

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

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

Oleh :  
**ICEU ISMAIL PUTERI  
NIM. 125080300111074**



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

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

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 :  
ICEU ISMAIL PUTERI  
NIM. 125080300111074



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016

SKRIPSI

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

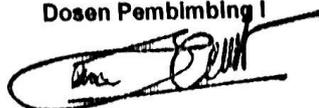
Oleh :  
ICEU ISMAIL PUTERI  
NIM. 125080300111074

Dosen Penguji I



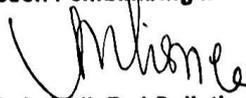
(Dr. Ir. Hardoko, MS)  
NIP. 19620108 198802 1 001  
Tanggal : 08 NOV 2016

Menyotujul,  
Dosen Pembimbing I

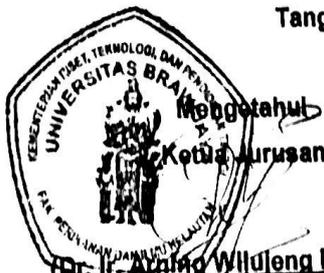


(Dr. Ir. Bambang Budi S. MS)  
NIP. 19600322 198601 1 001  
Tanggal : 08 NOV 2016

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Titik Dwi Sulistyati, MP)  
NIP. 19581231 198601 2 002  
Tanggal : 08 NOV 2016



Menggetahui  
Ketua Jurusan  
(Dr. Ir. Achmad Wiluleng Ekawati, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal : 08 NOV 2016



## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Iceu Ismail Puteri

125080300111074

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar - besarnya kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan saya kenikmatan yang luar biasa dalam hal fisik yaitu tangan dan kaki sehingga saya dapat melakukan dan mengerjakan laporan penelitian saya hingga tingkat yang akhir ini serta rohani dimana saya selalu diberikan kesabaran dan hati ikhlas atas apa yang telah terjadi di hidup saya saat ini.
2. Keluarga besar saya, Papa Ece Gofar Ismail A.Pi., S.Pi., MP dan Mama Endang Iriani S.Sos yang telah memberikan support saya dalam hal doa dan materi sehingga saya tetap kuat dan tabah di kota perantauan meskipun tiap minggu selalu pulang, kakak kandung saya Igo Sukma Pratama S.Pi beserta istri yang telah membantu saya dalam pembuatan data excel, dan tak lupa juga keluarga besar Tanu dan keluarga besar Sukabumi yang telah mendoakan saya.
3. Bapak Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku dosen pembimbing 1 yang memberikan bimbingan, motivasi, serta masukan yang bermanfaat dalam penulisan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP selaku dosen pembimbing 2 yang memberikan bimbingan, motivasi, serta masukan yang bermanfaat dalam penulisan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Ir. Hardoko, MS selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
6. Teman – teman terdekat saya Geng Cucok yang terbentuk sejak tahun perkuliahan pertama ada Fildza Astri Yuliafni, Ika Nur, Bela Pramadyani P, Aminati Husna, dan Ananda Putri C, yang telah memberikan motivasi,

semangat, dukungan, bantuan dan selalu ada setiap saat saya membutuhkan kalian.

7. Teman – teman satu tim dengan sebutan tim bakteri bersatu (Devina Irsyah Budi, Kharis Laili Y., Nurkholifah Dwi R., Achmad Hamdi dan Arif Muchsin) yang senantiasa bersama-sama, becanda tawa, sedih bareng, susah bareng saat penelitian sampai berada di tahap akhir skripsi ini.
8. Sahabat-sahabat tercinta THP angkatan 2012, yang selalu setia memberi motivasi, semangat, doa serta keceriaan. Semoga kelak kita lebih bisa menjadi orang berguna bagi keluarga, masyarakat dan negara.
9. Teman-teman kos kertosari No. 3 yang telah memberikan dukungan saat akan menjalani tahapan demi tahapan proses perkuliahan.
10. Teman-teman SMA yang telah memberikan motivasi dan dukungan via media sosial (WA, BBM, LINE, PATH, IG) semoga kita bertemu dengan kesuksesan masing-masing ya.
11. MANZYGOT (Cita Mahardika Haryono) yang telah memberikan kado-kado, curhatan, dan gosip seputar kehidupan, percintaan, dan pendidikan setiap saat.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhirnya, kesempurnaan hanya milik Allah SWT dan kekurangan hanya milik kita sebagai manusia, sehingga penulis menyadari laporan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dalam memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkan.

Malang,

Penulis

## RINGKASAN

**Iceu Ismail Puteri (NIM 125080300111074).** Skripsi tentang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera Gymnorhiza*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS** dan **Dr.Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**)

*Bruguiera gymnorhiza* 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. Potensi mangrove untuk bahan obat alami sangat besar karena mangrove diketahui sebagai sumber dari beberapa senyawa bioaktif. Di Indonesia, tumbuhan mangrove *B. gymnorhiza* digunakan sebagai obat diare dan malaria. Penyebab penyakit diare berasal dari *Staphylococcus aureus*. Diduga pada jenis mangrove *B. gymnorhiza* khususnya pada kulit batang dapat digunakan sebagai antibakteri alami.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan suhu dan konsentrasi terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam *B. gymnorhiza*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Ilmu Kelautan, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia PUSPITEK LIPI Serpong.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian ini meliputi ekstraksi, uji kadar air, uji fitokimia, uji daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan identifikasi senyawa menggunakan LC-MS. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 2 faktor dan 3 ulangan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suhu pengeringan tertinggi 50°C dan konsentrasi tertinggi ekstrak kulit batang *B. gymnorhiza* untuk menghambat *Staphylococcus aureus* adalah 20.000 ppm. Suhu pengeringan terbaik dalam ekstrak kulit batang *B. gymnorhiza* yaitu dengan suhu 50°C. Sedangkan pada konsentrasi terbaik ekstrak kulit batang *B. gymnorhiza* adalah 20.000 ppm.

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstrak murni *B. gymnorhiza* dengan mengidentifikasi senyawa pada *B. gymnorhiza* menggunakan analisis spektrofotometri UV-Vis, FT-IR dan NMR.

