Pengerinan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat, akan tetapi penggunaan suhu yang terlampau tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan sedang metode kering angin dianggap murah akan tetapi kurang efisien waktu dalam pengerinan simplisia (Winangsih *et al.*, 2013).

2.4.1 Pengerin Vakum

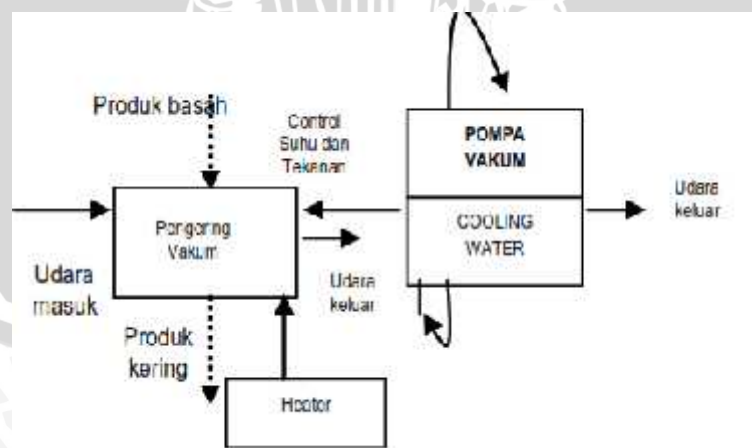
Pengerin vakum dan pengerin berhawa dingin dapat bekerja pada temperatur rendah dengan tekanan rendah. Prinsip dari alat pengerin ini adalah menguapkan air pada suhu rendah dengan mengkondisikan alat pada tekanan rendah (vakum). Pengerin ini sangat berguna untuk memproduksi produk dengan kualitas tinggi, serta meminimalkan terbuangnya aroma, bahan aktif dan volatil (mudah menguap), serta menekan rusaknya nutrisi (denaturasi

protein, browning (pencoklatan bahan), dan reaksi enzim) (Prasetyaningrum, 2010).

Menurut Prasetyaningrum (2010), pada proses pengeringan vakum, temperature operasi cukup rendah yaitu berkisar 40° - 70° C. Proses pengeringan pada kondisi vakum dan suhu rendah memiliki beberapa keuntungan, yaitu :

1. Tidak merusak tekstur dan kenampakan bahan
2. Meminimalkan terbuangnya aroma dan bahan aktif yang volatile (mudah menguap)
3. Menekan rusaknya nutrisi (denaturasi protein).
4. Mengurangi terjadinya *browning* (pencoklatan bahan) akibat adanya oksidasi dengan udara.
5. Effisiensi energi karena penggunaan pengeringan pada suhu yang rendah

Mekanisme kerja alat vakum oven menurut Prasetyaningrum (2010), Penurunan tekanan udara pada alat pengering vakum menggunakan pompa vakum yang dihubungkan dengan pendingin air. Udara panas yang keluar dari system yang mengandung uap air dikeluarkan dari oven, dan didinginkan di dalam air pendingin (*cooling water*) supaya tidak merusak pompa vakum.



Gambar 2. Mekanisme kerja alat vakum oven (Prasetyaningrum, 2010)

Cara kerja vakum oven menurut Prasetyaningrum (2010), Udara dari luar masuk ke alat pengering vakum. Udara ini disedot oleh pompa vakum agar tekanan udara di dalam alat pengering dibawah satu atm 0,6 - 0.9 atm (dan kemudian digunakan untuk proses pengeringan). Sementara itu udara yang keluar dari pompa vakum dimasukkan ke dalam air pendingin (*cooling water*), yang berfungsi *vacuum jet ejector*. Demikian seterusnya, sehingga proses pengeringan dapat dilakukan pada tekanan dan suhu yang rendah.

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme. Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Ganiswara, 1995).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteristatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif memiliki kepekaan yang berbeda terhadap senyawa antibakteri. Bakteri Gram positif cenderung lebih

sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

Streptomisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida, antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat sintesis protein (Pratiwi, 2008). Streptomisin memiliki peran yang sangat penting dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif (*Salmonella typhi*) (Nattadiputra, 2009). Streptomisin merupakan salah satu jenis antibiotik aminoglikosida. Mekanisme kerjanya yaitu, tahap awal adalah perlekatan aminoglikosida pada reseptor protein spesifik yaitu subunit 30S pada ribosom bakteri dan selanjutnya aminoglikosida akan menghambat aktivitas kompleks inisiasi dari pembentukan peptida (mRNA + "formyl methionine" + tRNA). Kemudian pesan mRNA akan dibaca salah oleh "regio pengenalan" pada ribosom, sehingga terjadi insersi asam amino yang salah pada peptida yang menghasilkan protein nonfungsional. Sebagai akibat terakhir perlekatan aminoglikosida akan menghasilkan pecahnya polisom menjadi monosom yang tidak mampu mensintesis protein (Sudigdoadi, 2015).

2.5.1 *Salmonella typhi*

Salmonella typhi adalah bakteri gram negatif batang yang menyebabkan demam tifoid. *Salmonella typhi* merupakan salah satu penyebab infeksi tersering di daerah tropis, khususnya di tempat-tempat dengan higiene yang buruk. Manusia terinfeksi *Salmonella typhi* secara fecal-oral. Tidak selalu *Salmonella typhi* yang masuk ke saluran cerna akan menyebabkan infeksi karena untuk menimbulkan infeksi, *Salmonella typhi* harus dapat mencapai usus halus. Salah

satu faktor penting yang menghalangi *Salmonella typhi* mencapai usus halus adalah keasaman lambung. Bila keasaman lambung berkurang atau makanan terlalu cepat melewati lambung, maka hal ini akan memudahkan infeksi *Salmonella typhi*. (Hanna et al.,2005).

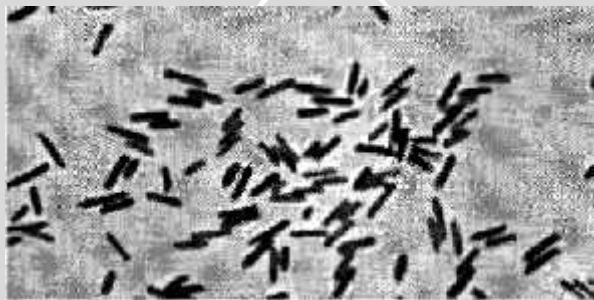
S. typhi merupakan kuman batang Gram negatif,yang tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik, bersifat intraseluler fakultatif dan anerob fakultatif. Ukurannya berkisar antara 0,7- 1,5 X 2-5 pm, memiliki antigen somatik (O), antigen flagel (H) dengan 2 fase dan antigen kapsul (Vi). Kuman ini tahan terhadap selenit dan natrium deoksikolat yang dapat membunuh bakteri enterik lain, menghasilkan endotoksin, protein invasin dan MRHA (*Mannosa Resistant Haemagglutinin*). *S. typhi* mampu bertahan hidup selama beberapa bulan sampai setahun jika melekat dalam, tinja, mentega, susu, keju dan air beku. *S. typhi* adalah parasit intraseluler fakultatif, yang dapat hidup dalam makrofag dan menyebabkan gejala gejala gastrointestinal hanya pada akhir perjalanan penyakit, biasanya sesudah demam yang lama, bakteremia dan akhirnya lokalisasi infeksi dalam jaringan limfoid submukosa usus kecil (Cita, 2011).

S. typhi dapat memproduksi H₂S tetapi tidak dapat membentuk gas dari glukosa. Berbeda dengan lainnya *S. typhi* tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, tidak dapat melakukan dekarboksilasi terhadap ornitin, dan tidak memfermentasi rhamnosa. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu antara 5-47°C. Beberapa sel tetap dapat hidup selama penyimpanan beku. *Salmonella* dapat tumbuh pada pH 4,1–9,0 dengan pH optimum 6,5–7,5. Nilai pH minimum bervariasi bergantung kepada serotype, suhu inkubasi, komposisi media, a_w dan jumlah sel. Pada pH dibawah 4 dan diatas 9 salmonella akan mati secara perlahan (Poeloengan et al., 2007).

Taksonomi *S. typhi* adalah:

Phylum	: Eubacteria
Class	: Prateobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Species	: <i>Salmonella enterica</i>
Subspesies	: <i>enteric</i> (I)
Serotipe	: <i>typhi</i>

Bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Bakteri *Salmonella typhi* (Cita, 2011).

Patogenesis Infeksi *Salmonella typhi*, setelah masuk ke saluran cerna dan mencapai usus halus, *Salmonella typhi* akan ditangkap oleh makrofag di usus halus dan memasuki peredaran darah, menimbulkan bakteriemia primer. Selanjutnya, *Salmonella typhi* akan mengikuti aliran darah hingga sampai di kandung empedu. Bersama dengan sekresi empedu ke dalam saluran cerna, *Salmonella typhi* kembali memasuki saluran cerna dan akan menginfeksi Peyer's patches, yaitu jaringan limfoid yang terdapat di ileum, kemudian kembali memasuki peredaran darah, menimbulkan bakteriemia sekunder. Pada saat terjadi bakteriemia sekunder, dapat ditemukan gejala-gejala klinis dari demam tifoid (Hanna *et al.*, 2005).

2.5.2 Uji Aktivitas Antibakteri

2.5.2.1 Metode Difusi Agar

Metoda difusi agar dipilih karena metoda ini relatif lebih sederhana dan hasil yang didapat cukup teliti untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri. Daerah bening di sekeliling cakram menandakan tidak adanya bakteri yang tumbuh, hal ini menunjukkan bahwa sampel mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan mikroba. Adapun faktor yang mempengaruhi pengujian aktivitas antibakteri dengan metoda ini adalah kecepatan difusi dari zat yang berbeda-beda dan perbedaan respon dari mikroba terhadap zat yang diuji, ini yang menyebabkan diameter hambat yang dihasilkan (Handayani *et al.*, 2005).

2.5.2.2 *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang terlihat setelah semalam diinkubasi. MIC digunakan oleh laboratorium diagnostik, terutama untuk konfirmasi perlawanan, namun paling sering sebagai alat riset untuk menentukan in-vitro aktivitas antimikroba baru, dan data dari studi tersebut telah digunakan untuk menentukan MIC breakpoints (Andrews, 2001)

Satuan resistensi dinyatakan dalam satuan KHM (Kadar Hambat Minimal) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yaitu kadar terendah antibiotik ($\mu\text{g/mL}$) yang mampu menghambat tumbuh dan berkembangnya bakteri. Peningkatan nilai KHM menggambarkan tahap awal menuju resisten (PERMENKES, 2011).

2.5.2.3 *Minimum Bactericidal Concentrations* (MBC)

Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah antimikroba yang akan mencegah pertumbuhan organisme setelah sub-kultur ke media bebas antibiotik (Andrews, 2001). Untuk menentukan

MBC, semua larutan uji yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba pada tahap 2, diinokulasi pada media agar MHA pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi terendah dari larutan uji yang dapat membunuh mikroba dinyatakan sebagai MBC (Juwitaningsih *et al.*, 2014).

2.5.2.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengetahui keamanan suatu obat yang akan dijadikan produk. Uji toksisitas subkronik adalah uji yang digunakan untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada hewan coba dengan sedikitnya tiga tingkat dosis, umumnya dalam jangka waktu 90 hari (Nisa' *et al.*, 2012).

2.6 Isolasi

2.6.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

2.6.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu jenis metode ekstraksi yang sering digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam

pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhrani, 2014).

Penyarian sampel dilakukan dengan cara maserasi karena maserasi merupakan metode ekstraksi yang pengerjaannya dan alat-alat yang digunakan sederhana. Pemilihan cara maserasi juga bertujuan untuk menghindari terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel oleh pemanasan (Handayani et al., 2005).

2.6.1.2 Pelarut

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyaring sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Astarina et al., 2013).

Metanol biasa digunakan sebagai pelarut organik, merupakan jenis alkohol yang mempunyai struktur paling sederhana, tetapi paling toksik pada manusia. Keracunan akibat metanol biasanya terjadi karena overdosis yang secara sengaja atau tidak sengaja tertelan sehingga menyebabkan asidosis metabolik. Metabolisme metanol sebagian besar terjadi di hepar, karena itu salah satu organ yang mengalami kerusakan akibat metanol adalah hepar. Kerusakan pada sel hepar disebabkan karena radikal bebas, formaldehid dan asam format.

Formaldehid meningkatkan lipid peroksidase yang dapat mengakibatkan kerusakan sel membran dan kematian sel. Asam format menghambat aktifitas oksidasi mitokondrial sitokrom, menghalangi metabolisme oksidatif dan mengakibatkan hipoksia jaringan (Nabila, 2011).

Sulfoxide Dimetil (DMSO), adalah senyawa organosulfur dengan rumus $(CH_3)_2SO$. Cairan tidak berwarna ini merupakan pelarut polar aprotik yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air (BPOM, 2012). DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri (Fadlila *et al.*, 2015).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit batang mangrove spesies lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang didapatkan dari Pulokerto Pasuruan Jawa Timur, kulit batang yang digunakan memiliki ciri-ciri berwarna abu-abu hingga hitam dan memiliki tekstur yang kasar. Dan biakan murni bakteri *Salmonella typhi* dengan kepadatan 10^7 koloni/mL yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi antara lain metanol, kertas saring, gas nitrogen, aluminium foil, kertas label.

Bahan yang digunakan untuk pengujian fitokimia adalah larutan ekstrak, HCl pekat, asetat anhidrat, FeCl_3 1%, reagen Meyer, H_2SO_4 pekat, kloroform, serbuk magnesium, dan aquades. Bahan yang digunakan untuk pengujian daya hambat bakteri adalah media *Muller Hinton Agar* (MHA) MERCK, aquades, kertas cakram, DMSO 1%, antibiotik *streptomycin*, alkohol 70%, dan cotton swab. Bahan yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu larva *Artemia salina* L yang didapatkan dari Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, air laut, dan larutan ekstrak.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi senyawa antibakteri dari *Bruguiera gymnorhiza* yaitu blender, timbangan digital, botol vial, botol bensin 1L, corong, oven vacuum, spatula, vacuum rotary evaporator, erlenmeyer 1000 ml, kulkas dan gelas ukur.

