UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BATANG LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

ARTIKEL SKRIPSI

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

Oleh :

Iceu Ismail Puteri
NIM. 125080300111074

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal : 10 0 NOV 2016

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP
NIP. 19581231 198601 2 002
Tanggal : 0 8 NOV 2016

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620803 198603 2 001
Tanggal : 0 8 NOV 2016

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BATANG LINDUR (*Bruguiera gymnorrhiza*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Iceu Ismail Puteri⁽¹⁾, Bambang Budi Sasmito⁽²⁾ dan Titik Dwi Sulistiyati⁽³⁾

Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Bruguiera gymnorrhiza merupakan salah satu spesies mangrove yang keberadaannya tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Jenis mangrove tersebut dapat ditemukan di wilayah pantai utara dan bagian selatan Pulau Jawa antara lain berada di Kabupaten Trenggalek dan Pasuruan, Jawa Timur. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui suhu terbaik pada proses pengeringan kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* dengan variasi suhu yang berbeda-beda dan berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta untuk mengidentifikasi senyawa yang didapat pada kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* menggunakan LC-MS. Metode yang digunakan adalah uji aktivitas antibakteri dengan uji daya hambat bakteri menggunakan metode Kirby-Bauer (suhu pengeringan 30°C; 40°C dan 50°C serta konsentrasi ekstrak 5.000 ppm; 10.000 ppm; 20.000 ppm; streptomycin 100 ppm sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif), uji fitokimia, penentuan MIC dan MBC, dan identifikasi senyawa bioaktif menggunakan uji LC-MS. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan terbaik terdapat pada suhu pengeringan 50°C dan konsentrasi ekstrak 20.000 ppm, dengan rerata zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 2,90 mm. Hasil fitokimia menunjukkan adanya flavonoid dan tanin yang terdeteksi. Nilai MIC ekstrak kasar kulit batang *B. gymnorrhiza* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki rerata sebesar 0,66 ppm, sedangkan nilai MIC memiliki rerata 2,64 ppm. Dari uji identifikasi senyawa bioaktif pada ekstrak kasar kulit batang lindur (*B. gymnorrhiza*) adalah senyawa turunan flavonoid yaitu isoflavon yang diduga sebagai senyawa antibakteri.

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

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

Antibacteria Activity On Bark Of Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Crude Extract
Towards *Staphylococcus aureus* Growth

Iceu Ismail Puteri⁽¹⁾, Bambang Budi Sasmito⁽²⁾ and Titik Dwi Sulistiyati⁽³⁾

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

ABSTRACT

Bruguiera gymnorrhiza is one of mangrove species that widely available across north Indonesia. This kind of mangrove can be found in north coast region and the southern java, which is located in Trenggalek and Pasuruan, East Java. The purpose of this study is knowing the best temperature from drying process the bark of *B. gymnorrhiza* with different temperature combination, inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*, and to identify the compounds acquired in the bark of *B. gymnorrhiza* using LC-MS. Antibacterial activity identified using Kirby-Bauer method (the drying temperature are 30°C; 40°C and 50°C and extract concentration are 5.000 ppm; 10.000 ppm and 20.000 ppm; streptomycin 100 ppm as a positive control and DMSO 1% as negative control), determination of MIC and MBC, phytochemical test, and compound identified using LC-MS. The results showed that the best treatment material contained in a drying temperature of 50°C and extract concentration of 20.000 ppm, with an average zone of inhibition against *Staphylococcus aureus* by 2,90 mm. Phytochemical results indicate the presence of flavonoids and tannins. MIC average values of crude extract of *B. gymnorrhiza* barks against *Staphylococcus aureus* respectively each 0,66 ppm, while the MBC average value of them 2,64 ppm. The compound which is found in bark of *B. gymnorrhiza* rough extract is derivative flavonoid called isoflavan, suspected as antibacterial compounds.