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan usulan Skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera Gymnorrhiza*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam penyusunannya, penulis banyak mengambil literatur yang bersumber dari *text book*, artikel, jurnal, maupun *prosiding* seminar untuk dijadikan tinjauan pustaka yang dapat mendukung pembuatan laporan Skripsi tersebut. Selain itu, penulis juga memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga segala informasi, ilmu dan materi terkait bahasan laporan Skripsi dapat dengan mudah diperoleh.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasa banyak kekurang tepatan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan khususnya dan bagi pembaca pada umumnya, terutama para Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Malang, Agustus 2016

Penyusun

DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Hipotesis .....	4
1.5 Kegunaan Penelitian .....	5
1.6 Tempat dan Waktu .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Mangrove Lindur <i>Bruguiera gymnorhiza</i> .....	6
2.2 Ekstraksi Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorhiza</i> .....	6
2.3 Pelarut .....	8
2.4 Senyawa Fitokimia .....	9
2.5 Aktivitas Bakteri .....	11
2.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
2.6 Aktivitas Antibakteri .....	13
2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri .....	14
2.6.2 Mekanisme Penghambatan Antibakteri .....	15
2.7 Identifikasi Senyawa Antibakteri .....	15
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>17</b>
3.1 Materi Penelitian .....	17
3.1.1 Bahan Penelitian .....	17
3.1.2 Alat Penelitian .....	17
3.2 Metode Penelitian .....	18
3.3 Rancangan Penelitian .....	18
3.4 Prosedur Penelitian .....	20
3.5 Parameter Uji .....	24
3.6 Analisa Data .....	25
3.7 Uji Kromatografi Kolom (Hostettmann <i>et al.</i> , 1995 yang Telah Dimodifikasi) .....	25
<b>4. PEMBAHASAN</b> .....	<b>26</b>
4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram) .....	26
4.1 Hasil Uji MIC dan MBC .....	30
4.3 Uji Fitokimia .....	32
4.4 Analisa Senyawa Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Lindur <i>Bruguiera gymnorhiza</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34

<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>44</b>
5.1 Kesimpulan .....	44
5.2 Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>49</b>



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Senyawa Aktif .....	8
2. Model Pengamatan Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
3. Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
4. Kandungan Fitokimia Ekstrak Kulit Batang <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
5. Hasil analisis LC-MS Fraksi A ekstrak kasar kulit batang lindur mangrove <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> dengan pelarut metanol .....	38
6. Hasil analisis LC-MS Fraksi B ekstrak kasar kulit batang lindur mangrove <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> dengan pelarut metanol .....	42
7. Hasil analisis LC-MS Fraksi C ekstrak kasar kulit batang lindur mangrove <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> dengan pelarut metanol .....	45