Peralatan yang digunakan untuk uji kadar air yaitu botol timbang, oven, timbangan digital, desikator, *crushable tang*. Peralatan yang digunakan untuk uji fitokimia tabung reaksi, timbangan digital, pipet serologis, gelas ukur, bola hisap, rak tabung reaksi. Peralatan yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu cawan petri, bunsen, inkubator, pinset, *sprayer, triangle*, autoklaf, mikropipet, LAF (*Laminar Air Flow*), beaker glass 100 ml, jangka sorong, erlenmeyer 500 ml, spatula, timbangan digital, gelas ukur.

Peralatan yang digunakan untuk uji MIC adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet serologis, mikro pipet, bola hisap, *vortex mixer*, inkubator dan beaker glass 100 ml. Peralatan yang digunakan untuk uji MBC adalah beaker glass 100 ml, cawan petri, mikro pipet, inkubator, gelas ukur, dan erlenmeyer 500 ml. Peralatan yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu aquarium, botol vial, pipet serologis, bola hisap, dan beaker glass 100 ml.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen yang merupakan bagian dari metode kuantitatif dan memiliki ciri khas tersendiri terutama dengan adanya kelompok kontrol. Dalam bidang sains, penelitian-penelitian dapat menggunakan design eksperimen karena variabel-variabel lain yang dapat mempengaruhi proses eksperimen itu dapat dikontrol secara ketat (Fataruba, 2010). Menurut Sartika (2012), metode eksperimen adalah suatu cara penyampaian pengajaran dengan melakukan kegiatan percobaan untuk menemukan sendiri apa yang dipelajari baik secara individu maupun kelompok, sehingga siswa mampu mengecek kebenaran suatu hipotesis atau membuktikan sendiri apa yang dipelajari.

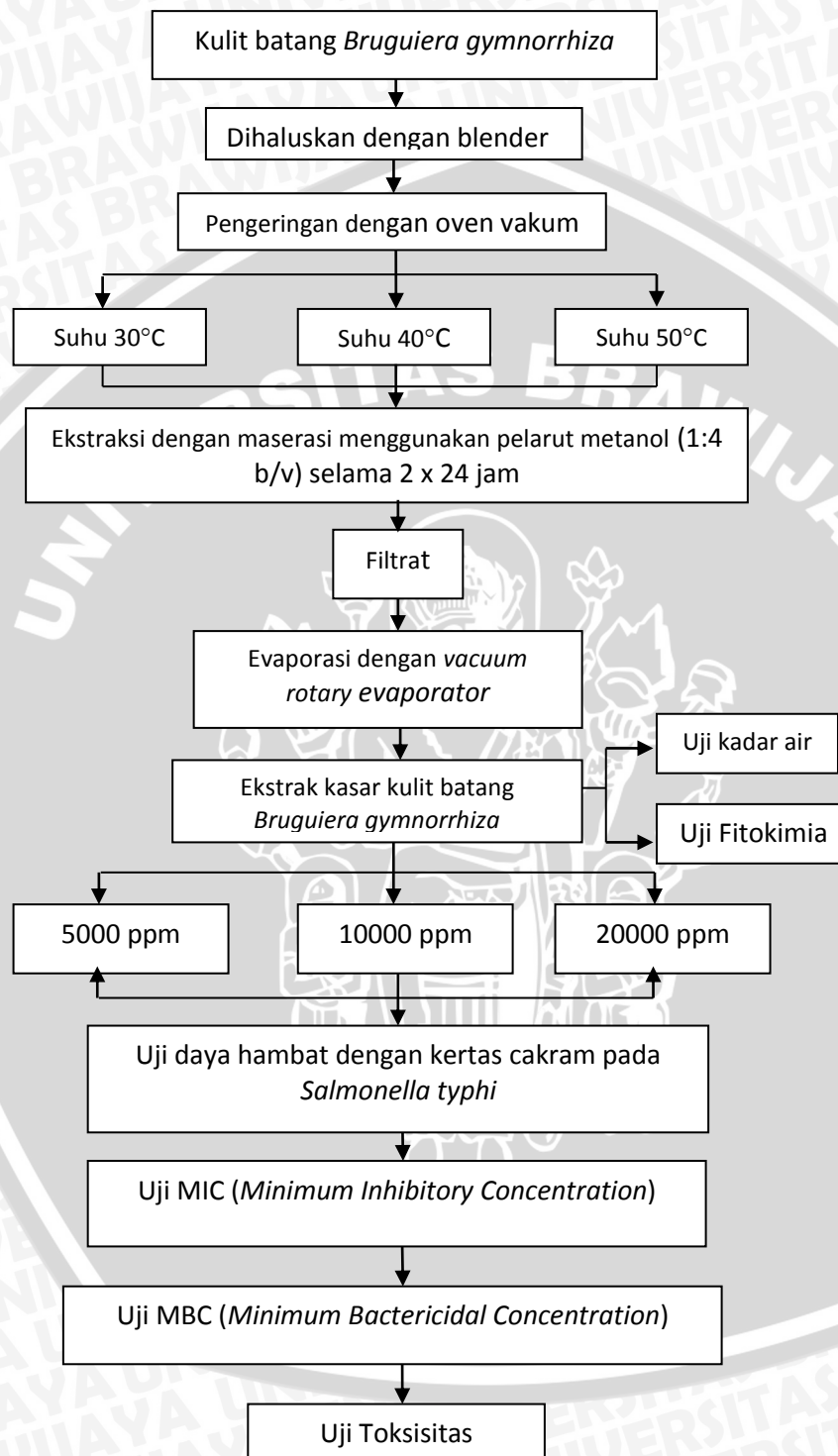
Eksperimen ini dilakukan dengan memberikan perlakuan suhu pengeringan yang berbeda terhadap kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

yaitu suhu 30°C, 40°C dan 50°C dan pemberian konsentrasi yang berbeda terhadap ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yaitu 5000 ppm, 10.000 ppm, dan 20.000 ppm untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Metode eksperimen ini dilakukan dengan membagi perlakuan menjadi beberapa level suhu dan dosis untuk membuktikan hipotesa dengan adanya eksperimen kontrol sebagai pembanding.



3.3 Prosedur Penelitian

Diagram alir proses penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir proses penelitian (Modifikasi Nurdiani et al. (2012), Prihanto et al. (2011), Paramartha et al., (2015), Apriyanto et al. (2014) serta Untoro et al. (2012).

3.3.1 Persiapan Bahan

3.3.1.1 Pembuatan Tepung

Bagian kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang digunakan memiliki ciri-ciri kulit batang berwarna abu-abu hingga hitam dan memiliki tekstur yang kasar dan berserat. Untuk pembuatan tepung sebanyak 1 kg kulit batang dicuci bersih, lalu diangin-anginkan. Kemudian dihaluskan menggunakan *grinder* untuk memperluas permukaan kontak antara kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan elemen pemanas pada oven sehingga mempercepat proses pengeringan dan senyawa yang ada dalam kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dapat tersari sempurna ketika proses ekstraksi. Setelah dihaluskan, sampel dikeringkan dalam oven vakum pada suhu 30°C, 40°C, 50°C hingga kadar airnya mencapai $\pm 15\%$. Kemudian kulit batang lindur yang sudah dioven, ditimbang untuk mendapatkan rendemen, serta diuji kadar airnya.

3.3.1.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang

Proses ekstraksi dilakukan berdasar penelitian Nurdiani *et al.*, (2012) yang dimodifikasi yaitu Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi yaitu merendam kulit batang kering lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan pelarut metanol 1:4 b/v. Sampel ditimbang sebanyak 200 g, kemudian direndam dalam 800 ml metanol dan diletakkan dalam botol kaca, mulut botol ditutup rapat dengan aluminium foil untuk mencegah penguapan. Maserasi dilakukan selama 2 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C untuk menguapkan pelarut. Ekstrak kasar hasil evaporasi kemudian diberi gas nitrogen untuk memaksimalkan penguapan pelarut. Selanjutnya ekstrak kasar ditimbang, dihitung rendemen, serta diuji kandungan kadar airnya. Ekstrak kemudian disimpan pada suhu 4°C untuk digunakan pada analisa selanjutnya.

Vacuum Rotary Evaporator adalah alat yang berfungsi untuk memisahkan suatu larutan dari pelarutnya sehingga dihasilkan ekstrak dengan kandungan kimia tertentu sesuai yang diinginkan. Cairan yang ingin diuapkan biasanya ditempatkan dalam suatu labu yang kemudian dipanaskan dengan bantuan penangas, dan diputar. Uap cairan yang dihasilkan didinginkan oleh suatu pendingin (kondensor) dan ditampung pada suatu tempat (*receiver flask*). Kecepatan alat ini dalam melakukan evaporasi sangat cepat, terutama bila dibantu oleh vakum. Terjadinya bumping dan pembentukan busa juga dapat dihindari. Kelebihan lainnya dari alat ini adalah diperolehnya kembali pelarut yang diuapkan. Prinsip kerja alat ini didasarkan pada titik didih pelarut dan adanya tekanan yang menyebabkan uap dari pelarut terkumpul di atas, serta adanya kondensor (suhu dingin) yang menyebabkan uap ini mengembun dan akhirnya jatuh ke tabung penerima (*receiver flask*). Setelah pelarutnya diuapkan, akan dihasilkan ekstrak yang dapat berbentuk padatan (solid) atau cairan (liquid). Biasanya ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi awal ini (ekstraksi dari bahan tumbuhan) disebut sebagai ekstrak kasar (*crude extract*) (Senjaya dan Surakusumah, 2010).

Pelarut yang digunakan adalah pelarut metanol, alasan penggunaan pelarut metanol karena metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Astarina *et al.*, 2013).

3.3.1.3 Uji Kadar Air

Ekstrak kasar dari kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* kemudian dilakukan pengujian kadar air berdasarkan penelitian Untoro *et al.*, (2012) menggunakan metode pengeringan atau oven (*Thermogravimetri*). Botol timbang

diberi kode sesuai kode sampel ditimbang terlebih dahulu sebagai berat botol timbang sebelum dioven. Botol timbang dipanaskan dalam oven dengan suhu 100°C-105°C selama 1 jam, kemudian botol timbang dimasukkan dalam desikator sekitar 15 menit dan ditimbang sebagai berat botol timbang setelah dioven. Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dan dalam botol timbang. Botol timbang berisi sampel dipanaskan dalam oven dengan suhu 100°C-105°C selama 4-6 jam. Selanjutnya botol timbang berisi sampel dimasukan ke desikator selama 15 menit dan ditimbang. Setelah didapatkan bobot konstan kadar air dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(BC + BS1) - (BC + BS2)}{BS1} \times 100$$

Keterangan:

BC = Berat cawan / Botol timbang

BS1 = Berat sampel sebelum dioven

BS2 = Berat Sampel Sesudah dioven

3.3.1.4 Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan pada tepung kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) serta pada ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*), rumus perhitungan rendemen adalah:

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

Untuk tepung kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) berat awal diukur dengan penimbangan sampel segar yang telah dihaluskan, dan berat akhir diukur dengan penimbangan sampel kering setelah proses pengovenan. Sedangkan untuk ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) berat awal ditetapkan, yaitu pada jumlah sampel kering yang akan diekstrak (200 g), berat akhir didapatkan dengan penimbangan sampel kering setelah ekstraksi.

3.3.2 Uji Fitokimia Ekstrak Kasar

Pengujian fitokimia ekstrak kasar dari kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* dilakukan dengan menimbang masing – masing sampel sebanyak 2 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades yang dipanaskan untuk mendapatkan ekstrak yang lebih cair sehingga memudahkan dalam pengujian fitokimia. Uji fitokimia dilakukan terhadap kandungan alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, dan saponin menggunakan metode yang didasarkan pada Harborne (1987).

1. Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 tetes HCl dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Meyer. Hasil uji dianggap positif mengandung alkaloid apabila endapan berwarna putih kekuningan.

2. Uji Flavonoid

Sampel sebanyak 2 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 2 ml HCl 2N. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

3. Uji Steroid

Sampel sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan asam anhidrat 2 ml. Lalu ditambahkan asam sulfat (H_2SO_4) sebanyak 2 ml. Reaksi positif adanya steroid ditunjukkan dengan perubahan warna dari violet ke warna biru atau hijau.

4. Uji Terpenoid

Ekstrak 0,5 g ditambahkan 2 ml kloroform, 3 ml asam sulfat (H_2SO_4) perlahan ditambahkan sampai terbentuk lapisan berwarna. Warna merah kecoklatan menunjukkan positif terpenoid.

5. Uji Tanin

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan timbulnya warna biru, hijau, merah, ungu atau hitam.

6. Uji Saponin

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml aquadest, 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.

3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri

3.3.3.1 Uji Cakram (Kirby Bauer)

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* dilakukan berdasarkan metode Prihanto *et al.*, (2011) menggunakan metode cakram Kirby Bauer. Langkah pertama dalam pengujian antibakteri yaitu pembuatan media, kemudian sterilisasi alat – alat, media dan kertas cakram pada suhu 121°C selama 2 jam. Selanjutnya, kertas cakram steril direndam selama ± 15 menit pada ekstrak dengan konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, antibiotik *streptomycin* 100 ppm (sebagai kontrol positif) dan DMSO 1% (sebagai kontrol negatif). Cawan petri diisi dengan 20 ml media *Muller Hinton Agar* (MHA) dan ditunggu hingga media padat. Bakteri uji yaitu *Salmonella typhi* dengan kepadatan 10^7 koloni/ml diambil dengan menggunakan *cotton swab* steril, kemudian digoreskan diatas media MHA dan didiamkan selama 5 menit. Kertas cakram yang telah direndam ekstrak ditempatkan diatas permukaan media MHA yang telah disebar bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam. Diameter penghambatan yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

3.3.3.2 Uji MIC dan MBC

Penentuan nilai MIC dan MBC dengan menggunakan metode Bloomfield (1991) yang dimodifikasi Paramartha *et al.*, (2015). Data hasil pengujian daya hambat ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* digunakan untuk menentukan nilai MIC dan MBC yang didapatkan dengan penggambaran kurva $\ln Mo$ (konsentrasi ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*) pada sumbu X terhadap nilai kuadrat zona hambat Z2 (diameter zona hambat kuadrat) pada sumbu Y. Hasil perpotongan dari persamaan regresi linier $Y = a + bX$ dengan sumbu X adalah nilai Mt . Nilai MBC ditentukan dari anti $\ln Mt$ dan nilai MIC diperoleh dari nilai MBC dikali 0.25.