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

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

PENDAHULUAN

Mangrove *B. gymnorrhiza* memiliki daun yang umumnya berwarna hijau tua dan berbentuk elips. Daunnya dikenal dengan large-leafed mangrove karena memiliki panjang antara 8-22 cm dan lebar antara 5-8 cm. Bagian ujung daun meruncing, berwarna hijau pada bagian atas dan hijau kekuningan pada bagian bawah dengan bercak-bercak hitam. Batang dari tumbuhan ini umumnya berwarna abu-abu sampai hitam dan memiliki tipe percabangan simpodial. Kulit kayu memiliki lentisel, permukaannya halus hingga kasar dengan warna abu-abu tua sampai coklat. Akar membentuk akar papan dan melebar ke samping tetapi juga memiliki sejumlah akar lutut. Tumbuhan lindur memiliki bunga yang terletak di ujung dengan kelopak berwarna merah muda hingga merah serta panjang bunga berkisar antara 1,5-3,5 cm. Buah berbentuk silinder (hipokotil), melingkar spiral dengan lebar 2-2,5 cm dan panjang antara 12-30 cm (Utari, 2012). Tumbuhan mangrove memiliki beberapa senyawa bioaktif diantaranya adalah senyawa flavonoid, tanin, steroid, dan fenol. 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 (Hagerman, 2002).

Spesies *B. gymnorrhiza* merupakan sebuah tanaman mangrove yang digunakan sebagai dinding pada hutan mangrove sebagai penghalang abrasi dan secara luas didistribusikan di wilayah Asia Afrika. Di Cina, buah-buahan yang berasal dari *B. gymnorrhiza* digunakan sebagai pengobatan penyakit diare (Bamroongruga, 1999). Pada penelitian Abeysinghe dan Wanigatunge (2006) menggunakan bahan kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorrhiza*. Masing – masing sampel dicuci dan dikeringkan dibawah sinar matahari sampai kering, kemudian dihaluskan

menggunakan mesin penggilingan. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tumbuhan mangrove mengandung senyawa bioaktif yang bersifat antimikroba. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Oleh karena itu dengan hal ini perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suhu pengeringan bahan dan konsentrasi ekstrak kasar kulit batang lindur (*B. gymnorrhiza*) yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan tujuan untuk mengetahui suhu dan konsentrasi terbaik pada proses pengeringan bahan serta mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak kasar kulit batang lindur (*B. gymnorrhiza*).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang mangrove lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dari daerah Pulokerto, Pasuruan, Jawa Timur, *Staphylococcus aureus* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, *Mueller Hinton Agar* (Merck), *streptomycin*, kertas cakram (oxid), DMSO 1%, *aquadest*, alkohol 70%, *cotton swab* (onemed), HCl pekat, reagen dragendorff, serbuk Mg, asetat anhidrat, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, kloroform, $FeCl_3$ 1%, HCl 2N, dan aluminium foil.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven vakum (Memmert), *blender* (Panasonic), timbangan digital (Camry EK5055), botol kaca, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer, corong, spatula, *rotary vacuum evaporator* (IKA), botol vial,

lemari es, timbangan digital (Mettler Toledo), botol timbang, oven (Memmert), *crushable tang*, desikator, *autoclave* (Hirayama HL-36Ae), *Laminar Flow Cabinet* (BIOBASE), erlenmeyer 500 mL, *beaker glass* 100 mL, cawan petri, pinset, bunsen, *sprayer*, inkubator (redLINE by BINDER), jangka sorong, akuarium, pipet serologis, bola hisap, tabung reaksi, kolom, LC-MS ESI dan rak tabung reaksi.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Hasan (2002) menyebutkan bahwa metode eksperimental memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti sebab akibatnya sedangkan deskriptif berarti mendeskripsikan variabel demi variabel, satu demi satu dengan tujuan untuk mengumpulkan informasi aktual secara rinci yang menggambarkan gejala yang ada, mengidentifikasi masalah atau memeriksa suatu kondisi dan membuat evaluasi.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari persiapan bahan (pembuatan ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*, perhitungan rendemen, dan uji kadar air), uji aktivitas antibakteri (uji daya hambat, penentuan MIC dan MBC), uji fitokimia, dan uji LC-MS.