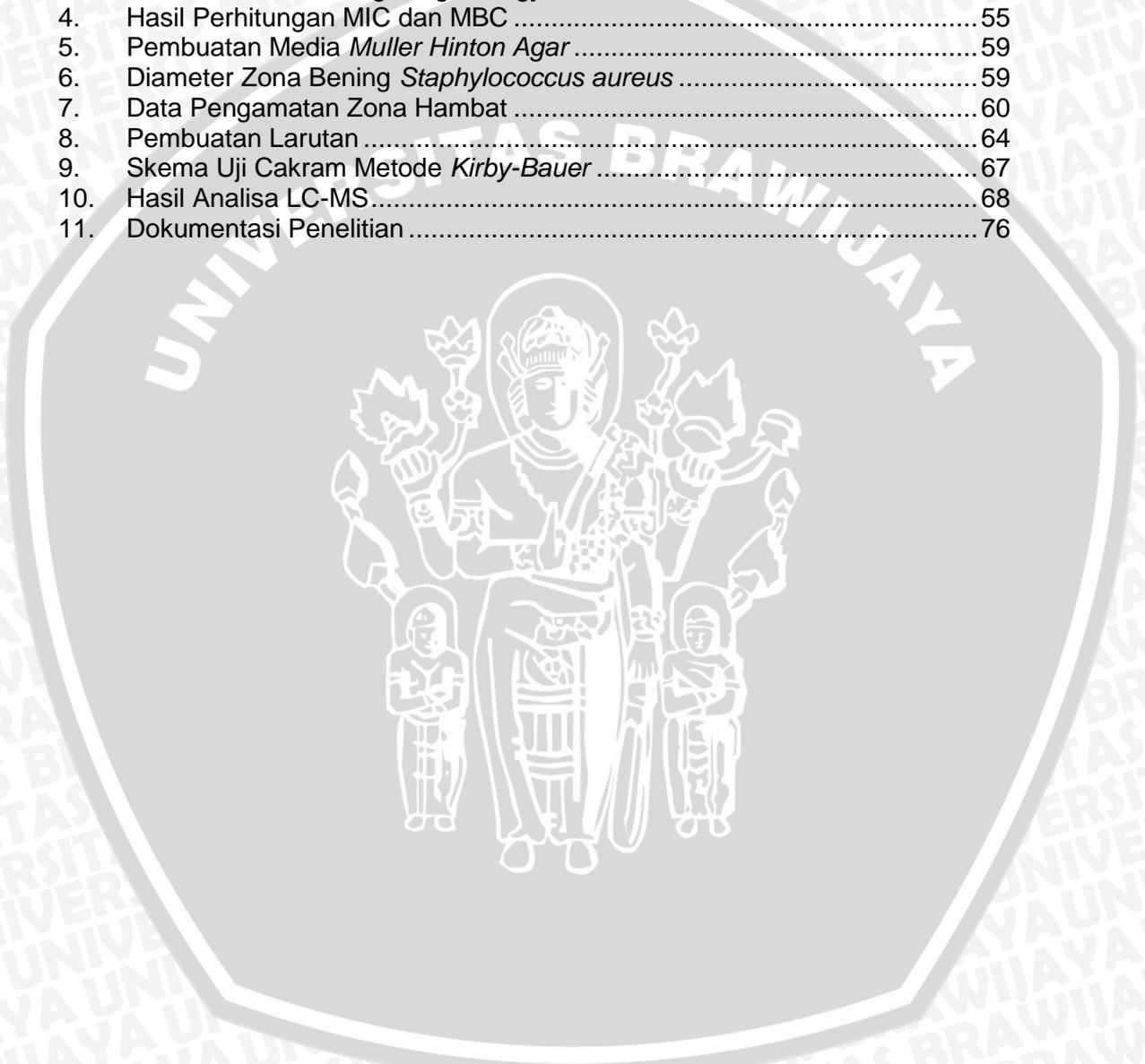


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram Alir Sampel .....	23
2. Histogram Hubungan Suhu dan Konsentrasi Terhadap Rerata Hasil Zona Hambat dan Hasil Uji Lanjut UJD 5% Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> ) <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
3. Spektrum LC Fraksi A Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> ) .....	37
4. Spektrum MS Rt 2,70 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	37
5. Nilai MIC Ekstrak Kasar Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorhiza</i> Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
6. Nilai MBC Ekstrak Kasar Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorhiza</i> Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
7. Spektrum MS Rt 3,82 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	38
8. Spektrum MS Rt 7,50 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	38
9. Spektrum MS Rt 9,67 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	39
10. Struktur Senyawa 3', 4', 7' – <i>Trihydroxyflavone</i> .....	40
11. Spektrum LC Fraksi B Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> ) .....	40
12. Spektrum MS Rt 2,86 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	41
13. Spektrum MS Rt 4,37 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	41
14. Spektrum MS Rt 6,12 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	41
15. Spektrum MS Rt 7,59 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	42
16. Spektrum MS Rt 9,07 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	42
17. Spektrum MS Rt 11,16 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> ) .....	42
18. Spektrum LC Fraksi C Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> ) .....	43
19. Spektrum MS Rt 3,05 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	44
20. Spektrum MS Rt 4,91 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	44
21. Spektrum MS Rt 7,12 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	44
22. Spektrum MS Rt 8,86 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	45
23. Spektrum MS Rt 11,57 Ekstrak Kulit Batang Lindur ( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> ) .....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Rendemen Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> .....	51
2. Rata-rata Rendemen Ekstrak Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> .....	52
3. Kadar Air Kulit Batang <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> .....	53
4. Hasil Perhitungan MIC dan MBC .....	55
5. Pembuatan Media <i>Muller Hinton Agar</i> .....	59
6. Diameter Zona Bening <i>Staphylococcus aureus</i> .....	59
7. Data Pengamatan Zona Hambat .....	60
8. Pembuatan Larutan .....	64
9. Skema Uji Cakram Metode <i>Kirby-Bauer</i> .....	67
10. Hasil Analisa LC-MS.....	68
11. Dokumentasi Penelitian .....	76



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Berbagai macam penyakit dapat menjadikan masalah utama bagi kesehatan tubuh masyarakat Indonesia khususnya. Pengobatan menggunakan antibiotik sintetis biasanya dilakukan untuk mengatasi infeksi yang diderita. Namun penggunaan antibiotik sintetis terkadang terdapat efek samping terhadap tubuh yang artinya tubuh tidak bisa menerima antibiotik sintesis tersebut.

*Bruguiera gymnorhiza* 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. *B. Gymnorhiza* adalah salah satu mangrove yang memiliki penyebaran terbesar di kawasan Pasifik. Potensi mangrove untuk bahan obat alami sangat besar karena mangrove diketahui sebagai sumber dari beberapa senyawa bioaktif (Setyawan dan Winarno 2006). Menurut Bandaranayake (2002) senyawa bioaktif yang terkandung pada mangrove yaitu alkaloid, senyawa fenolik, steroid, triterpenoid, flavonoid, kuinon, dan produk metabolit sekunder lainnya. Pada umumnya kandungan senyawa yang terdapat pada mangrove *B. Gymnorhiza* adalah senyawa *alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, terpenoid, dan steroid*. Senyawa bioaktif umumnya banyak terdapat pada tumbuhan namun tidak menutup kemungkinan terdapat pada hewan yang berasosiasi dengan tumbuhan. Senyawa bioaktif dapat berupa glikosida, alkaloid, terpenoid, maupun flavonoid yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Suarsana et al. 2008)

Mangrove telah lama dimanfaatkan dalam berbagai macam keperluan manusia. Pemanfaatan mangrove umumnya digunakan dalam bahan makanan, penghasil kayu dalam bahan bangunan dan kayu bakar, serta digunakan sebagai

obat tradisional. Salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang memiliki banyak manfaat misalnya tumbuhan bakau *B. gymnorrhiza*. Di Indonesia, tumbuhan mangrove *B. gymnorrhiza* digunakan sebagai obat diare dan malaria. Beberapa data yang diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa adanya senyawa aktif anti inflamasi, anti oksidan, anti bakteri dan anti virus dari ekstrak berbagai spesies mangrove (Withanawasam, 2002). Hasil penelitian Haq *et al.* (2011) menjelaskan bahwa ekstraksi daun dan kulit batang *B. gymnorrhiza* dengan menggunakan pelarut etanol dan metanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sedangkan ekstraksi dengan menggunakan pelarut kloroform tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba.

Salah satu jenis tanaman mangrove yang memiliki potensi sebagai antibakteri adalah *B. gymnorrhiza* atau tanaman lindur. Bagian dari tanaman *B. gymnorrhiza* yang berpotensi adalah kulit batang. Kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* mengandung senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengganti obat kimia yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit seperti diare, dimana penyakit diare disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Pada penelitian Putu *et al.*, (2015) kulit batang mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid, fenol, dan saponin. Kelebihan ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* adalah dengan adanya senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sedangkan kelemahannya adalah diameter zona hambat yang dihasilkan dalam proses penanaman bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhii* tergolong lemah. Hal tersebut dikarenakan ekstrak mangrove yang digunakan dalam bentuk kasar (*crude extract*). Menurut Lutfiyanti *et al.*, (2012) menyatakan bahwa terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu

pertumbuhan dan perkembangan spora jamur. Senyawa flavonoid banyak ditemukan pada seluruh bagian tumbuhan hijau diantaranya akar, daun, kulit batang, benang sari, bunga, buah dan biji buah. Flavonoid memiliki efek pada organisme yaitu antihipertensi. Untuk flavonoid jenis isoflavon dapat merangsang pembentukan estrogen, sebagai antifungus dan insketisidal (Nugrahaningtyas *et al.*, 2005). Penyebab penyakit diare di Indonesia lebih sering diakibatkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella sp.*, selain *Shigella sp.*, dan *Campylobacter*. Menurut Ajizah (2004) bahwa pengobatan diare dapat dilakukan dengan pengobatan simptomatik dan pengobatan kausatif. Untuk pengobatan kausatif kuman penyebabnya dimatikan dengan zat antibakteri sedangkan simptomatik hanya bertujuan untuk meringankan, menyembuhkan gejala, dan bukan mengobati sumber penyakit. Namun apabila pengobatan menggunakan bahan kimia yang dapat membahayakan organ dalam tubuh seperti halnya hati serta ginjal dan hanya meringankan gejala penyakit tersebut. Kulit batang memiliki kelebihan yaitu memiliki senyawa bioaktif sebagai senyawa antibakteri. Senyawa bioaktif umumnya banyak terdapat pada tumbuhan namun tidak menutup kemungkinan terdapat pada hewan yang berasosiasi dengan tumbuhan. Akan tetapi *B. gymnorrhiza* memiliki kadar protein yang cukup rendah sesuai dengan hasil penelitian Putu *et al.*, (2015) kulit batang tanaman mangrove *B. gymnorrhiza* memiliki kadar protein 1,84%. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan habitat bahan baku yang digunakan. Kondisi nutrisi yang terkandung di habitat memberikan pengaruh terhadap komposisi kimia pada organisme yang hidup di wilayah tersebut. Selanjutnya ekstrak kulit batang *B. gymnorrhiza* diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. untuk melihat kemampuan senyawa bioaktif ekstrak kulit batang *B. gymnorrhiza* dalam menghambat kedua mikroba tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Pada suhu pengeringan berapa dalam ekstrak kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ?
- Senyawa bioaktif apa saja yang terkandung pada kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* dan berperan sebagai antibakteri alami ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstraksi *B. gymnorrhiza* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan suhu terbaik pada proses pengeringan kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* dengan variasi suhu yang berbeda-beda (30°C, 40°C, 50°C) yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Mengidentifikasi senyawa yang didapat pada kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* menggunakan LC-MS