3.3.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan berdasarkan penelitian Apriyanto *et al.*, (2014) dan Juniarti *et al.*, (2009) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang dimodifikasi. Sampel yang akan diuji BSLT sebanyak 2500 ppm, 1250 ppm, 625 ppm, dan 312,5 ppm dengan dilakukan secara duplo. Selanjutnya, Larva *A. salina* sebanyak 10 ekor dengan menggunakan pipet dimasukkan ke dalam wadah uji dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, jumlah larva yang hidup dan mati dihitung untuk tiap perlakuan. Selanjutnya dihitung mortalitas dengan cara akumulasi mati dibagi jumlah akumulasi hidup dan mati (total) dikali 100%. Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu X terhadap mortalitas sebagai sumbu Y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier $y = a + bx$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak dan ≤ 30 ppm untuk suatu senyawa.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada uji cakram adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah suhu pengeringan kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* (30°C, 40°C, dan 50°C). Faktor kedua adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* (5000 ppm, 10.000 ppm dan 20.000 ppm), antibiotik *streptomycin* 100 ppm (kontrol +) dan DMSO 1% (kontrol -). Pengamatan dilakukan terhadap zona hambat bakteri yang terbentuk dari setiap perlakuan. Rumus model linier untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor yang digunakan adalah:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = Hasil pengamatan faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j, pada ulangan ke - k

μ = Rataan umum

α_i = Pengaruh faktor A pada taraf ke-i

β_j = Pengaruh faktor B pada taraf ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi antara A dan B pada faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j

ϵ_{ijk} = Galat percobaan untuk faktor A taraf ke-i, faktor B level ke-j pada ulangan ke - k

Denah rancangan data pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Denah rancangan data pengamatan

Perlakuan		Ulangan			Total (Yij)
Faktor A (i) Suhu (°C)	Faktor B (j) Konsentrasi (ppm)	I	II	III	
30	(a) 5.000	1a1	1a2	1a3	Y1a
	(b) 10.000	1b1	1b2	1b3	Y1b
	(c) 20.000	1c1	1c2	1c3	Y1c
40	(a) 5.000	2a1	2a2	2a3	Y2a
	(b) 10.000	2b1	2b2	2b3	Y2b
	(c) 20.000	2c1	2c2	2c3	Y2c
50	(a) 5.000	3a1	3a2	3a3	Y3a
	(b) 10.000	3b1	3b2	3b3	Y3b
	(c) 20.000	3c1	3b2	3c3	Y3c

3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah suhu pengeringan kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* dan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*. Sedangkan variabel terikat dari penelitian ini adalah perbedaan luas daerah hambatan antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*, yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan millimeter.

Variabel bebas merupakan variabel yang menentukan variabel lain. Variabel bebas juga dapat diartikan sebagai suatu yang dimanupulasi oleh peneliti sehingga menimbulkan dampak pada variabel terikat. Variabel terikat yaitu variabel yang ditentukan oleh variabel lain. Dengan kata lain variabel terikat merupakan faktor yang diamati dan diukur untuk menentukan ada tidaknya pengaruh dari variabel bebas (Nursalam, 2008).

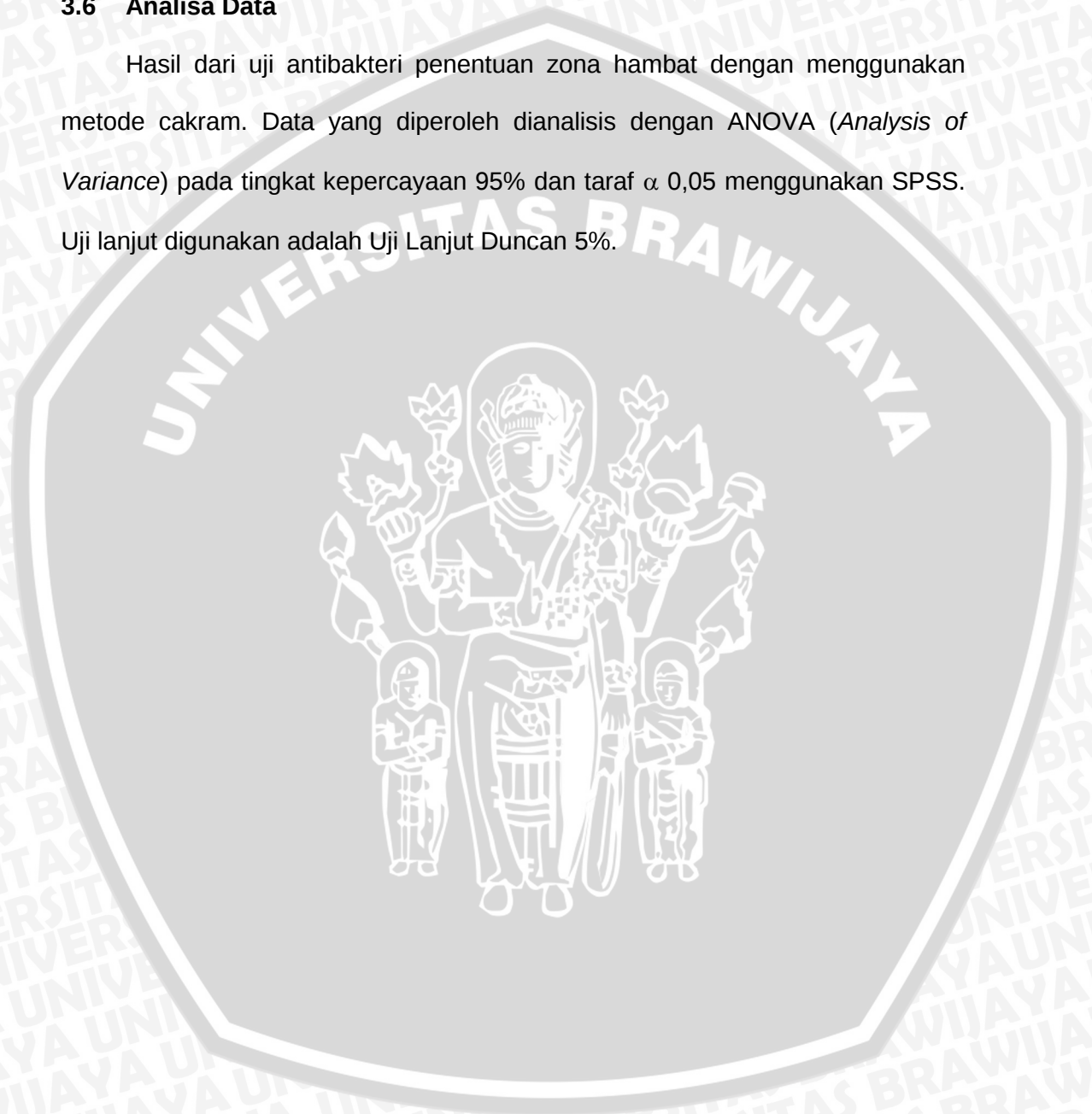
3.5 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan dalam penelitian utama yaitu penentuan daya hambat kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* terbaik dilakukan mengukur diameter (mm) areal bening di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong atau penggaris. Terbentuknya zona bening menunjukkan adanya aktivitas

antibakteri dari tiap sampel uji. Selanjutnya dilakukan pengujian MIC dan MBC serta uji toksisitas untuk memperoleh informasi mengenai konsentrasi minimum ekstrak yang bersifat bakteriostatik atau bakterisidal, serta potensi toksisitasnya.

3.6 Analisa Data

Hasil dari uji antibakteri penentuan zona hambat dengan menggunakan metode cakram. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf α 0,05 menggunakan SPSS. Uji lanjut digunakan adalah Uji Lanjut Duncan 5%.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

Tahap penelitian pendahuluan yaitu: (1) uji kadar air sampel segar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) untuk mengetahui kandungan air yang terdapat pada sampel kulit batang segar.

4.1.1 Uji Kadar Air

Hasil uji kadar air yang dilakukan terhadap kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) segar yaitu sebesar 62%. Sedangkan menurut hasil penelitian yang dilakukan Dia *et al.* (2015) kadar air yang terdapat pada sampel segar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) sebesar 47,12%. Kadar air sampel kulit batang hasil penelitian lebih besar jika dibandingkan dengan kadar air kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) hasil penelitian Dia *et al.* (2015). Hasil tersebut memperlihatkan bahwa sampel penelitian yang digunakan masih sangat segar.

4.2 Penelitian Utama

4.2.1 Pengeringan Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dilakukan dengan menggunakan oven vakum dengan suhu 30°C, 40°C, 50°C dengan masing-masing seberat 1 kg. Kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) segar setelah dikeringkan dengan suhu 50°C memiliki berat konstan 538,78 g dan kadar air sebanyak 13%, pada pengeringan dengan suhu 40°C memiliki berat konstan 514,03 g dan kadar air sebanyak 14%, dan pada pengeringan dengan suhu 30°C memiliki berat konstan 554,76 g dan kadar air sebanyak 14%. Waktu yang diperlukan hingga tercapai kadar air konstan berkisar antara 18-26 jam.

Pada penggunaan suhu 50°C, pengeringan kulit batang lindur hingga diperoleh kadar air konstan memerlukan waktu pengeringan paling cepat, yaitu 18 jam, penggunaan suhu 40°C memerlukan waktu 20 jam sedangkan penggunaan suhu 30°C memerlukan waktu paling lambat, yaitu 26 jam. Semakin meningkat suhu yang digunakan semakin cepat penguapan yang terjadi sehingga mengakibatkan kadar air bahan juga berkurang. Menurut Sulistyawati *et al.* (2012), penggunaan suhu yang semakin meningkat mengakibatkan air terikat atau air bebas dalam bahan lebih cepat keluar atau menguap. Data ini didukung oleh penelitian Aviara dan Ajibola (2001) bahwa peningkatan suhu pengeringan akan diikuti dengan penurunan kadar air pada biji maupun umbi yang semakin cepat akibat penguapan air dalam bahan yang semakin cepat pula. Ditambahkan oleh Hariyadi (2011), penurunan kadar air dari bahan berbanding lurus dengan peningkatan suhu pengeringan karena semakin tinggi suhu yang digunakan akan menyebabkan perambatan panas pada bahan semakin cepat sehingga air dalam bahan cepat menguap.

Nilai rendemen untuk kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* pada pengeringan suhu 50°C selama 18 jam adalah 53,878%, pada pengeringan dengan suhu 40°C selama 20 jam adalah 51,403%, dan untuk pengeringan dengan suhu 30°C selama 26 jam adalah 55,476%. Karena mengalami proses pengeringan sehingga kadar air dalam bahan menguap yang akan berpengaruh terhadap nilai rendemen kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*. Menurut Winarno (2002), dengan adanya proses pengeringan menyebabkan kandungan air dalam bahan pangan selama proses pengolahan berkurang sehingga mengakibatkan penurunan kadar rendemen suatu bahan pangan. Tabel 2 menunjukkan kadar air dan rendemen kulit batang lindur pada masing-masing suhu.

Tabel 2. Kadar Air, Lama Waktu Pengeringan dan Rendemen Kulit Batang Lindur

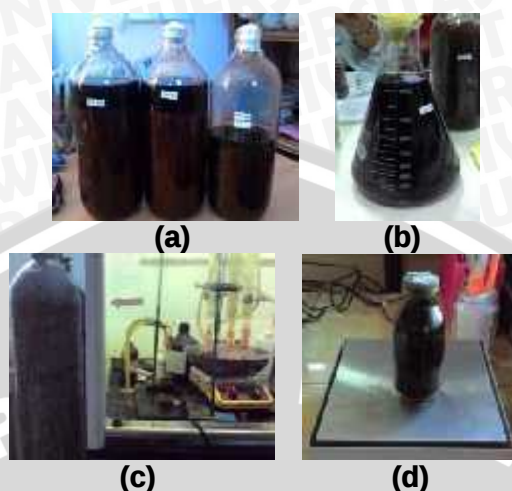
Perlakuan Pengeringan	Lama Waktu Pengeringan	Kadar Air	Berat Setelah dioven	Rendemen
Suhu 50°C	18 jam	13%	538,78 g	53,878%
Suhu 40°C	20 jam	14%	514,03 g	51,403%
Suhu 30°C	26 jam	14%	554,76 g	55,476%

4.2.2 Ekstraksi

Kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) setelah dioven diambil masing-masing sebanyak 500 g. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi tunggal. Maserasi dilakukan dengan merendam 500 g kulit batang lindur dalam pelarut metanol (1:4 b/v) selama 2 x 24 jam. Metode Penyarian sampel dilakukan dengan cara maserasi karena maserasi merupakan metode ekstraksi yang pengerjaannya dan alat-alat yang digunakan sederhana. Pemilihan cara maserasi juga bertujuan untuk menghindari terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel oleh pemanasan (Handayani *et al.*, 2005). Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Astarina *et al.*, 2013).

Setelah proses maserasi, dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtrat. Filtrat hasil maserasi yang diperoleh berwarna hijau keruh kehitaman yang dapat dilihat pada Gambar 5. Filtrat kemudian dibebaskan dari pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan 85-100 rpm. Agar seluruh pelarut hilang, hasil pemekatan menggunakan *rotary evaporator* vakum kemudian diberi gas nitrogen (Gambar 5). Diperoleh ekstrak kasar berwarna coklat gelap dan berbau seperti aroma teh (Gambar 5). Berat akhir ekstrak kasar pada suhu 50°C sebesar 18,07 g sehingga diperoleh % rendemen sebesar 3%, pada suhu 40°C sebesar 10,17 g

sehingga diperoleh % rendemen sebesar 2%, dan pada suhu 30°C sebesar 3,14 g sehingga diperoleh % rendemen sebesar 0,5% (Lampiran 2).