Persiapan Bahan

Kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* dihaluskan menggunakan *blender* untuk memperluas permukaan sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven vakum pada suhu 30°C, 40°C, 50°C, masing-masing dengan berat awal 1 kg hingga mencapai berat akhir dan kadar air yang relatif sama lalu ditimbang kembali. Tepung yang didapatkan kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol dengan perbandingan 1:4 selama 2x24 jam. Hasil dari maserasi didapatkan filtrate dan residu yang kemudian filtrat dipisahkan dari residu dengan penyaringan menggunakan kertas saring, lalu

dipadatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C dan kecepatan putaran hingga 95 rpm yang dimaksimalkan dengan pemberian gas nitrogen untuk menguapkan sisa-sisa pelarut yang masih berada pada sampel.

Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan pada simplisia kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* serta pada ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*. Rumus perhitungan rendemen adalah:

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

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

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

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

Dimana,

W1 = Berat awal sampel

W2 = Berat botol timbang kosong

W3 = Berat botol timbang dan isi

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

Uji daya hambat dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Kertas cakram direndam selama ± 24

jam dalam ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* dengan konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm, dan 20.000 ppm, *streptomycin* 100 ppm sebagai kontrol positif (K+) dan DMSO 1 % sebagai kontrol negatif (K-). Cawan petri yang telah diisi dengan 20 mL MHA dan ditunggu hingga media padat. Bakteri uji yakni *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan 10^7 CFU/mL, disebar secara merata dengan menggunakan *cotton swab steril* diatas lempengan MHA. Selanjutnya, kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak ditempatkan di atas lempengan MHA. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam dan dilakukan pengamatan keesokan harinya terhadap zona hambat yang dihasilkan.

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

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

Uji Fitokimia (Modifikasi Harborne, 1987)

Uji Alkaloid

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

Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji

positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Uji Tanin

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

Uji Saponin

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL *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.

Uji Steroid

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

Uji Terpenoid

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

Uji Kromatografi Kolom (Hostettmann *et al.*, 1995 yang telah Dimodifikasi)

Uji kromatografi kolom menggunakan fase gerak yaitu pelarut n-heksan:etil asetat pro analisis yang bersifat non polar:polar. Teknik elusi yang digunakan adalah teknik elusi gradient dengan perbandingan eluen dimulai dari 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7 dan 2:8 (200 ml). Setelah itu dilarutkan silika gel

dalam fase gerak perbandingan 8:2 secukupnya dan distirer dengan kecepatan 150 rpm selama 1 jam.

Lalu diisi kolom dengan sedikit fase gerak yang digunakan. Dimasukkan kapas yang telah dipotong/digulung bulat tipis pada kolom dengan menggunakan bantuan lidi. Kemudian ditambahkan silika gel yang telah distirer dimasukkan ke dalam kolom dan didiamkan selama ± 12 jam agar memadat sempurna. Setelah itu dimasukkan pasir laut (*sea sand*) sebanyak 2 gram secara perlahan melalui dinding bagian dalam kolom. Ekstrak kasar dilarutkan dengan sebagian fase gerak yang digunakan pada perbandingan awal 8:2. Kran pada kolom dibuka perlahan dan fraksi yang keluar ditampung pada botol vial masing-masing 10 ml. Setelah perbandingan fase gerak dengan perbandingan 8:2 habis, maka dilanjutkan dengan fase gerak perbandingan 7:3, 6:4 dan begitu seterusnya hingga pada perbandingan fase gerak terakhir yaitu 2:8. Selain itu perlu diamati dan dicatat tiap waktu pergantian fase gerak dan warna yang berbeda. Uji kromatografi kolom ini dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan fraksi-fraksi murni yang terkandung pada ekstrak.

Analisis Senyawa

Jenis kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* kemudian dilakukan proses uji LC-MS untuk mengetahui senyawa bioaktif yang diduga bersifat senyawa antibakteri.