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang menjadi dasar pada penelitian ini adalah :

1. Dengan proses pengeringan kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* pada suhu 50°C mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

2. Terdapat senyawa bioaktif pada kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan :

- Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kegunaan kulit batang mangrove *B. Gymnorrhiza*.
- Masyarakat dapat memanfaatkan kulit batang mangrove *B. Gymnorrhiza* sebagai antibakteri alami yang potensial.

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Agustus 2016 di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Perekayasa Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan PUSPITEK LIPI Serpong, Laboratorium Mekatronika Alat dan Mesin Agroindustri Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Mangrove *Bruguiera gymnorhiza*

Mangrove *B. gymnorhiza* 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).

Secara umum *B. gymnorhiza* adalah sebuah tanaman mangrove yang menjadi dinding pada hutan mangrove dan secara luas didistribusikan di Thailand dan Asia Afrika, Afrika selatan dan timur, Australia, Mikronesia dan Polinesia (Hou, 1970). Di Cina, buah-buahan yang berasal dari *B. gymnorhiza* telah digunakan sebagai pengobatan diare (Bamroongruga, 1999).

### 2.2 Ekstraksi Kulit Batang *Bruguiera gymnorhiza*

Pengambilan bahan aktif yang bersifat sebagai antibakteri dilakukan dengan cara ekstraksi. Tujuan dari ekstraksi antara lain adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat pada bahan alam tersebut. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut,

dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka yang kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987).

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. Sampel kering ditimbang sebanyak 50 g dan dilarutkan dalam 300 ml metanol pada tabung erlenmeyer selama 2 x 24 jam. Ekstrak kemudian dipisahkan dengan disaring menggunakan kertas Whatman no.1. Kemudian ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* 50°C dan disimpan di botol vial pada suhu 4°C.

Pada proses maserasi, pelarut akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga-rongga sehingga komponen bioaktif akan mudah larut. Perbedaan konsentrasi antara larutan komponen bioaktif di dalam sel dengan di luar sel menyebabkan larutan yang terpekat akan keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali sehingga terjadi keseimbangan antara larutan di luar dengan di dalam sel (Nur dan Adijuwana, 1989).

Kelarutan zat dalam pelarut bergantung pada kepolarannya. Zat yang polar hanya larut dalam pelarut polar begitu pula zat non polar hanya akan larut dalam pelarut non polar. Pemilihan pelarut dalam ekstraksi harus memperhatikan selektivitas pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi komponen sasaran, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas sebuah pelarut, dan tipe pelarut (Harborne, 1987). Ekstraksi beberapa kali dengan pelarut yang lebih sedikit akan lebih efektif dibandingkan dengan ekstraksi satu kali dengan semua pelarut sekaligus (Nur dan Adijuwana, 1989).

### 2.3 Pelarut

Jumlah pelarut yang berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak mampu mengestrak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja secara optimal. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan berbagai macam faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : murah dan mudah diperoleh, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Susanto, 1999).

Terdapat dua pertimbangan utama dalam memilih jenis-jenis pelarut yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut yang tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi antara lain aseton, etil diklorida, etanol, heksana, isopropyl alcohol, dan metanol. Pada umumnya ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan), pelarut yang kepolarannya menengah (diklorometan atau etil asetat), serta pelarut yang bersifat polar (etanol atau metanol) (Hikmah, 2007). Jenis-jenis pelarut yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi senyawa dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1. Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Senyawa Aktif**

Air	Etanol	Metanol	Klorofom	Dikloro Etanol	Eter	Aseton
Antosianin	Tanin	Antosianin	Terpenoid	Terpenoid	Alkaloid	Falavon
Pati	Polipenol	Terpenoid	Flavonoid		Terpenoid	
Tanin	Poliasetilen	Saponin			Coumarin	
Saponin	Flavonol	Tanin			Asam	
Terpenoid	Terpenoid	Xanthosillin			Lemak	
Polipeptida	Sterol	Totarol				
Lectin	Alkaloid	Quassinoid				
	Propolis	Lakton				
		Flavon				
		Phenone				
		Polifenol				

Sumber : Kusumaningtyas (2008)

## 2.4 Senyawa Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diujikan dengan sistem biologi. Idealnya untuk analisis fitokimia harus digunakan jaringan tumbuhan segar. Cara lain, tumbuhan dapat dikeringkan, pengeringan harus dilakukan secepatnya tanpa menggunakan suhu tinggi, lebih baik dengan aliran udara yang baik untuk mencegah perubahan kimia yang terlalu banyak (Harborne, 1987).

Alkaloid adalah senyawa alami amina, baik pada tanaman, hewan, ataupun jamur dan merupakan produk yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder, saat ini diketahui sebanyak 5.500 jenis alkaloid (Harborne, 1987). Alkaloid sebagian besar terdiri dari komponen ammonia berbasis nitrogen yang disintesis dari asam amino. Senyawa ini bersifat basa karena adanya atom nitrogen. Sebagian besar alkaloid terdapat pada padatan yaitu atropine, beberapa berbentuk cairan berisi karbon, hidrogen dan nitrogen (Doughari, 2009). Bandaranayake (2002) mengemukakan bahwa alkaloid memiliki banyak aktivitas farmakologi. Singh *et al.* (2011) dalam penelitiannya melaporkan bahwa alkaloid yang diisolasi dari tumbuhan *Prosopis juliflora* dan memiliki aktivitas antibakteri dengan spektrum luas.