Gambar 5. Ekstraksi Kulit Batang lindur : a.) proses maserasi, b.) filtrat hasil maserasi, c.) perlakuan nitrogen, dan d.) ekstrak kasar

4.2.3 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Lindur

Pengujian fitokimia merupakan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder yang diduga terkandung didalam kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*). Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, dan saponin.

Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) (Gambar 6). Senyawa-senyawa yang terdeteksi pada masing-masing ekstrak kasar suhu 30°C, 40°C, 50°C antara lain flavonoid dan tanin, sedangkan senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, dan saponin tidak terdeteksi (Tabel 3). Hasil uji fitokimia pada masing-masing suhu menunjukkan hasil yang sama, hal tersebut dapat disimpulkan bahwa suhu pengeringan 30°C, 40°C, 50°C tidak mempengaruhi kandungan fitokimia dalam ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*). Hasil ini sesuai dengan penelitian Dia *et al.* (2015), yang menunjukkan bahwa kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) positif

mengandung flavonoid dan tanin. Penelitian Nurjanah *et al.* (2015), juga menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang terdeteksi dari ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yaitu flavonoid. Menurut Astarina *et al.* (2013), flavonoid dan tanin merupakan bagian dari senyawa fenolik. Flavonoid yang memiliki gugus hidroksi berkedudukan orto akan memberikan fluoresensi kuning intensif pada UV 366, jika bereaksi dengan asam borat. Flavonoid mempunyai tipe yang beragam dan terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida. Aglikon polimetoksi bersifat non polar, aglikon polihidroksi bersifat semi polar, sedangkan glikosida flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula. Oleh karena itu golongan flavonoid dapat tertarik dalam pelarut metanol yang bersifat universal. Tanin ditunjukkan dari adanya perubahan warna setelah penambahan FeCl_3 yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin. Penambahan FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi.

Hasil uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Menurut Parubak (2013), Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responsnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme. Ditambahkan oleh Retnowati *et al.* (2011), Senyawa flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan dapat merusak membran sitoplasma. Dan tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Menurut Ngajow *et al.*, (2013), mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase yang menyebabkan tidak terbentuknya sel bakteri. Selain itu tanin

juga mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga merusak polipeptida dinding sel bakteri sehingga sel bakteri tidak terbentuk sempurna. Hal tersebut menyebabkan sel bakteri lisis karena adanya tekanan osmotik dan fisik sehingga sel bakteri mati.

Tabel 3. Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang *Bruguiera gymnorrhiza*

Suhu Pengeringan Simplisia	Parameter Uji	Hasil	Reaksi	Kode Gambar
30°C	Alkaloid	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan	a1
	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning	b1
	Steroid	-	Tidak terjadi perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau	c1
	Terpenoid	-	Tidak terbentuk warna merah kecoklatan	d1
	Tanin	+	Terbentuk warna hitam	e1
	Saponin	-	Tidak terbentuk busa	f1
40°C	Alkaloid	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan	a2
	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning	b2
	Steroid	-	Tidak terjadi perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau	c2
	Terpenoid	-	Tidak terbentuk warna merah kecoklatan	d2
	Tanin	+	Terbentuk warna hitam	e2
	Saponin	-	Tidak terbentuk busa	f2
50°C	Alkaloid	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan	a3
	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning	b3
	Steroid	-	Tidak terjadi perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau	c3
	Terpenoid	-	Tidak terbentuk warna merah kecoklatan	d3
	Tanin	+	Terbentuk warna hitam	e3
	Saponin	-	Tidak terbentuk busa	f3



Gambar 6. Uji Fitokimia Kulit Batang Lindur : a.) Alkaloid, b.) Flavonoid, c.) Saponin, d.) Steroid, e.) Tanin, dan f.) Terpenoid

4.2.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kulit Batang lindur Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) karena metode ini paling umum digunakan untuk menetapkan kerentanan mikroorganisme terhadap antibakteri. Menurut Lay (1994), metode Kirby – Bauer merupakan metode pengujian dengan menggunakan kertas cakram yang diletakkan diatas media yang telah disemai mikroorganisme. Indikator penghambatan pertumbuhan adalah dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah suhu pengeringan dan konsentrasi yang dibuat bervariasi dengan perbandingan kontrol positif antibiotik *streptomycin* dan kontrol

negatif DMSO 1%. Hasil pengamatan daya hambat kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 8

Rerata diameter zona hambat dan hasil uji lanjut duncan 5% pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata diameter zona hambat terhadap *Salmonella typhi*, serta hasil uji lanjut duncan 5%

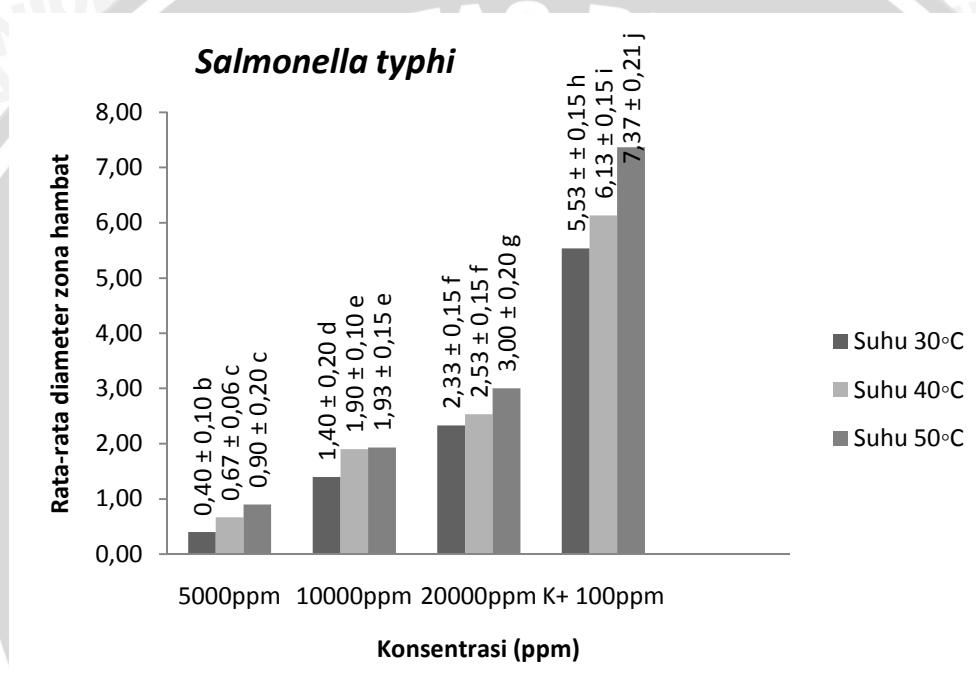
Suhu Pengeringan (°C)	Konsentrasi (ppm)	Rerata diameter zona hambat (mm) <i>Salmonella typhi</i>
30	5000	0,40 ± 0,10 ^b
	10000	1,40 ± 0,20 ^d
	20000	2,33 ± 0,15 ^f
	Kontrol +	5,53 ± 0,15 ^h
	Kontrol -	0,00 ± 0,00 ^a
40	5000	0,67 ± 0,06 ^c
	10000	1,90 ± 0,10 ^e
	20000	2,53 ± 0,15 ^f
	Kontrol +	6,13 ± 0,15 ⁱ
	Kontrol -	0,00 ± 0,00 ^a
50	5000	0,90 ± 0,20 ^c
	10000	1,93 ± 0,15 ^e
	20000	3,00 ± 0,20 ^g
	Kontrol +	7,37 ± 0,21 ^j
	Kontrol -	0,00 ± 0,00 ^a

Keterangan : perlakuan yang memiliki notasi sama menandakan tidak berbeda nyata, perlakuan yang memiliki notasi berbeda menandakan berbeda nyata.

Dari hasil uji ANOVA diameter zona hambat *Salmonella typhi* (Lampiran 6) menunjukkan bahwa antara perlakuan suhu pengeringan dan konsentrasi diperoleh nilai F hitung interaksi (19,126) > F tabel 5% (2,27) dan probabilitas (0,000) < 0,05. Hal tersebut membuktikan bahwa interaksi antara perlakuan suhu pengeringan dan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang lindur sangat berbeda nyata. Dapat disimpulkan bahwa suhu pengeringan 30°C, 40°C, 50°C kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dan penggunaan konsentrasi bertingkat 5000 ppm, 10000 ppm, 20000 ppm memberikan pengaruh yang signifikan.

Untuk menentukan perlakuan kombinasi yang terbaik terhadap bakteri *Salmonella typhi* diperlukan uji lanjut. Uji lanjut yang dilakukan adalah Uji Lanjut

Duncan 5%. Hasil uji lanjut duncan 5% terhadap *Salmonella typhi* (Tabel 4) menunjukkan perlakuan kombinasi terbaik adalah penggunaan suhu pengeringan 50°C dengan konsentrasi 20.000 ppm. Hal tersebut ditunjukkan dengan notasi pada suhu pengeringan 50°C dengan konsentrasi 20.000 ppm berbeda dari semua perlakuan. Histogram rerata hasil zona hambat dan hasil uji lanjut duncan 5% ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Histogram Rerata Hasil Zona Hambat dan Hasil Uji duncan 5% ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* terhadap *Salmonella typhi*

Berdasarkan Gambar 7. menunjukkan ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dengan variasi suhu pengeringan memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Salmonella typhi*. Penggunaan suhu pengeringan kulit batang lindur 50°C memiliki diameter zona hambat paling tinggi terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Rerata diameter zona hambat sekitar 0,90 mm – 3,00 mm pada konsentrasi 5000 – 20000 ppm. Hal tersebut membuktikan bahwa suhu pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera*

gymnorhiza) 50°C efektif dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*. Sampel kulit batang lindur yang dikeringkan dengan suhu 50°C efektif menghambat bakteri kemungkinan disebabkan karena penggunaan suhu pengeringan tersebut merupakan suhu yang ideal untuk mengeringkan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) sehingga tidak merusak senyawa-senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Indartiyah *et al.* (2011), bahwa suhu ideal untuk pengeringan kulit batang dengan menggunakan oven adalah 50°C. Menurut hasil penelitian Mphahlele *et al.*, (2016), menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada penggunaan suhu pengeringan oven 50°C. Menurut Kencanawati (1993), efektifitas senyawa antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain (1) konsentrasi senyawa antibakteri, (2) jenis, jumlah, umur dan latar belakang kehidupan bakteri, (3) suhu, (4) waktu, (5) sifat fisik dan kimia substrat, seperti pH, susut pengeringan, jenis dan jumlah zat yang terlarut. Menurut hasil penelitian Widyasari (2000), proses pengeringan pada rimpang temulawak kemungkinan menyebabkan terjadinya proses kimia seperti hidrolisis dan oksidasi. Hal ini menyebabkan didalam ekstrak terjadinya perubahan komponen kimia temulawak yang akan mempengaruhi sifat antibakteri yang dimunculkan. Ditambahkan Pelczar dan Chan (1988), kenaikan suhu yang sedang dapat meningkatkan efektifitas bahan antimikroba. Hal tersebut dipengaruhi oleh zat kimia merusak mikroorganisme melalui reaksi – reaksi kimia, dan laju reaksi kimia lebih cepat dengan meningkatnya suhu.

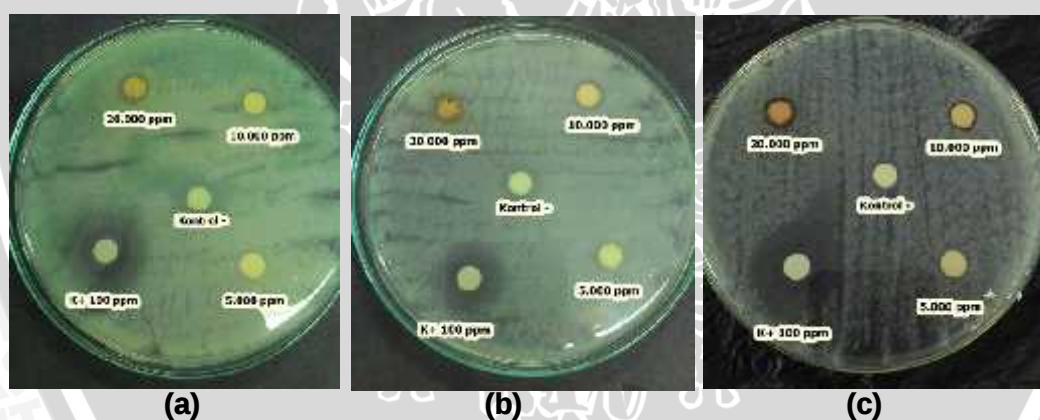
Penggunaan konsentrasi bertingkat juga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan Gambar 9 ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* adalah konsentrasi 20.000 ppm. Rerata

diameter zona hambat terhadap *Salmonella typhi* yang terbentuk sekitar 2,33 – 3,00 mm pada suhu pengeringan 30°C - 50°C. Konsentrasi 20.000 ppm merupakan konsentrasi yang tertinggi sehingga lebih efektif dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*. Berdasarkan Gambar 8 juga menunjukkan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar. Menurut hasil penelitian Poeloengan *et al.*, (2007), semakin besar konsentrasi ekstrak (50%), makin besar pula daya hambat yang ditimbulkan, pada konsentrasi yang lebih besar makin banyak zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak. Berdasarkan analisis statistik non parametrik dengan metode Kruskal Wallis, menunjukkan adanya perbedaan nyata antara konsentrasi ekstrak etanol kulit batang bungur konsentrasi 50; 25; 12,5; 6,25 % dan Tetrasiklin 30 µg/disk sebagai pembanding ($P < 0,05$). Ditambahkan Pelczar dan Chan (1988), konsentrasi zat antimikrobia yang lebih tinggi dapat lebih cepat membunuh sel – sel mikroorganisme. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka akan semakin banyak mikroorganisme yang mati.

Ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) mampu menghambat bakteri *Salmonella typhi* tersebut kemungkinan disebabkan oleh kandungan flavonoid dan tanin yang terdapat pada sampel kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). Menurut Retnowati *et al.*, (2011), Senyawa flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan dapat merusak membran sitoplasma. Dan tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Menurut Ngajow *et al.*, (2013), mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase yang menyebabkan tidak terbentuknya sel bakteri. Selain itu tanin juga mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga merusak polipeptida dinding sel bakteri

sehingga sel bakteri tidak terbentuk sempurna. Hal tersebut menyebabkan sel bakteri lisis karena adanya tekanan osmotik dan fisik sehingga sel bakteri mati.

Kontrol + menunjukkan bahwa diameter zona hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* lebih tinggi daripada diameter zona hambat masing-masing konsentrasi ekstrak yang diberikan, dimana kontrol + yang digunakan dalam penelitian adalah streptomycin dengan konsentrasi 100 ppm. Rerata zona hambat terhadap *Salmonella typhi* 5,53 – 7,73 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa streptomycin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Menurut Najibah et al. (2014), streptomisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida, antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat sintesis protein. Streptomisin memiliki peran yang sangat penting dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif (*Salmonella thypi*). Hasil pengamatan daya hambat suhu 30°C, 40°C, 50°C dapat dilihat pada Gambar 8.

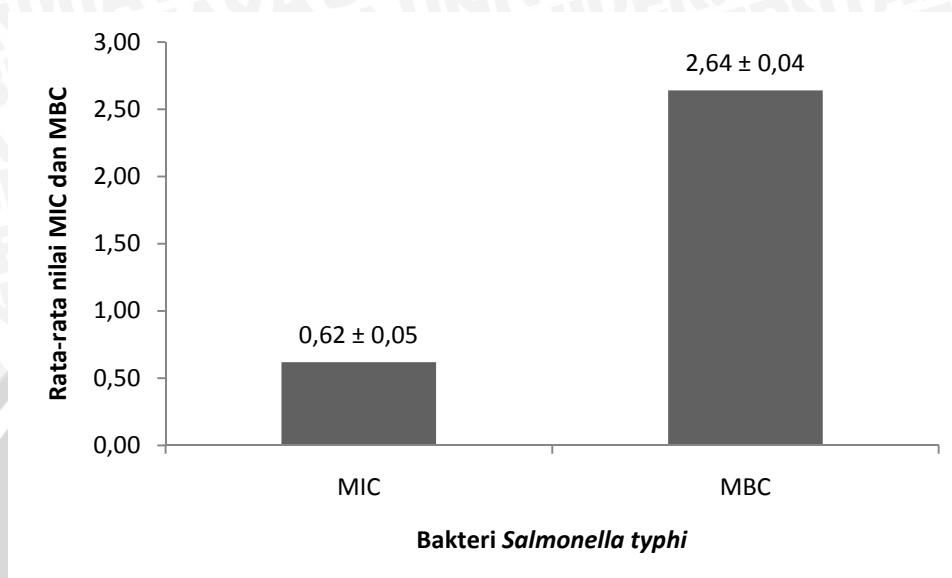


Gambar 8. (a) Pengamatan daya hambat suhu 30°C, (b) Pengamatan daya hambat suhu 40°C, (c) Pengamatan daya hambat suhu 50°C

4.2.5 Hasil Uji MIC dan MBC

Hasil uji antibakteri pada penelitian ini diperoleh suhu pengeringan terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yaitu suhu 50°C dengan konsentrasi 20.000 ppm. Berdasarkan hasil tersebut maka dilanjutkan dengan pengujian MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*) untuk mengetahui konsentrasi terendah kulit batang

lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) untuk menghambat dan membunuh bakteri *Salmonella typhi*. Nilai MIC dan MBC terhadap bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Nilai MIC dan MBC ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Gambar 9. Menunjukkan bahwa rerata nilai MIC ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* adalah 0,62 ppm dan nilai MBC sebesar 2,64 ppm. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian uji MIC dan MBC ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang dilakukan Budi (2016), terhadap bakteri *Bacillus cereus* menunjukkan nilai MIC sebesar 0,67 ppm dan nilai MBC 2,68 ppm yang berarti nilai MIC dan MBC dari bakteri *Salmonella typhi* lebih kecil dari pada nilai MIC dan MBC bakteri *Bacillus cereus*. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena diameter zona hambat pada uji daya hambat *Salmonella typhi* lebih kecil dibandingkan dengan *Bacillus cereus*. Perbedaan jenis dan karakter dari masing-masing bakteri menyebabkan kemampuan ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) berdifusi pada bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri gram negatif lebih sedikit bila dibandingkan dengan bakteri *Bacillus*

cereus. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan gram negatif memiliki membran luar yang menghalangi masuknya zat beracun ke dalam bakteri. 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.

4.2.7 Uji Toksisitas

Uji toksisitas nilai LC_{50} ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) digunakan untuk mengetahui senyawa bioaktif bersifat toksik atau tidak toksik dengan menggunakan *Artemia salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Menurut Prasetyorini *et al.* (2011), metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah metode menguji aktivitas suatu senyawa menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* Leach. Metoda ini telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morfin, mikotoksin, karsinogenesitas suatu senyawa. Ditambahkan Anggraeni dan Erwin (2015), Metode BSLT dipilih dengan berbagai alasan. Alasan pertama, metode ini merupakan metode penapisan farmakologi awal yang mudah dan relative tidak mahal. Kedua, metode ini merupakan metode yang telah teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa di dalam ekstrak kasar. Larva udang memiliki kulit yang tipis dan peka terhadap lingkungannya. Zat atau senyawa asing yang ada di lingkungannya akan terserap kedalam tubuh dengan cara difusi dan langsung mempengaruhi kehidupan larva udag tersebut. Larva udang yang sensitif ini akan mati apabila

zat atau senyawa asing tersebut bersifat toksik. Hasil uji toksisitas nilai LC_{50} dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Toksisitas Nilai LC_{50}

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva <i>Artemia salina</i> Leach mati (ekor)		% Mortalitas		Rerata LC_{50} (ppm)
	I	II	I	II	
2500	3	2	30	20	7268,25
1250	1	2	10	20	
625	1	1	10	10	
312,5	1	1	10	10	
0	0	0	0	0	
LC_{50} (ppm)			6404,74	8131,76	

Hasil pengamatan pada Tabel 5 dan perhitungan hasil uji toksisitas pada penelitian ini (Lampiran 7) menunjukkan nilai LC_{50} ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) 7268,25 ppm. Nilai LC_{50} tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) tidak bersifat toksik. Berdasarkan hasil penelitian Melki *et al.* (2011) yang menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak batang *Sonneratia alba* tidak toksik dengan nilai LC_{50} 6714,288 ppm. Menurut Prasetyorini *et al.* (2011), menyebutkan bahwa ekstrak dengan $LC_{50} \leq 30$ ppm tergolong kategori sangat toksik, sedangkan $31 \text{ ppm} < LC_{50} \leq 1000$ ppm tergolong kategori toksik. Ditambahkan Chasani *et al.* (2013), toksisitas ekstrak bahan ditentukan dengan nilai LC_{50} , jika nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm, ekstrak bahan tersebut bersifat toksik dan sebaliknya apabila nilai LC_{50} lebih besar dari 1000 ppm, ekstrak bahan tidak bersifat toksik.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil analisa uji aktivitas antibakteri dari penelitian ini menunjukkan bahwa suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri *Salmonella typhi*. Suhu pengeringan tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* adalah suhu 50°C. Konsentrasi 20.000 ppm merupakan konsentrasi tertinggi ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Perlakuan kombinasi yang terbaik untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi* adalah pada suhu pengeringan 50°C dengan konsentrasi 20.000 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan pada penelitian selanjutnya perlu adanya pemurnian dari ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) untuk mengetahui komposisi spesifik senyawa bioaktif yang terkandung dalam kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksara, R.,Weny, J.A.M.,dan La Alio. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L). *Jurnal Entropi*. Vol VIII (1): 1-6
- Allen, J.A and Duke, N.C. 2006. *Bruguiera gymnorrhiza* (large-leafed mangrove). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. *Traditional Tree Initiative*: 1-15
- Andrews, J. M. (2001). Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*. 48 (suppl 1): 5-16
- Anggraeni S. D dan Erwin. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris*). Prosiding Seminar Tugas Akhir FMIPA UNMUL. ISBN: 978-602-72658-0-6
- Anwar, C dan Hendra, G. 2007. Peranan Ekologis dan Sosial ekonomis Hutan Mangrove Dalam Mendukung Pembangunan Wilayah Pesisir. Prosiding Ekspose Hasil-Hasil Penelitian: 1-12
- Apriyanto, H., Esti, H., Agus, S., dan Tarsim. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Buah *Rhizophora* sp. Sebagai Anti Bakteri Terhadap Bakteri Patogen Ikan Air Tawar. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. Vol 3 (1): 289-296
- Astarina, N.W.G., Astuti, K.W., dan Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). FMIPA. Universitas Udayana
- Aviara NA and Ajibola OO. 2001. Thermodynamics of Moisture Sorption in Melon Seed and Cassava. *Journal of Food Engineering*55 :107–113.
- Bayu, A. 2009. Hutan Mangrove Sebagai Salah Satu Sumber Produk Alam Laut Oseana. Vol 34(2): 15-23.
- BPOM (Badan Pengawasan Obat dan Makanan). 2012. Acuan Sediaan Herbal Volume Kelima. Direktorat Obat Asli Indonesia. Diakses tanggal 13 April 2016. Hlm. Vi
- Budi, D.I. 2016. Pengaruh Perbedaan Suhu Pengeringan dan Konsentrasi Ekstrak Kasar Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. FPIK. Universitas Brawijaya Malang
- Chasani, M., R.B. Fitriaji, Purwati.2013. Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Batang Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.) dan Uji Toksisitasnya dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Molekul*. Vol 8(1): 89-100.
- Cita, Y.P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol 6 (1): 42-46

- Danarto, Y.C., Stefanus, A.P dan Zery, A.P. 2011. Pemanfaatan Tanin dari Kulit Kayu Bakau sebagai Pengganti Gugus Fenol Pada Resin Fenol Formaldehid. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan". 252-256
- Darmawati, S dan Dewi, S.S. 2008. Efek Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*, L) Terhadap Zona Hambat Pertumbuhan *Salmonella typhi* Penyebab Salmonellosis. Vol 1(1): 1-6
- Dia, S.P.R., Nurjanah dan Agoes, M.J. 2015. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 18 (2): 205-219
- Fadlila, W. NN., Kiki, M.Y., dan Livia, S. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi Klt terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta* (L.) Schott). Prosiding Penelitian SPeSIA. ISSN 2460-6472: 583-590
- Fataruba. 2010. Penelitian Eksperimen. <http://taliabupomai.blogspot.com/2010/11/metode-penelitian-eksperimen.html>. diakses tanggal 24 Maret 2016.
- Fitoni, C.N., Mahanani, T.A., dan M. Thamrin, H. 2013. Pengaruh Pemanasan Filtrat Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Pertumbuhan Koloni Bakteri Coliform Secara *In Vitro*. *LenteraBio*. Vol 2 (3): 217-221
- Ganiswara. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi IV*. UI. Jakarta
- Hagerman A.E. 2002. *Tannin Chemistry*. Departement Chemistry and Biochemistry. Miami University. Oxford, USA.
- Handayani, D., M. Deapati, Marlina, Meilan. 2005. Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut dari Perairan Pantai Painan, Sumatera Barat. Artikel Penelitian. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas Madang, Sumatera Barat. Hlm. 1- 4
- Hanna., E, T., dan Hana, R. 2005. Pengaruh pH Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* In Vitro. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol 5 (1): 1-7
- Haq, M., W. Sani, A.B.M.S. Hossain, R. M. Taha dan K.M. Monneruzzaman. 2011. Total Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Bruguiera gymnorrhiza*. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol 5(17) : 4112 - 4119
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Padmawinata dan I Sudiro. Bandung: ITB
- Hariyadi P. 2011. *Pengeringan (Drying)/Dehidrasi (Dehydration)*. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fateta, IPB. Bogor.
- Hingkua, S.S., Euis, J., dan Dikdik, K. 2013. Senyawa Triterpenoid dari Batang Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* yang Beraktivitas Anti Bakteri. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir. 226-230

- Imawati, N. 2013. Formulasi dan Uji Sifat Fisik Krim Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*(Scheff) Boerl) Dengan Basis Minyak Zaitun dan Minyak Wijen. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- 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. Jakarta : Direktorat Budidaya dan Pascapanen Sayuran dan Tanaman Obat
- Jacoeb, A.M., Pipih, S., dan Zahidah. 2013. Komposisi Kimia, Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Buah Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). *Jurnal Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 16 (1): 86-94
- Jafari, B., Amirreza E., Babak M. A. and Zarifeh H. 2012. Antibacteria Activities of Lemon Grass Methanol Extract and Essence and Pathogenic Bacteria. *American-Eurasian J. Agric and Environ. sci.*, 12 (8) : 1042 – 1046
- Juniarti, D. Osmeli, dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl*) Dari Ekstrak kasar daun Saga (*Abrus precatorius L.*). *Makara Sains* 13(1): 50-54. Universitas YARSI. Jakarta.
- Juwitaningsih, T., Yana, M.S., dan Lia, D.J. 2014. Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak *Alpina malaccensis* (Burm.f.) Rob. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. ISBN: 979363174-0
- Kencanawati, N. 1993. Ekstraksi Senyawa Aktif Dari Famili *Euphorbiaceae* Serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA IPB. Bogor
- Krisnata, A.B., Yoifah, R., dan Dian, M. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove (*Avicennia marina*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed periodontopatogen*. *Jurnal Kedokteran Gigi*. Vol 8 (1) : 11-22
- Kusmiyati dan Agustini, N.W.S. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *BIODIVERSITAS*. Vol 8 (1): 48-53
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta : PT. RajaGrafindo Persada
- Legowo, A.M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. *Buku Ajar: Analisis Pangan*. Universitas Diponegoro. Semarang. 58 hlm.
- Mamonto, S., Wenny, J.A.M., dan Mardjan, P. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Daun Keji Beling. FMIPA. Universitas Negeri Gorontalo
- Melki, D. Soedharma, H. Effendi, A.Z. Mustopa. 2011. Biopotensi Tumbuhan Mangrove untuk Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Udang Windu. *Jurnal Maspari*. 02: 39-47
- Mphahlele, R.R., O. A. Fawole, N. P. Makunga dan U. L. Opara. 2016. Effect of Drying on the Bioactive Compounds, Antioxidant, Antibacterial and

Antityrosinase Activities of Pomegranate Peel. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 16:143

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol 7 (2): 361-367

Mulyani, Y., Eri, B., dan Untung, K.A. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*. Vol 4 (1): 1-9

Mutho, M.I. 2011. Terpen Terpena. <http://zeubio.blogspot.co.id/2011/04/terpen-terpena-merupakan-lipida-yang.html>. diakses tanggal 22 Oktober 2016

Nabila, N. 2011. Pengaruh Pemberian Metanol dan Etanol terhadap Tingkat Kerusakan Sel Hepar Tikus Wistar. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro

Najibah, Z. 2014. Potensi Antibakteri Kombinasi Streptomisin dan Amoksilin Dengan Minyak Atsiri Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Salmonella typhi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta

Nattadiputra, S dan Munaf, S. 2009. *Aminoglikosida dan Beberapa Antibiotika Khusus*. Kumpulan Kuliah Farmakologi. 631, Jakarta, EGC.