Variabel Penelitian

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

Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini yaitu berdasarkan daya hambat terbaik yang dihasilkan ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*. Penentuan MIC dan MBC, serta uji LC-MS yang dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai senyawa bioaktif pada ekstrak yang bersifat antibakteri.

Analisis Data

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Tabel 1. Rendemen Sampel

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

Tabel 2. Kadar Air Sampel

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

Daya Hambat Antibakteri

Staphylococcus aureus

Daya hambat ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Daya hambat ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* terhadap bakteri *Staphylococcus*

Perlakuan	Rerata Zona Hambat (mm)
A1.B1	0,70 ± 0,10 ^b
A1.B2	1,40 ± 0,26 ^c
A1.B3	2,13 ± 0,15 ^{ef}
A1.B4	2,97 ± 0,12 ^g
A1.B5	0,00 ± 0,00 ^a
A2.B1	0,87 ± 0,21 ^b
A2.B2	1,73 ± 0,15 ^d
A2.B3	2,27 ± 0,15 ^f
A2.B4	3,47 ± 0,15 ^h
A2.B5	0,00 ± 0,00 ^a
A3.B1	0,93 ± 0,15 ^b
A3.B2	1,93 ± 0,15 ^{de}
A3.B3	2,90 ± 0,10 ^g
A3.B4	4,00 ± 0,10 ⁱ
A3.B5	0,00 ± 0,00 ^a

Keterangan:

A1 = Suhu Pengeringan 30°C

A2 = Suhu Pengeringan 40°C

A3 = Suhu Pengeringan 50°C

B1 = Konsentrasi 5.000 ppm

B2 = Konsentrasi 10.000 ppm

B3 = Konsentrasi 20.000 ppm

B4 = Kontrol Positif *streptomycin* 100 ppm

B5 = Kontrol Negatif DMSO 1%

Dari hasil uji ANOVA diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa antara perlakuan suhu pengeringan dan konsentrasi diperoleh F hitung (7,242) > F tabel (2,27) dan probabilitasnya 0,000 lebih kecil dari 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 5.000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm memberikan pengaruh yang signifikan.

Berdasarkan uji lanjut yang dilakukan adalah Uji Lanjut Duncan 5%. Hasil Uji Lanjut Duncan 5% terhadap *Staphylococcus aureus* 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.

Pada penggunaan suhu pengeringan kulit batang lindur 50°C mempunyai diameter zona hambat yang cukup tinggi terhadap kemampuan menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Diperoleh dari data bahwa rata-rata diameter zona hambat sekitar 0,93 mm – 2,90 mm pada konsentrasi 5.000 – 20.000 ppm. Dari uraian diatas menunjukkan bahwa suhu pengeringan kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) 50°C efektif menghambat jenis bakteri gram positif. Hal tersebut bisa terhambat kemungkinan disebabkan karena sampel dengan perlakuan pengeringan pada suhu 50°C lebih kering serta kandungan air didalamnya lebih sedikit jika dibandingkan dengan sampel yang mengalami perlakuan pengeringan pada suhu 30°C dan 40°C. Menurut Putu *et al.*, (2015) menyatakan kadar air kulit batang hasil penelitian yang rendah mungkin disebabkan oleh habitat mangrove lindur yang bersalinitas tinggi dan suhu habitat yang tinggi.

Perbedaan sensitifitas antibakteri juga disebabkan oleh perbedaan dinding sel pada kedua bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana, hanya terdiri dari komponen peptidoglikan dan asam teikoat (Mulyani, 2009). Menurut Mulyadi (2013) rusaknya dinding sel gram positif yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri gram positif karena berlaku prinsip *like dissolved like*. Komponen peptidoglikan yang terdiri atas protein dan karbohidrat yang bersifat polar akan lebih mudah untuk ditembus oleh senyawa polar. Menurut Jawetz *et al.* (1986), *streptomycin* bersifat bakterisidal terhadap mikroorganisme yang peka dengan konsentrasi penghambatan 0,1 – 20

$\mu\text{g/mL}$. Cara kerja *streptomycin* dalam menghambat mikroorganisme adalah melalui hambatan sintesa protein pada mikroorganisme.