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yaitu nisbi rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Triterpenoid berupa senyawa tidak berwarna, berbentuk kristal, seringkali bertitik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tidak ada kereaktifan kimianya (Harborne, 1987). Hasil penelitian yang dilakukan Ravikumar *et al.* (2011) menunjukkan bahwa senyawa terpenoid terkandung dalam jumlah banyak pada ekstrak *A. marina*, sedangkan jumlahnya sedikit pada

ekstrak *Ceriops decandra* dan *Bruguiera cylindrica*. Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, mempunyai ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil (Harborne, 1987). Michalowicz (2007) mengemukakan bahwa senyawa fenol tidak berwarna, mengkristal, larut dalam air dan pelarut organik. Ravikumar *et al.* (2011) menemukan bahwa senyawa polifenol terkandung pada *A. marina* dalam jumlah kecil.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari ribuan senyawa fenol, tapi fenol monosiklik sederhana, fenilpropanoid dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah besar. Flavonoid merupakan senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat alami (Rohyami, 2008). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air (Harborne, 1987). Penelitian yang dilakukan oleh Prabhu dan Guruvayoorappan (2012) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *A. marina* mengandung senyawa flavonoid antara lain luteolin 7-*o*-methylether, galactoside analogue, quercetin dan kaempferol. Pada penelitian Bachtiar (2010) menyatakan bahwa hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan mangrove yang berjenis *Rhizophora* dan *Avicennia* yang berada di Kabupaten Ciamis mengandung senyawa flavonoid dan saponin.

Saponin adalah molekul gula yang tergabung dengan aglikon triterpenoid atau steroid. Saponin terbagi menjadi dua kelompok utama yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin larut dalam air namun tidak larut dalam eter, serta menghasilkan aglikon (Doughari, 2012). Francis *et al.* (2002) melaporkan saponin juga dapat ditemukan pada organisme laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Hasil penelitian Ravikumar *et al.* (2011) menunjukkan saponin terkandung dalam jumlah sedikit pada ekstrak daun *A. marina*.

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh khususnya dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harborne, 1987). Menurut Clinton (2009) tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin kondensasi dan tanin hidrolisis. Tanin hidrolisis terbentuk dari unit asam galat atau asam epigalat yang terkondensasi pada molekul gula. Tanin kondensasi adalah dimer atau oligomer dari katekin, epikatekin dan unit sejenisnya. Berdasarkan penelitian Hong *et al.* (2011), tanin hidrolisis telah berhasil diisolasi dari *Rhizophora apiculata*. 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). Menurut Awika *et al.* (2009), kadar tanin yang tinggi menyebabkan rasa sepat dan pahit pada bahan makanan. Senyawa ini bersifat karsinogenik apabila dikonsumsi dalam jumlah berlebih dan kontinyu namun dalam jumlah kecil dapat berfungsi sebagai antioksidan. Batas aman untuk kandungan tanin dalam bahan makanan adalah 560 mg/kg berat badan/hari.

## 2.5 Aktivitas Bakteri

Bakteri merupakan sel prokariotik yang bersifat uniseluler. Sel bakteri mempunyai bentuk bulat, batang atau spiral. Umumnya bakteri berdiameter 0,5-1,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri menimbulkan berbagai perubahan kimiawi pada substansi yang ditumbuhinya, mampu menghancurkan banyak zat dan dapat menyebabkan penyakit (Pelczar dan Chan, 1986). Feliatra *et al.* (2004) menyatakan bahwa beberapa jenis bakteri dapat menguntungkan bagi inang yang ditinggalinya yang dinamakan bakteri probiotik.

Bakteri dapat dibedakan menjadi bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif berdasarkan perbedaan pada komposisi dan struktur dinding selnya (Pelczar dan Chan, 1986). Dinding sel Gram positif tersusun komponen pokok yang disebut *mucocompleks*. *Mucocompleks* ini adalah polimer dari gula amino N-asetilglukosamin dan asam N-asetil-muramic, peptide alanin, asam glutamat, dan asam diaminopimelik atau lisin. Dinding sel bakteri gram positif juga terdiri dari polimer ribitol fosfat yang disebut asam teikhik dan sebuah polimer gliserol fosfat. Dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks, terdiri dari dua *mucocompleks* dan satu kompleks lipoprotein-polisakarida, yang terdiri dari semua jenis asam amino (Jawetz *et al.* 1960).

### 2.5.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* merupakan bakteri berbentuk bulat yang terdapat dalam bentuk tunggal, berpasangan atau berkelompok seperti buah anggur. Bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri kokus Gram positif. *Staphylococcus aureus* dapat memproduksi pigmen-pigmen berwarna kuning sampai jingga. Kebanyakan galur *S. aureus* bersifat patogen dan memproduksi enterotoksin yang tahan panas (Fardiaz 1989). Makanan yang mengandung toksin jika masuk ke sistem pencernaan manusia akan menimbulkan efek muntah-muntah, mual dan diare setelah 6 jam (Madigan, 2009).

### 2.6 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan obat atau berupa senyawa yang dapat digunakan untuk membunuh bakteri, dalam hal ini khususnya bakteri yang dapat merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, terdapat antibakteri yang mempunyai sifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada juga yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida).

Menurut Jawetz *et al.*, (2001), antimikroba harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : (1) mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas (*broad spectrum antibacteria*), (2) tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen, (3) tidak menimbulkan efek samping (*side effect*) yang buruk pada tubuh seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya, serta (4) tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh seperti flora usus atau flora kulit. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tumbuhan mangrove mengandung senyawa bioaktif yang bersifat antimikroba. Penelitian yang dilakukan Saad *et al.* (2012) menunjukkan tanin yang terdapat pada *Soneratia* telah dibuktikan memiliki aktivitas antibakteri.

Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan dari mikroorganisme, yang memiliki sifat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Sifat antibiotik menurut Waluyo (2008) adalah sebagai berikut :

- a) Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak inang
- b) Bersifat bakterisidal, bukan bakteriostatik
- c) Tidak menyebabkan resistensi pada kuman
- d) Berspektrum luas (efektif digunakan bagi banyak spesies bakteri)
- e) Tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam waktu lama
- f) Jika bersifat bakterisidal, cepat dicapai dan bertahan untuk waktu yang lebih lama di dalam tubuh

### **2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri**

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 (Kusmiyati dan Agustini, 2006). 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. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994). Menurut Jawetz *et al.* (2001), semakin besar diameternya maka semakin terhambat pertumbuhannya, sehingga diperlukan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri itu resisten atau peka terhadap suatu antibiotik. Faktor yang mempengaruhi metode Kirby-Bauer (1996) antara lain : (1) konsentrasi mikroba uji, (2) konsentrasi antibiotik yang terdapat dalam cakram, (3) jenis antibiotik, serta (4) pH medium.

### **2.6.2 Mekanisme Penghambatan Antibakteri**

Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim (Pelczar dan Chan, 1988). Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Dinding sel sebagai komponen pertahanan sel bakteri mengalami kerusakan sehingga mengakibatkan senyawa metabolit sekunder dapat masuk lebih dalam dan mengganggu organel lain. Membran sel yang terletak tepat di bagian dalam dinding sel dapat dirusak oleh senyawa fenol, flavonoid, dan saponin. Beberapa dari senyawa tersebut dapat menguraikan fosfolipid menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat sehingga membran tidak dapat mempertahankan bentuk, akibatnya membran bocor, zat-zat dapat keluar masuk sel tanpa kendali sehingga metabolisme terganggu dan bakteri lisis. Senyawa tanin memiliki mekanisme mengkoagulasi dan mendenaturasi protein, serta dapat menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995).

Menurut Pradhika (2008), mekanisme kerja antibakteri untuk menghambat ataupun membunuh bakteri antara lain sebagai berikut : (1) menghambat sintesis dinding sel, (2) merusak permeabilitas membran sel, (3) menghambat sintesis RNA (proses transkripsi), serta (4) menghambat sintesis protein (proses translasi penghambat replikasi DNA).

## 2.7 Identifikasi Senyawa Antibakteri

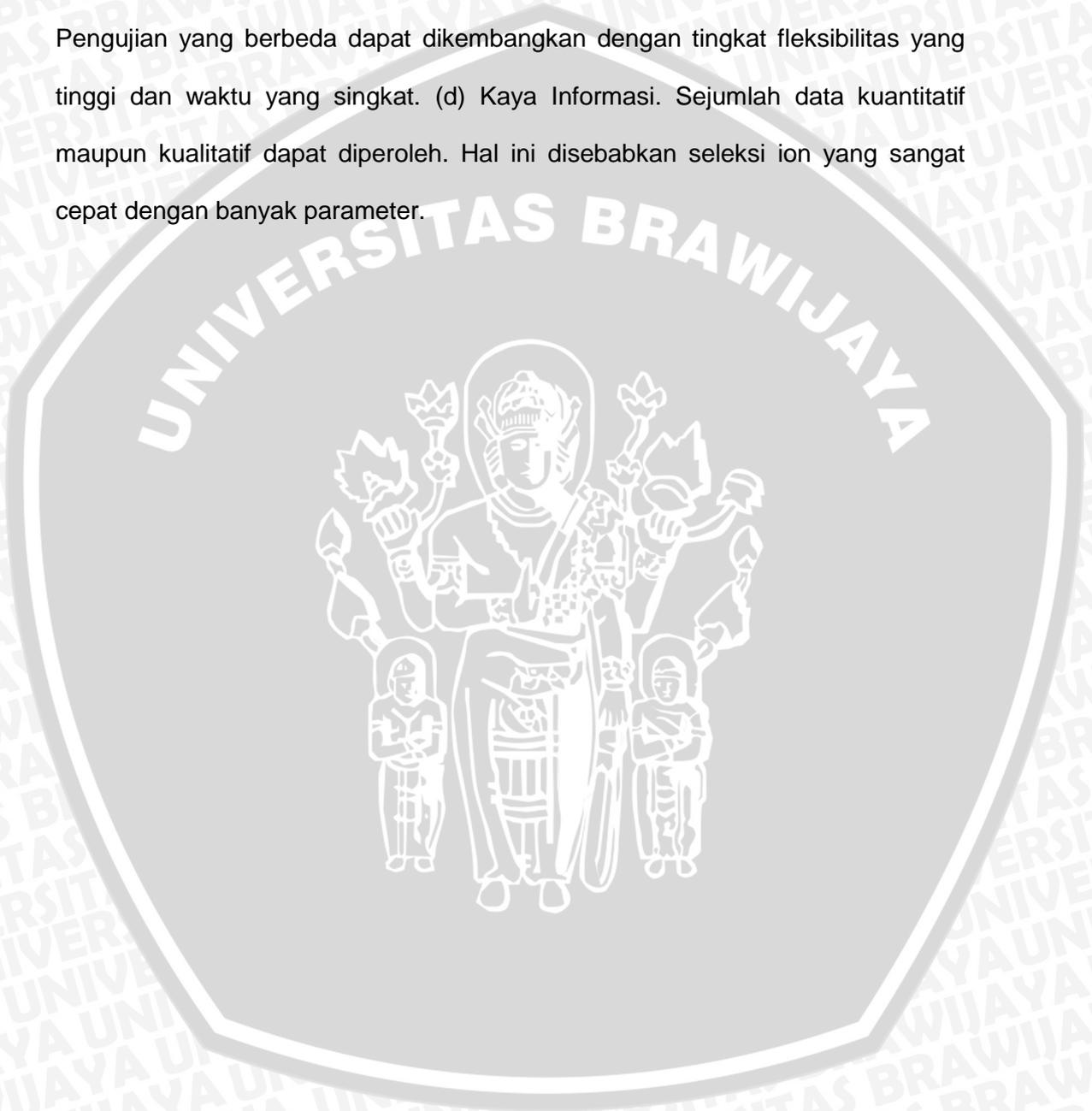
### - **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)**

Spektroskopi massa adalah alat yang berfungsi untuk menentukan dan mengidentifikasi komponen suatu senyawa. Alat ini dapat menginformasikan bobot molekul dan struktur senyawa organik. LC-MS (*liquid chromatography-mass spectrometry*) merupakan gabungan dari MS dan HPLC yang memiliki prinsip kerja dimana sampel dipisahkan dalam kolom kemudian diuapkan pada suhu tinggi dan diionisasikan. Kemudian difragmentasi ion yang terbentuk sesuai dengan rasio massa/muatan ( $m/z$ ) dan dideteksi secara elektrik (Maryam, 2007).