Ngajow, M., Jemmy, M., dan Vanda, S.K. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT ONLINE*. Vol 2(2): 128-132

Nisa', L.C., Sri, P.A.W., dan Saikhu, A.H. 2012. Uji Toksisitas Subkronik Polisakarida Krestin dari Ekstrak *Coriolus versicolor* Terhadap Kadar Kreatinin *Mus musculus*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga

Nugrahaningtyas, K.D., Sabirin, M dan Tutik, D.W. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). *Biofarmasi*. Vol 3 (1): 32-38

Nurdiani, R., M. Firdaus., and A. A Prihanto. 2012. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Methanol Extract of Mangrove Plant (*Rhizophora mucronata*) from Porong River. *Journal Basic Science and Technology*. Vol 1 (2): 27-29

Nurjanah, N., A. M. Jacob, T. Hidayat, A. Shyline. 2015. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Lindur Stem Bark (*Bruguiera gymnorrhiza*). *International Journal of Plant Science and Ecology*. Vol 1(5): 182-189

Nursalam. 2008. *Konsep dan Penerapan Metodologi Penelitian Ilmu Keperawatan*. Jakarta: Salemba Medika

- 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*. Vol 2(1) : 29 - 40
- Parubak, A. S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri Dari Akway (*Drimys beccariana*. Gibbs). *Chem. Prog*. Vol 6 (1): 34-37
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Jakarta: UI Press
- PERMENKES. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. No.874, 2011
- Poeloengan, M.,Andriani., Susan M.M., Iyep K., dan Mirza H. 2007. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstoremia speciosa Pers*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 776-782
- Pramana, M.R.A dan Chaerul, S. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid Pada Fraksi N-Heksana dari Daun Kukang (*Lepisanthes amoena* (HASSK.) LEENH.). *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol 10(2): 85-89
- Prasetyaningrum, A. 2010. Rancang Bangun Oven Drying Vacuum dan Aplikasinya Sebagai Alat Pengering Pada Suhu Rendah. *Riptek*. Vol 4 (1): 45-53
- Prasetyorini., Ike Y.W., dan Anisa B.P. 2011. Toksisitas Beberapa Ekstrak Rimpang Cabang Temulawak (*Curcumanthorrhiza Roxb.*) Pada Larva Udang (*Artemiasalina Leach*). *Fitofarmaka*. Vol. 1 (2): 14-21
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 154, 158, Jakarta, Erlangga Medikal Series.
- Prihanto, A. A., M. Firdaus., dan R. Nurdini. 2011. Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) dari Muara Sungai Porong. *Journal of Biological*. 17: 69-72
- Retnowati, Y., Nurhayati, B., dan Nona, W.P. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*. Vol 6 (2): 1-9
- Rinawati, D.W. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete L.*) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam. ITS. Surabaya
- Risnafiani, A.R., Endah, R dan Hilda, A. 2015. Karakterisasi Daun Buncis (*Phaseolus Vulgaris L.*) dan Identifikasi Kandungan Senyawa Steroid dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Prosiding Penelitian SPeSIA. ISSN 2460-6472
- Santoso, V.P.,Jimmy, P.,Henoch, A.,dan Robert, B. 2015. Uji Efek Antibakteri Daun Mangrove *Rhizophora apiculata* Terhadap Bakteri *Pseudomonas*

airuginosa dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. Vol 3 (1): 399-405

Saprudin dan Halidah. 2012. Potensi dan Nilai Manfaat Jasa Lingkungan Hutan Mangrove Di Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. Vol 9 (3): 213-219

Sartika, S.B. 2012. Pengaruh Penerapan Metode Eksperimen Sebagai Implementasi Kurikulum Tingkat Satuan Pendidikan (KTSP) Terhadap Prestasi Belajar Siswa. *PEDAGOGIA*. Vol. 1 (2): 189-211

Senjaya, Y. A dan Surakusumah, W. 2010. Potensi Ekstrak Daun Pinus (*Pinus merkusii* Jungh. Et de Vriese) Sebagai Bioherbisida Penghambat Perkecambahan *Echinochloa colonum* L. dan *Amaranthus viridis*. 1-9

Setyawan A. D., Dan K. Winarno. 2006. Pemanfaatan Langsung Ekosistem Mangrove Di Jawa Tengah Dan Penggunaan Lahan Di Sekitarnya; Kerusakan Dan Upaya Restorasinya. *Biodiversitas*. Vol 7(3): 1-10.

Soeroyo. 1992. *Sifat, Fungsi dan Peranan Hutan Mangrove*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI. Jakarta

Sudarmadji. 2004. Deskripsi Jenis-Jenis Anggota Suku *Rhizoporaceae* di Hutan Mangrove Taman Nasional Baluran Jawa Timur. *BIODIVERSITAS* Vol 5 (2): 66-70

Sudigdoadi, S. 2015. Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik Pada Infeksi Bakteri. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung. 1-14

Sulistiyawati.,Wignyanto.,dan Sri, K. 2012. Produksi Tepung Buah Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza* Lamk.) Rendah Tanin dan HCN Sebagai Bahan Pangan Alternatif. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 13 (3): 187-198

Tarman, K., Sri, P., dan Anak, A.A.P.P.N. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 16 (3): 249-258

Untoro, N.S., Kusrahayu dan B.E, Setiani. 2012. Kadar Air, Kekenyalan, Kadar Lemak dan Citarasa Bakso Daging Sapi dengan Penambahan Ikan Bandeng Presto (*Channos channos* Forsk). *Animal Agriculture Journal*. Vol 1 (1)

Widyasari, E. M. 2000. Pengaruh Proses Pengeringan Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA IPB. Bogor

Winangsih, Prihastanti, E., Parman, S. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol XXI (1): 19-25

Winarno, F. G., F. Srikandi dan D. Fardiaz. 1980. *Pengantar Teknologi Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kadar Air Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)

Penentuan kadar air pada penelitian ini berdasarkan bobot basah atau *wet basis* (WB), dengan rumus:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{W_1 - (W_3 - W_2)}{W_1} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_1 = Berat awal sampel

W_2 = Berat botol timbang kosong

W_3 = Berat botol timbang dan isi

a) Kadar Air Kulit Batang *Bruguiera gymnorhiza* Segar

Sampel	W_1 (g)	W_2 (g)	W_3 (g)
Kulit batang segar	2	27,90	28,66

$$\text{Kadar air} = \frac{2 - (28,66 - 27,90)}{2} \times 100\% = 62\%$$

b) Kadar Air Simplisia Kulit Batang *Bruguiera gymnorhiza*

Perlakuan Pengeringan	W_1 (g)	W_2 (g)	W_3 (g)
Suhu 30°C	1	27,90	28,76
Suhu 40°C	1	25,80	26,67
Suhu 50°C	1	30,77	31,64

Perhitungan :

1. Suhu 30°C

$$\text{Kadar air} = \frac{1 - (28,76 - 27,90)}{1} \times 100\% = 14\%$$

2. Suhu 40°C

$$\text{Kadar air} = \frac{1 - (26,67 - 25,81)}{1} \times 100\% = 14\%$$

3. Suhu 50°C

$$\text{Kadar air} = \frac{1 - (31,64 - 30,64)}{1} \times 100\% = 13\%$$

c) **Kadar Air Ekstrak Kasar Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**

Sampel	W ₁ (g)	W ₂ (g)	W ₃ (g)
Ekstrak A	1	18,83	19,52
Ekstrak B	1	17,86	18,47
Ekstrak C	1	18,76	19,29

Keterangan :

Ekstrak A = Perlakuan pengeringan bahan pada suhu 30°C

Ekstrak B = Perlakuan pengeringan bahan pada suhu 40°C

Ekstrak C = Perlakuan pengeringan bahan pada suhu 50°C

1. Ekstrak A

$$Kadar\ air = \frac{1 - (19,52 - 18,83)}{1} \times 100\% = 31\%$$

2. Ekstrak B

$$Kadar\ air = \frac{1 - (18,47 - 17,86)}{1} \times 100\% = 39\%$$

3. Ekstrak C

$$Kadar\ air = \frac{1 - (19,29 - 18,76)}{1} \times 100\% = 47\%$$



Lampiran 2. Rendemen Simplisia dan Ekstrak Kulit Batang Lindur

(*Bruguiera gymnorhiza*)

Rendemen Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)

Perlakuan Pengeringan	W ₁ (g)	W ₂ (g)	Rendemen (%)
Suhu 50°C	1000	538,78	53,878
Suhu 40°C	1000	514,03	51,403
Suhu 30°C	1000	554,76	55,476

$$\text{Rendemen} = \frac{W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan : W₁ = berat awal

W₂ = berat akhir

1. Perlakuan pengeringan pada suhu 50°C

$$\text{Rendemen} = \frac{538,78}{1000} \times 100\% = 53,878 \%$$

2. Perlakuan pengeringan pada suhu 40°C

$$\text{Rendemen} = \frac{514,03}{1000} \times 100\% = 51,403 \%$$

3. Perlakuan pengeringan pada suhu 30°C

$$\text{Rendemen} = \frac{554,76}{1000} \times 100\% = 55,476 \%$$

Rendemen ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)

Perlakuan Pengeringan	W ₁ (g)	W ₂ (g)	W ₃ (g)	Rendemen (%)
Suhu 50°C	538,78	106,72	124,79	3
Suhu 40°C	514,03	106,72	116,89	2
Suhu 30°C	554,76	106,72	109,86	0,5

Keterangan : W₁ = berat sampel yang di ekstrak

W₂ = berat botol vial kosong

W₃ = berat botol vial isi

Persamaan perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

1. Perlakuan pengeringan pada suhu 50°C

$$\text{Rendemen} = \frac{124,79 - 106,72}{538,78} \times 100\% = 3\%$$

2. Perlakuan pengeringan pada suhu 40°C

$$\text{Rendemen} = \frac{116,89 - 106,72}{514,03} \times 100\% = 2\%$$

3. Perlakuan pengeringan pada suhu 30°C

$$\text{Rendemen} = \frac{109,86 - 106,72}{554,76} \times 100\% = 0,5\%$$



Lampiran 3. Pembuatan Larutan

1. Pembuatan FeCl_3 1%

Banyaknya FeCl_3 yang dibutuhkan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$99\% \cdot V_1 = 1\% \cdot 5$$

$$V_1 = \frac{1}{99} \times 5 = 0,05$$

- Timbang FeCl_3 sebanyak 0,05 g
- Kemudian dilarutkan dalam 5 ml aquades

2. Pembuatan HCl 2N

Banyaknya HCl yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$12,6N \cdot V_1 = 5 \cdot 2$$

$$V_1 = \frac{5 \cdot 2}{12,6} = 0,79 \text{ ml}$$

- Ambil larutan HCl 37% sebanyak 0,79 ml
- Kemudian dilarutkan dalam aquades sampai 5 ml

Perhitungan DMSO 1% dan konsentrasi

- DMSO 1%

$$\text{DMSO } 100\% \times 1 \text{ ml stok} = \text{DMSO } 1\% \times (x) \text{ ml}$$

$$(x) \text{ ml} = \frac{\text{DMSO } 100\% \times 1 \text{ ml}}{\text{DMSO } 1\%}$$

$$(x) \text{ ml} = 100 \text{ ml}$$

Jadi sebanyak 1 ml DMSO 100 % dilarutkan dengan aquadest hingga volume 100 ml.