MIC dan MBC

Nilai MIC dan MBC terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Gambar 1. Nilai MIC ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza* terhadap *Staphylococcus aureus*

Gambar 2. Nilai MBC ekstrak kasar daun *Bruguiera gymnorhiza* terhadap *Staphylococcus aureus*

Dari gambar diatas menunjukkan bahwa rerata nilai MIC pada suhu 30°C ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 0,63 ppm dan nilai MBC sebesar 2,63 ppm. Nilai MIC 40°C untuk *Staphylococcus aureus* sebesar 0,67 ppm dan nilai MBC sebesar 2,67 ppm. Nilai MIC 50°C untuk *Staphylococcus aureus* sebesar 0,66 ppm dan nilai MBC sebesar 2,64 ppm. Nilai MIC dan MBC pada *Staphylococcus aureus* lebih kecil. Hal ini sesuai dengan 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 bakteristatik dan bakterisidal.

Fitokimia

Hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* dapat dilihat pada Tabel 4.

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

Tabel 4. Kandungan Fitokimia Ekstrak Kulit

Batang *Bruguiera gymnorhiza*

Pada Tabel 4 memperlihatkan bahwa pada ekstrak kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorhiza* pada suhu pengeringan 30°C, 40°C, dan 50°C mengandung flavonoid dan tanin. Hal tersebut diperkuat dengan pernyataan Nurjannah (2015) bahwa tanaman lindur khususnya pada kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorhiza* mengandung senyawa flavonoid.

Hasil uji positif senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang termasuk ke dalam senyawa fenol dimana senyawa fenol dapat bersifat menghambat aktivitas bakteri, virus, bahkan jamur (Darsana *et al.*, 2012). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak jaringan membran sel bakteri atau merusak permeabilitas dinding sel bakteri tersebut.

Sedangkan pada tanin juga menghasilkan hasil positif lemah dengan terbentuknya warna hitam. Tanin juga merupakan senyawa antibakteri. Sedangkan mekanisme kerja tanin adalah dengan merusak membran sitoplasma pada bakteri sehingga dapat mengganggu dan terhambatnya aktivitas pertumbuhan bakteri tersebut.

Analisa Senyawa dengan LC-MS

Senyawa antibakteri ekstrak kulit ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan analisis LC-MS. Analisis senyawa dengan menggunakan uji LC-MS untuk mengidentifikasi struktur senyawa dan berat molekul yang terdapat pada fraksi teraktif ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). Hasil uji LC-MS menunjukkan terbentuknya 4 puncak waktu retensi yang berbeda. Waktu retensi dengan intensitas yang paling besar terdapat pada puncak keempat yaitu 9,7 menit. Sedangkan pada puncak pertama memiliki waktu retensi yaitu 2,7 menit disusul dengan puncak kedua dengan waktu retensi 3,8 menit dan pada puncak ketiga memiliki waktu retensi yaitu 7,5 menit. Pola spektrum LC-MS dapat dilihat pada **Gambar 5**.

Gambar 5. Spektrum LC Fraksi A Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)

Senyawa antibakteri hasil analisis LC-MS Fraksi A ekstrak kasar kulit batang lindur mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dengan pelarut metanol ada pada

Tabel 5.

Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Spectra
Desmethyl maprotilin	$C_{19}H_{21}N$	263,167 40	6
3, 7, 4'-Trihydroxy flavone	$C_{15}H_{10}O_5$	270,052 82	3
Aminoflunitrazepam	$C_{16}H_{14}FN_{30}$	283,112 09	6
4-Hydroxy Diclofenac	$C_{14}H_{11}C_{12}NO_3$	311,011 60	9