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilih dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka. Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menseleksi ion. Sistem LC-MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa. Masing-masing *ion source* dan *mass analyzer* memiliki kelebihan dan kekurangan sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (Anonymous-Agilent, 2001).

Kelebihan LC-MS menurut Vogeser dan Christoph (2008), antara lain : (a) Spesifik. Hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spektrometer massa sebagai detektor. (b) Aplikasi yang luas dengan sistem yang

praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spektrometer massa “klasik”, penerapan LC-MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500Da). Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi. (c) Fleksibilitas. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat. (d) Kaya Informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter.



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian terdiri dari bahan dan alat penelitian. Bahan dan alat penelitian pada penelitian ekstrak kulit batang kering *Bruguiera gymnorrhiza* dengan antara lain :

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian menggunakan kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dari daerah Pulokerto, Pasuruan, Jawa Timur dan bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan  $10^8$  koloni/mL biakan murni koleksi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bahan-bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi antara lain metanol PA, aquadest, kapas, kertas saring, aluminium foil, plastik. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia antara lain HCl, asetat anhidrat,  $\text{FeCl}_3$  10%, reagen Meyer,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, kloroform, serbuk magnesium, dan aquades. Untuk menguji daya hambat bakteri, bahan-bahan yang digunakan adalah media *Muller Hinton Agar* (MHA) MERCK, kertas cakram, aquades, *cotton swap* steril, DMSO 1% MERCK, antibiotik *streptomycin* dan alkohol 70%.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi *B. gymnorrhiza* adalah blender, botol bensin 1L, erlenmeyer 1000 ml, *rotary vacuum evaporator* merk IKA, corong, spatula, timbangan digital, gelas ukur 100 ml, botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji kadar air adalah botol timbang, oven, timbangan digital, desikator. Peralatan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah tabung reaksi, timbangan digital, pipet serelogis, gelas ukur, bola hisap, rak tabung reaksi. Peralatan yang dibutuhkan untuk uji antibakteri *Salmonella typhi* dan

*Staphylococcus aureus* adalah cawan petri, bunsen, pinset, triangle, autoklaf, mikropipet 0,1 mL, bluetip, LAF (*Laminar Air Flow*), beaker glass 100 ml, jangka sorong, erlenmeyer 500 ml, spatula, timbangan digital, gelas ukur, dan inkubator merk MEMMERT.

### 3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan deskriptif. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan deskriptif. 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. Dugaan sementara dibuktikan dengan melakukan uji daya hambat dari hasil pengeringan dengan oven *vaccum* sampel kulit batang *B. gymnorrhiza* terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penelitian utama yaitu dilakukan pengujian daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak kulit batang *B. gymnorrhiza* dengan perlakuan perbedaan suhu pengeringan (30°C, 40°C, 50°C). Selanjutnya perlakuan sampel segar dan perlakuan setelah dilakukan pengeringan diidentifikasi dengan LC-MS. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya senyawa bioaktif yang secara efektif digunakan sebagai penghambat bakteri tersebut.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian utama yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah suhu

pengeringan kulit batang *B. gymnorrhiza* (30°C, 40°C, dan 50°C). Faktor kedua adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kulit batang *B. gymnorrhiza* (5000 ppm, 10.000 ppm dan 20.000 ppm), antibiotik *streptomycin* (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

$\mu$  = Rataan umum

$\alpha_i$  = Pengaruh faktor A pada taraf ke-i

$\beta_j$  = 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

$\epsilon_{ijk}$  = Galat percobaan untuk faktor A taraf ke-l, faktor B level ke-j pada ulangan ke - k

Model data pengamatan diameter zona hambat ekstrak kulit batang

*Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel

2.

Tabel 2 Model Pengamatan Diameter Zona Hambat ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap *Staphylococcus aureus*.

Suhu	Konsentrasi	Ulangan(k)			Total (Y <sub>ij</sub> )
		I	II	III	
30°C	5000 ppm	1a1	1a2	1a3	Y1a
	10000 ppm	1b1	1b2	1b3	Y1b
	20000 ppm	1c1	1c2	2c3	Y1c
40°C	5000 ppm	2a1	2a2	2a3	Y2a
	10000 ppm	2b1	2b2	2b3	Y2b
	20000 ppm	2c1	2c2	3c3	Y2c
50°C	5000 ppm	3a1	3a2	3a3	Y3a
	10000 ppm	3b1	3b2	3b3	Y3b
	20000 ppm	3c1	3c2	3c3	Y3c
<b>Total (y<sub>k</sub>)</b>					

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### - Ekstraksi *B. gymnorrhiza* (Nurdiani *et al.*, 2012 yang dimodifikasi)

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi yaitu merendam kulit batang *B. gymnorrhiza* dengan pelarut metanol (1:4 b/v). Sampel kulit batang mangrove *B. gymnorrhiza* dicuci bersih dan diangin-anginkan. Kemudian sampel dioven untuk mengurangi kadar air menggunakan variasi suhu yaitu 30°C, 40°C dan 50°C. Sampel hasil oven dihaluskan dan masing-masing ditimbang sebanyak 200 g, kemudian direndam dalam 800 ml metanol selama 2 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas Whatman No. 42 dan pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak hasil evaporasi disemprot dengan gas nitrogen agar ekstrak terbebas dari pelarut. Ekstrak kemudian disimpan pada suhu 5°C untuk digunakan pada analisa selanjutnya.

#### - Uji Kadar Air Ekstrak Kasar *B. gymnorrhiza* (Untoro *et al.*, 2012)

Ekstrak kasar dari kulit batang *B. gymnorrhiza* dilakukan pengujian kadar air menggunakan metode pengeringan atau oven (*Thermogravimetri*). Botol timbang diberi kode sesuai dengan kode sampel ditimbang terlebih dahulu sebagai berat botol timbang sebelum dioven. Botol timbang dipanaskan dalam oven pada suhu 100<sup>o</sup>–105<sup>o</sup>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<sup>o</sup>–105<sup>o</sup>C selama 4-6 jam. Selanjutnya botol timbang berisi sampel dimasukkan ke desikator selama 15 menit dan ditimbang. Setelah didapatkan bobot konstan kadar air dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Air} : \frac{(BC+BS(\text{sebelum dioven})) - (BC+BS(\text{setela h dioven}))}{BS} \times 100 \%$$

Keterangan :

BC : Berat Cawan / botol timbang

BS : Berat Sampel

- **Uji Fitokimia Ekstrak Kasar *B. gymnorrhiza***

Pengujian fitokimia ekstrak kasar dari kulit batang *B. gymnorrhiza* dilakukan dengan menimbang masing-masing sampel sebanyak 2 gr 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).