- Pembuatan Konsentrasi

- Pembuatan stok 20.000 ppm

$$1 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

$$20.000 \text{ ppm} = \frac{20.000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{200 \text{ mg}}{10 \text{ ml}}$$

Jadi sebanyak 200 mg = 0,2 g ekstrak dilarutkan dengan 10 ml DMSO 1%

- Pembuatan 10.000 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$10 \times 10.000 = V_2 \times 20.00$$

$$V_2 = \frac{10 \times 10.000}{20.000} \\ = 5 \text{ mL}$$

Jadi sebanyak 5 ml stok 20.000 ppm dilarutkan dalam DMSO 1% hingga volumenya 10 ml

- Pembuatan 5.000 ppm

$$V_1.N_1 = V_2.N_2$$

$$10 \times 5.000 = V_2 \times 10.000$$

$$V_2 = \frac{10 \times 5.000}{10.000} \\ = 5 \text{ mL}$$

Jadi sebanyak 5 ml stok 10.000 ppm dilarutkan dalam DMSO 1% hingga volumenya 10 ml

- Pembuatan konsentrasi *streptomycin*

$$0,1 \text{ mg/ml} = \frac{0,1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \\ = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \\ = 100 \text{ ppm}$$

- Pembuatan Konsentrasi Toksisitas

Konsentrasi MIC diperoleh yaitu 2500 ppm

- Pembuatan konsentrasi 1 x MIC = 2500 ppm

$$2.500 \text{ ppm} = \frac{2.500 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \\ = \frac{25 \text{ mg}}{10 \text{ ml}}$$

Jadi sebanyak 25 mg = 0,025 g ekstrak dilarutkan dengan 10 ml air laut

- Pembuatan konsentrasi 0,5 x MIC = 1.250 ppm

$$V_1.N_1 = V_2.N_2 \\ 10 \times 1.250 = V_2 \times 2.500 \\ V_2 = \frac{10 \times 1.250}{2.500} \\ = 5 \text{ mL}$$

Jadi sebanyak 5 ml dari konsentrasi 2500 ppm ditambah air laut hingga volumenya 10 ml

- Pembuatan konsentrasi 0,25 x MIC = 625 ppm

$$V_1.N_1 = V_2.N_2 \\ 10 \times 625 = V_2 \times 1.250$$

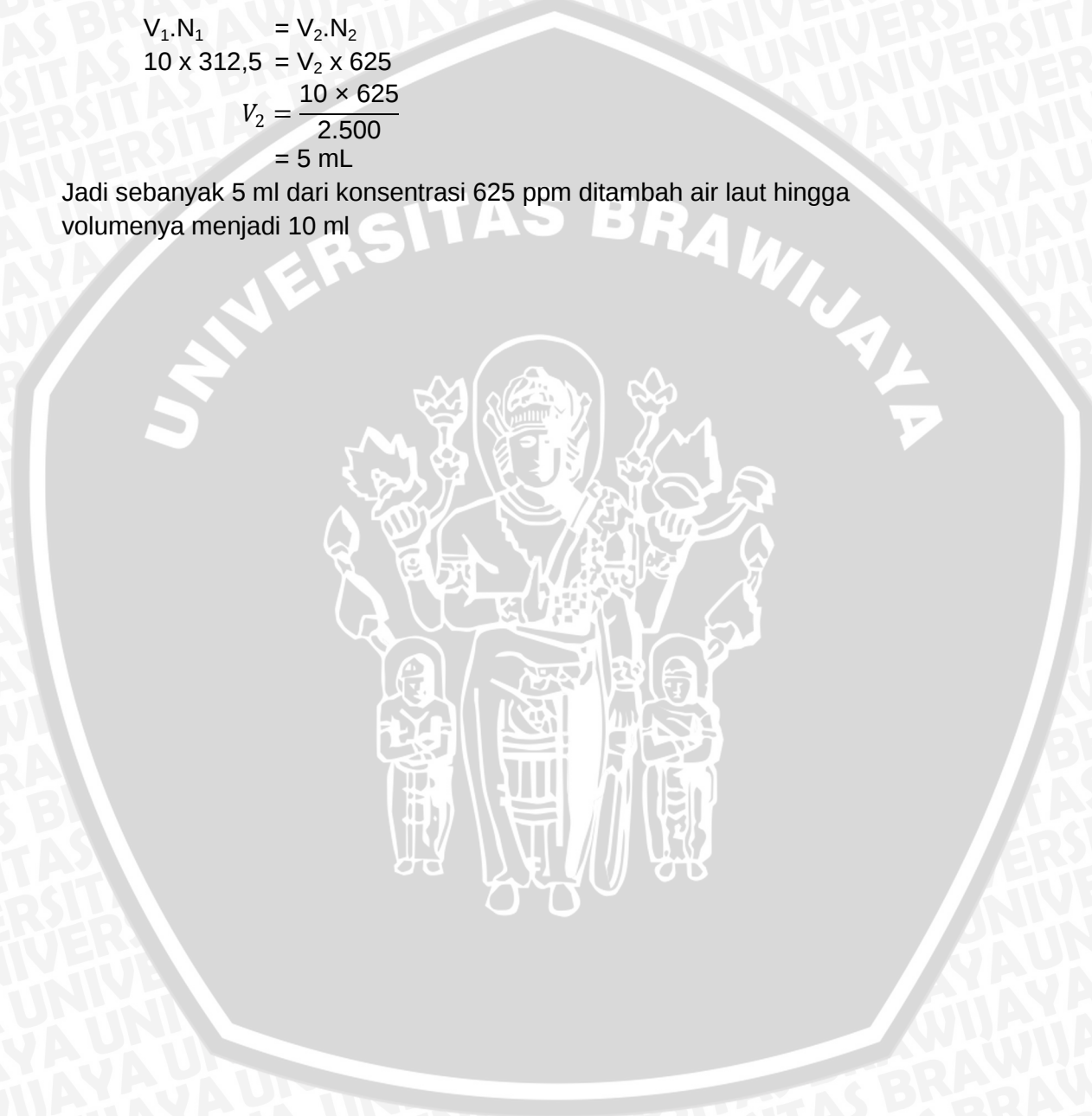
$$V_2 = \frac{10 \times 625}{2.500} \\ = 5 \text{ mL}$$

Jadi sebanyak 5 ml dari konsentrasi 1.250 ppm ditambah air laut hingga volumenya 10 ml

- Pembuatan konsentrasi $0,125 \times \text{MIC} = 312,5 \text{ ppm}$

$$V_1.N_1 = V_2.N_2 \\ 10 \times 312,5 = V_2 \times 625 \\ V_2 = \frac{10 \times 625}{2.500} \\ = 5 \text{ mL}$$

Jadi sebanyak 5 ml dari konsentrasi 625 ppm ditambah air laut hingga volumenya menjadi 10 ml



Lampiran 4. Pembuatan Media Muller Hilton Agar (MHA)

Komposisi	Jumlah (gr)
Casein hidrolisate	17,5
Starch	1,5
Agar	13
Infusion from meat	2,0

Sumber : Kemasan media MHA MRCK**Kebutuhan media**

$$MHA = \frac{34}{1000} \times \sum \text{cawan petri} \times 20 \text{ ml}$$

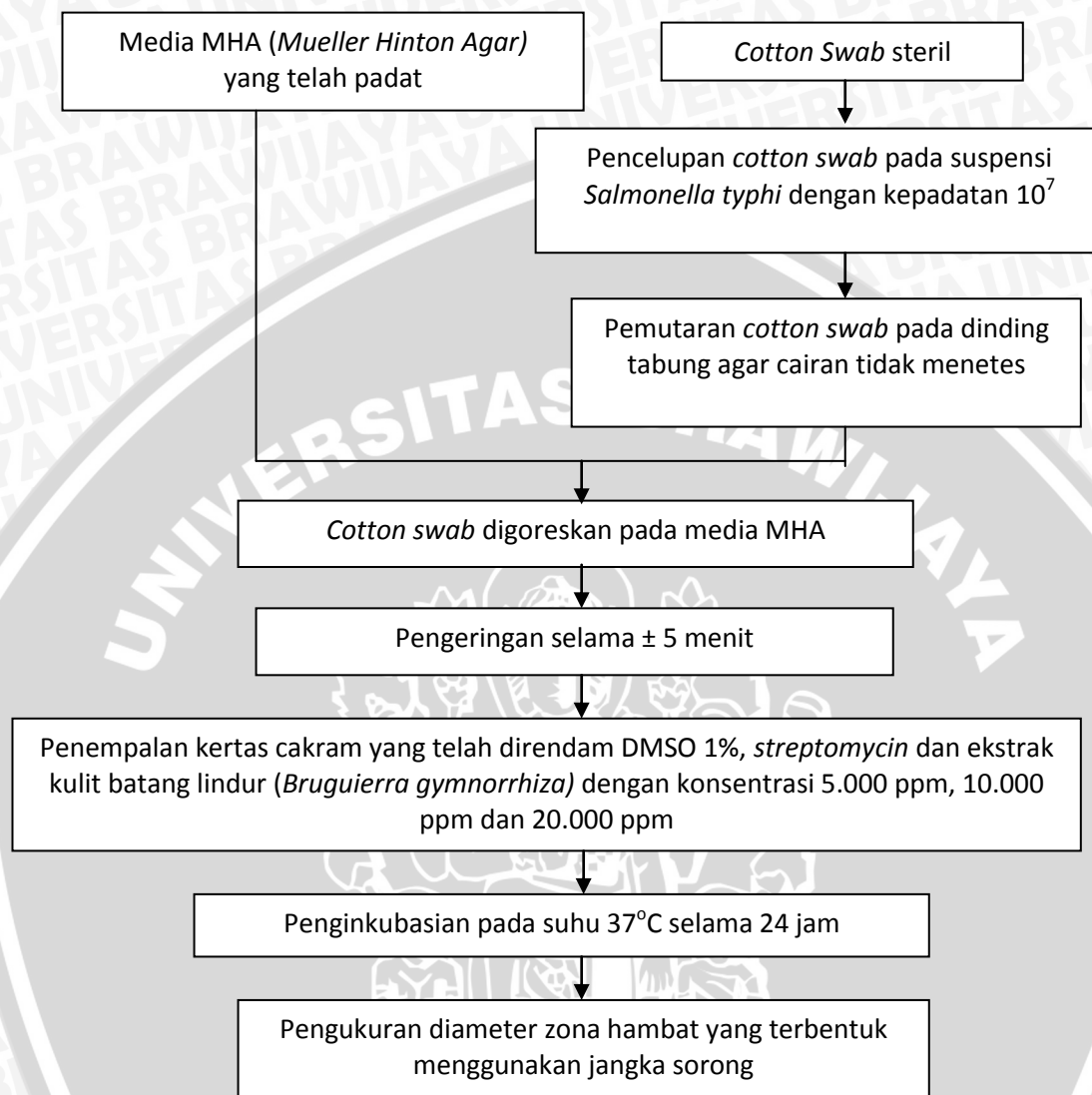
Kebutuhan aquades

$$\text{Aquades} = \sum \text{cawan} \times 20 \text{ ml}$$

Cara Pembuatan :

- Ditimbang media MHA sesuai kebutuhan dan dimasukkan erlenmeyer
- Ditambahkan aquades sedikit demi sedikit sambil digoyang.
- Dipanaskan pada hotplate pada suhu 100°C selama 15 menit
- Jika sudah larut media disterilisasi pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media yang sudah steril diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas media.
- Media yang sudah disterilisasi siap digunakan.

Lampiran 5. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer



Lampiran 6. Data Pengamatan

Data Diameter Zona Hambat Antibakteri ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap *Salmonella typhi*

a. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Perlakuan		Diameter Zona Hambat (mm)			Total	Rerata	SD
		U1	U2	U3			
Suhu 30°C	5000ppm	0,3	0,5	0,4	1,2	0,40	0,10
	10000ppm	1,2	1,4	1,6	4,2	1,40	0,20
	20000ppm	2,2	2,5	2,3	7	2,33	0,15
	K+	5,4	5,7	5,5	16,6	5,53	0,15
	K-	0	0	0	0	0,00	0,00
Suhu 40°C	5000ppm	0,7	0,6	0,7	2	0,67	0,06
	10000ppm	1,9	2	1,8	5,7	1,90	0,10
	20000ppm	2,4	2,5	2,7	7,6	2,53	0,15
	K+	6	6,1	6,3	18,4	6,13	0,15
	K-	0	0	0	0	0,00	0,00
Suhu 50°C	5000ppm	0,7	1,1	0,9	2,7	0,90	0,20
	10000ppm	1,8	1,9	2,1	5,8	1,93	0,15
	20000ppm	2,8	3	3,2	9	3,00	0,20
	K+	7,2	7,6	7,3	22,1	7,37	0,21
	K-	0	0	0	0	0,00	0,00
Total		23,5	24,8	25	73,3	24,43	

Keterangan : U1 = ulangan 1, U2 = ulangan 2, U3 = ulangan 3

Between-Subjects Factors			
		Value Label	N
Suhu	1	30°C	15
	2	40°C	15
	3	50°C	15
Konsentrasi	1	5000ppm	9
	2	10000ppm	9
	3	20000ppm	9
	4	Kontrol +	9
	5	Kontrol -	9

Lanjutan Lampiran 6.

Tests of Between-Subjects Effects					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	456.213 ^a	15	30.414	1.504E3	.000
Perlakuan_a	3.799	2	1.900	93.934	.000
Perlakuan_b	218.797	4	54.699	2.705E3	.000
Perlakuan_a * Perlakuan_b	3.323	8	.415	20.541	.000
Error	.607	30	.020		
Total	456.820	45			

a. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,998)

Post Hoc Tests

Suhu

Homogeneous Subsets

Hasil				
Suhu	N	Subset		
		1	2	3
30°C	15	1.9333		
40°C	15		2.2133	
50°C	15			2.6400
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .020.

Lanjutan Lampiran 6.

Konsentrasi Homogeneous Subsets

Hasil

Duncan						
Konsentras i	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Kontrol -	9	.0000				
5000ppm	9		.6556			
10000ppm	9			1.7444		
20000ppm	9				2.6222	
Kontrol +	9					6.2889
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,020.



Lanjutan Lampiran 6.