Hasil analisa pada Tabel 5 spektrum MS Fraksi A Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) pada Rt 3,82 menunjukkan terdapat beberapa puncak ion yang menandakan fragmentasi berdasarkan berat molekulnya. Diduga senyawa pada Rt 3,82 memiliki berat molekul 270 m/z. Berdasarkan penelusuran *database* spektra massa melalui internet, senyawa dengan berat molekul 270 m/z diduga adalah 3', 4', 7' - *Trihydroxyflavone* dengan rumus molekul $C_{15}H_{10}O_5$. Senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid. Diduga senyawa tersebut merupakan sebuah zat yang menghambat dan mencegah perkembangan jaringan neoplasma.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil analisa uji aktivitas antibakteri dari penelitian ini menunjukkan bahwa suhu pengeringan untuk ekstraksi kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* terbaik adalah 50°C. Konsentrasi 20.000 ppm merupakan konsentrasi terbaik dari ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Hasil identifikasi senyawa dengan LC-MS memiliki berat molekul 270 m/z diduga adalah 3', 4', 7' - *Trihydroxyflavone* dengan rumus molekul $C_{15}H_{10}O_5$. Senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid. Senyawa tersebut merupakan senyawa yang berperan dalam memberikan antibakteri.

Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstrak murni agar mendapatkan hasil maksimal pada uji daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian mengenai identifikasi senyawa pada ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* disarankan menggunakan analisis spektrofotometri UV-Vis, FT-IR dan NMR sehingga diketahui struktur senyawa secara mutlak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed, S.A. , H.M. Sirat, M. Taher. 2013. Total Phenolic, Antioxidant, Antimicrobial Activities and Toxicity Study of *Gynotroches axillaris* Blume (Rhizophoraceae). *Excli Journal*.
- Abeysinghe, P. D and R. P Wanigatunge. 2006. *Evaluation of Antibacterial Activity of Different Mangrove Plant Extracts*. *Rubuna Journal of Science*.
- Bamroongrugs B. 1999. *Bioactive Substanea From The Mangrove Resource Songklakar J. Sci. Technol.*, 3: 77-386.
- Bloomfield, S. F. 1991. Method of Assessing Antimicrobial Activity. Blackwell Scientific Publication. London. pp. 1-22.
- Darsana, I G. O., I N. K. Besung, dan H. Mahatmi. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) *Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3).
- Hagerman AE. 2002. *Tannin Chemistry-Department Chemistry and Biochemistry*. Miami University. Oxford. USA.
- Harborne JB. 1978. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah : Bandung : ITB. Bandung. Terjemah dari : *Phytochemical Methods: A Guide To Modern Techniques Of Plant Analysis*.
- Hasan, I. M. 2002. Pokok-Pokok Materi Metodologi Penelitian Dan Aplikasinya. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M. dan Marston, A. (1995). Cara Kromatografi Preparatif. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB. Halaman 9-11, 33.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, dan E.A Adelberg. 1986. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan. Edisi 16. Jakarta : ECG Penerbit Buku Kedokteran.
- Legowo, A.M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2007. *Buku Ajar: Analisis Pangan*. Universitas Diponegoro. Semarang. 58 hlm.
- Mulyadi M., Wuryanti, Purbowatiningrum R. S. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Chem. Info*. 1(1): 35 – 42.
- Mulyani S., Susilowati dan Maslan M. H. 2009. Analisis GC-MS dan daya anti bakteri minyak atsiri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20(3): 127 – 132.
- Nurjanah, N., A. M. Jacob, T. Hidayat, A.Shylina. 2015. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Lindur Stem Bark (*Bruguiera gymnorrhiza*). *International Journal of Plant Science and Ecology* 1(5).
- 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.
- Prihanto A A, M. Firdaus, dan R Nurdiani. 2011. Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) dari Muara Sungai Porong. *Berkala Penelitian Hayati* 17.
- Putu S S D, Nurjanah, Agoes M J. 2015. Komposisi Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang Dan Daun Lindur. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Utari SPSD. 2012. Analisis Jaringan Tanaman Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dan Pemanfaatan Patinya Sebagai Edible Film Dengan Penambahan Gliserol dan Karagenan [Skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.