Uji Duncan 5% interaksi

interaksi	N	Subset for alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
30°C - Kontrol -	5	.0000									
40°C - Kontrol -	2	.0000									
50°C - Kontrol -	2	.0000									
30°C - 5000ppm	3		.4000								
40°C - 5000ppm	3			.6667							
50°C - 5000ppm	3			.9000							
30°C - 10000ppm	3				1.4000						
40°C - 10000ppm	3					1.9000					
50°C - 10000ppm	3					1.9333					
30°C - 20000ppm	3						2.3333				
40°C - 20000ppm	3						2.5333				
50°C - 20000ppm	3							3.0000			
30°C - kontrol +	3								5.5333		
40°C - Kontrol +	3									6.1333	
50°C - Kontrol +	3										7.3667
Sig.		1.000	1.000	.058	1.000	.780	.102	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 7. Perhitungan Toksisitas

Hasil Uji Toksisitas

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva <i>Artemia salina</i> Leach mati	
	I	II
2500	3	2
1250	1	2
625	1	1
312,5	1	1
0	0	0

Perhitungan uji toksisitas data 1

$$\% \text{ Mortalitas Artemia} = \frac{\text{jumlah h Artemia yang mati}}{\text{jumlah h Artemia uji}} \times 100 \%$$

$$2500 \text{ ppm} = \frac{3}{10} \times 100 \% = 30 \%$$

$$1250 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$625 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$312,5 \text{ ppm} = \frac{1}{10} \times 100 \% = 10 \%$$

$$0 \text{ ppm} = \frac{0}{10} \times 100 \% = 0 \%$$

Hasil %mortalitas Artemia pada setiap variasi konsentrasi ditentukan nilai

% probit dengan melihat tabel probit presentase mortalitas dibawah ini

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

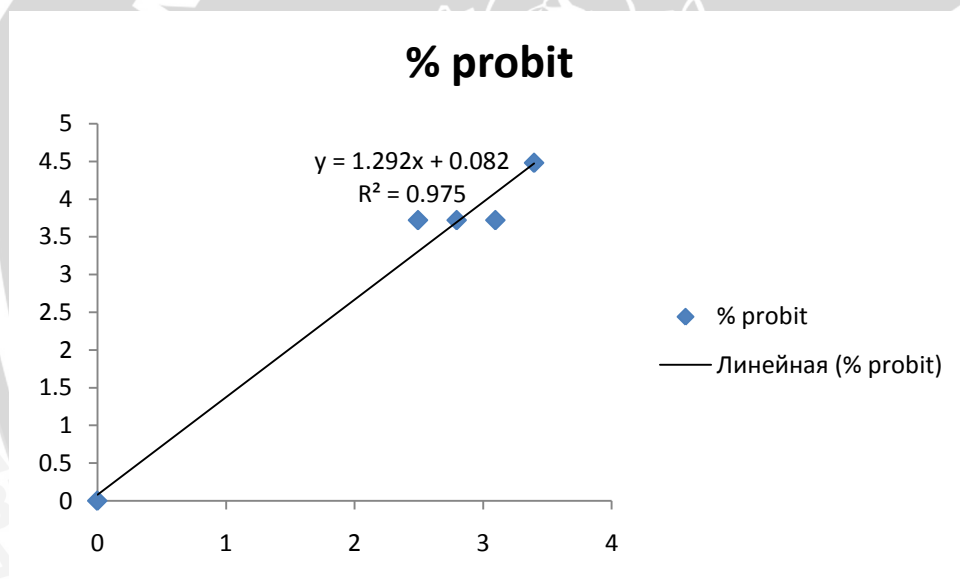
Respon mortalitas pada data 1 adalah 30%, 10 %, 10 %, 10 %, 0 % maka nilai probit yang diperoleh berdasarkan tabel %probit adalah 4,48; 3,72; 3,72; 3,72 dan 0 (nilai % probit ditunjukkan dengan blok warna kuning).

Selanjutnya pada konsentrasi 2500, 1250, 625 312,5 dan 0 ppm dilogaritma dan hasilnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Uji toksisitas 1

Konsentrasi	Σ larva mati	%mortalitas	log konsentrasi	% probit
2500	3	30	3,39	4,48
1250	1	10	3,09	3,72
625	1	10	2,79	3,72
312,5	1	10	2,49	3,72
0	0	0	0	0

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik berikut



Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* (I)

Diperoleh persamaan **$y = 1,292x + 0,082$**

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut pada Y, maka konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji antara lain :

$$y = 1,292 x + 0,082$$

$$5 = 1,292 x + 0,082$$

$$5 - 0,082 = 1,292 x$$

$$4,918 = 1,292 x$$

$$X = \frac{4,918}{1,292} = 3,8065$$

$$\text{Anti Logaritma} = 3,8065$$

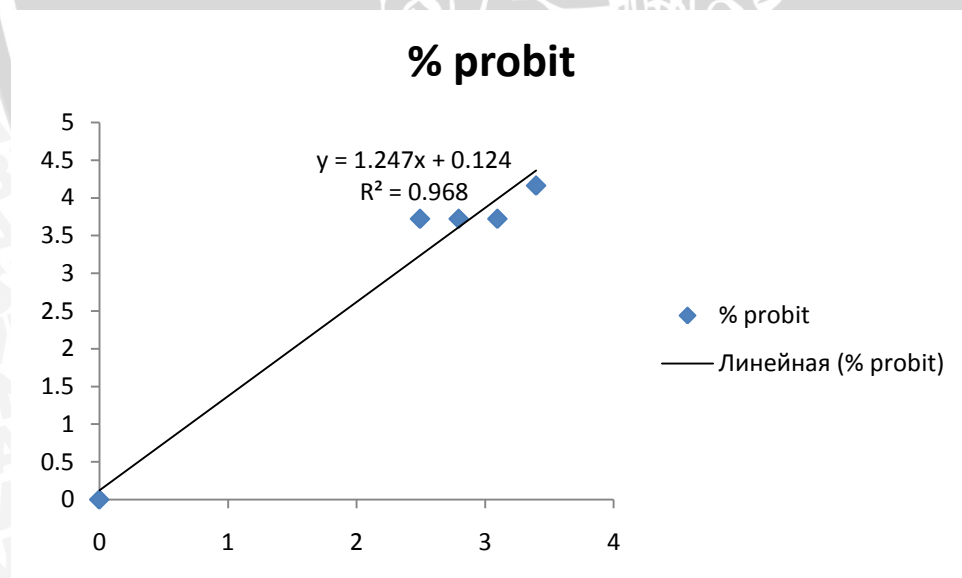
$$= 6404,741 \text{ ppm (LC}_{50}\text{)}$$

Dengan cara perhitungan yang sama untuk uji toksisitas data II didapatkan hasil berikut ini

Hasil uji toksisitas data II

Konsentrasi	Σ larva mati	%mortalitas	log konsentrasi	% probit
2500	2	20	3,39	4,16
1250	2	20	3,09	3,72
625	1	10	2,79	3,72
312,5	1	10	2,49	3,72
0	0	0	0	0

Sehingga didapatkan log konsentrasi dan % probit mortalitas dan dimasukkan ke dalam microsoft excel sehingga diperoleh persamaan pada grafik berikut



Grafik Regresi Konsentrasi Dengan Probit % Mortalitas Ekstrak Kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* (II)

Diperoleh persamaan $y = 1,247x + 0,124$

Dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut pada Y, maka konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian hewan uji antara lain :

$$y = 1,247x + 0,124$$

$$5 = 1,247x + 0,124$$

$$5 - 0,124 = 1,247x$$

$$4,876 = 1,247x$$

$$X = \frac{4,876}{1,247} = 3,910$$

$$\text{Anti Logaritma} = 3,910$$

$$= 8131,758 \text{ ppm (LC}_{50}\text{)}$$

$$\text{Jadi diperoleh rerata LC}_{50} = \frac{6404,741 + 8131,758}{2} = 7268,2495 \text{ ppm}$$



Lampiran 8. Perhitungan Uji MIC dan MBC

Perhitungan Uji MIC dan MBC *Salmonella typhi*

Konsentrasi (ppm)	Zona Hambat			Nilai X	Nilai Y		
	U1	U2	U3		U1	U2	U3
5.000	0,7	1,1	0,9	8,52	0,49	1,21	0,81
10.000	1,8	1,9	2,1	9,21	3,24	3,61	4,41
20.000	2,8	3	3,2	9,90	7,84	9	10,24
Nilai MBC (ppm)	2,66	2,59	2,67				
Nilai MIC (ppm)	0,67	0,65	0,67				

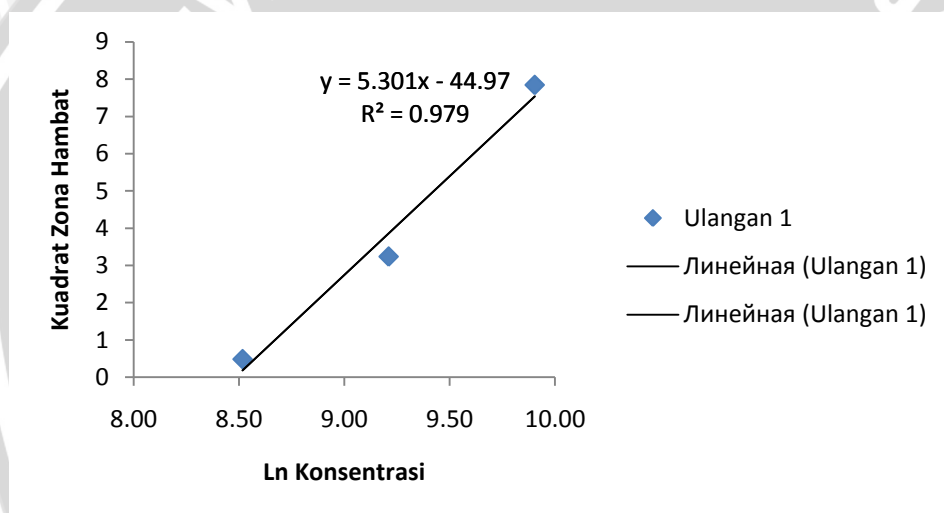
Ket : Nilai X (ln konsentrasi)

Nilai Y (kuadrat zona hambat)

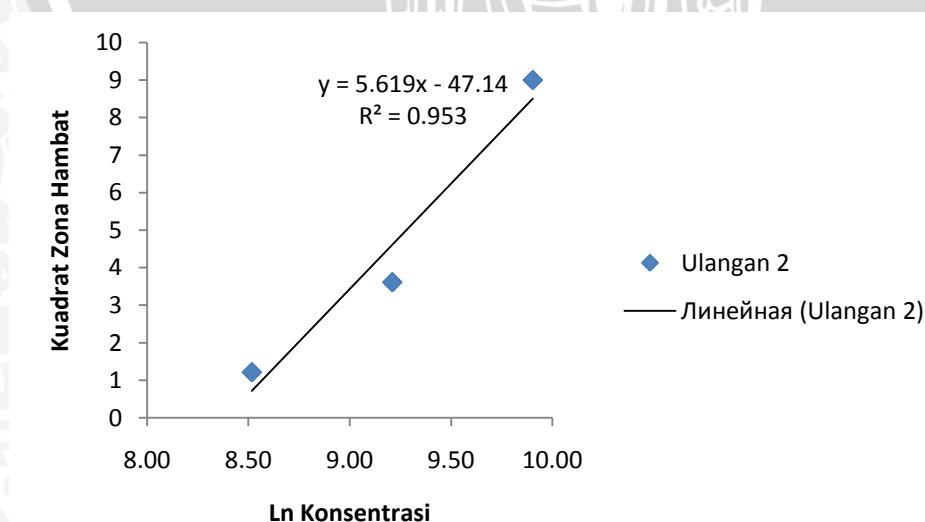
Nilai MBC (anti ln hasil perpotongan Y)

Nilai MIC (nilai MBC : 0,25)

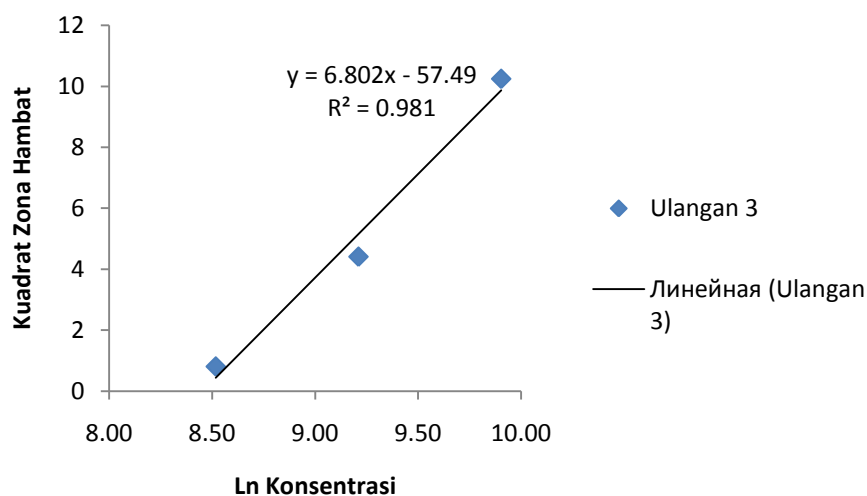
Ulangan 1



Ulangan 2



Ulangan 3



Data rerata nilai MIC dan MBC bakteri *Salmonella typhi*

Nilai MIC dan MBC	Ulangan			Total	Rata-Rata	SD
	U1	U2	U3			
Nilai MBC (ppm)	2,66	2,59	2,67	7,92	2,64	0,04
Nilai MIC (ppm)	0,67	0,62	0,58	1,87	0,62	0,05

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

Uji Kadar Air



Berat botol timbang kosong



Pengovenan



Didesikator 15 menit



Berat botol timbang + sampel setelah dioven



Didesikator 15 menit



Pengovenan



Penimbangan sampel

Persiapan bahan



Kulit batang *Bruguiera gymnorhiza*



Penghalusan



Penimbangan



Kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* kering



Pengeringan dengan oven vakum

Lanjutan Lampiran 9 Ekstraksi



Penimbangan



Penambahan metanol 800 ml



Maserasi selama
2 x 24 jam



Ekstrak kasar
kulit batang



Penyemprotan gas
nitrogen



Evaporasi dengan
vacuum rotary
evaporator



Penyaringan

Uji Daya Hambat



Ekstrak kasar kulit
Batang *Bruguiera
gymnorrhiza*



Pengenceran ekstrak
dan perendaman
kertas cakram



Penanaman



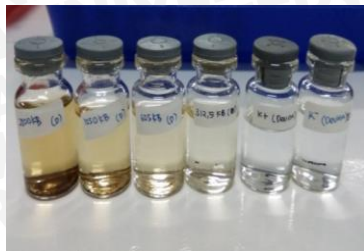
Inkubasi 24 jam pada
suhu 37°C



Pengamatan zona bening

Lanjutan Lampiran 9

Uji Toksisitas



Pengenceran ekstrak uji toksisitas



Penambahan larva udang



Pengamatan toksisitas

Oven Vakum