• **Uji Alkaloid**

Sampel sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 ml HCl dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Meyer. Hasil uji dianggap positif mengandung alkaloid apabila endapan berwarna putih kekuningan.

• **Uji Flavonoid**

Sampel sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

• **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.

- **Uji Terpenoid**

Sampel sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 ml kloroform, 3 ml asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) perlahan ditambahkan sampai terbentuk lapisan berwarna. Warna merah kecoklatan menunjukkan positif terpenoid.

- **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.

- **Uji Saponin**

Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml aquades, kemudian kocok 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 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar *B. gymnorrhiza* (Prihanto *et al.*, 2011 yang dimodifikasi)**

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar kulit batang *B. gymnorrhiza* menggunakan metode cakram Kirby Bauer. Kertas cakram direndam selama 24 jam pada ekstrak dengan konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, *streptomycin* (sebagai kontrol positif) dan DMSO 10% (sebagai blanko). Cawan petri diisi dengan 20 ml media *Muller Hinton Agar* (MHA) dan ditunggu hingga media padat. Selanjutnya Bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan  $10^8$  CFU/ml diambil sebanyak 0,1 ml, kemudian disebar secara merata diatas media MHA dan dibiarkan selama 5 menit. Kertas cakram yang telah direndam ekstrak ditempatkan diatas permukaan media MHA yang telah

disebari bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Diameter penghambatan dihitung menggunakan jangka sorong.

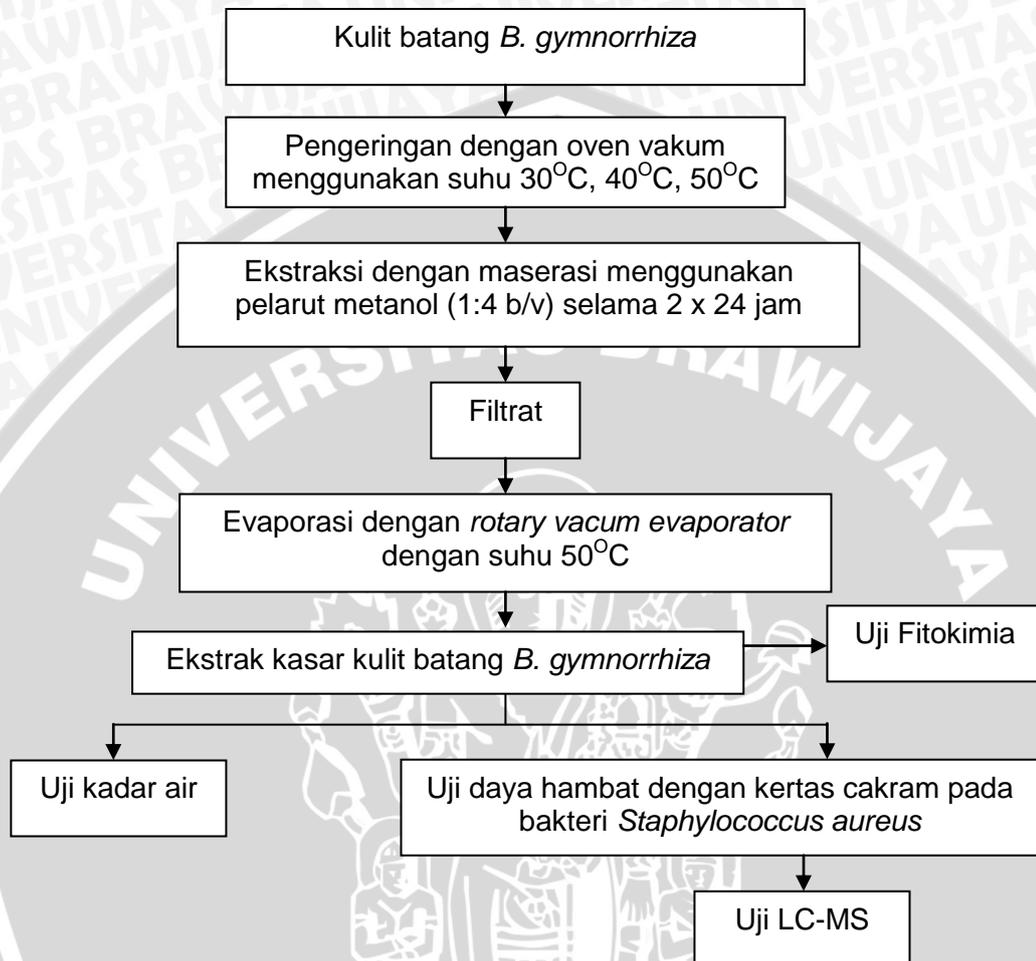
Beberapa metode pengujian untuk menentukan kemampuan antibiotik adalah metode Kirby–Bauer dan metode MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Metode Kirby–Bauer adalah dengan menyebarkan mikroorganisme pada lempengan agar, kemudian kertas cakram yang mengandung antibiotik diletakkan di atas lempengan agar tersebut. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antibiotik dapat dilihat dengan terbentuknya wilayah jernih pada sekitar pertumbuhan mikroorganisme. Luasnya wilayah jernih menunjukkan adanya kepekaan mikroorganisme terhadap antibiotik dan kecepatan antibiotik berdifusi dalam medium. Pengujian kemampuan antimikroba juga dapat melalui MIC. MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) diartikan sebagai konsentrasi terendah bahan antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. MIC dapat digunakan sebagai indikator konsentrasi antimikroba yang mencegah pertumbuhan organisme setelah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan memberikan petunjuk dosis yang diperlukan untuk pengobatan penyakit (Lay, 1994).

Pengujian kemampuan antibakteri lainnya adalah MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*). MBC adalah konsentrasi terendah pada antimikroba yang telah ditanam pada media (Andrew, 2006). Uji ini dapat dilakukan setelah uji MIC untuk mengetahui pertumbuhan dari bakteri pada media pengenceran (Sudarno, *et al.* 2011).

#### - **Identifikasi Senyawa Antibakteri *B. gymnorhiza***

Fraksi kulit batang *B. gymnorhiza* yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar diidentifikasi senyawanya menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry*. Hasil yang diperoleh kemudian digunakan untuk mendeskripsikan

senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Diagram alir sampel setelah dilakukan pengeringan dapat dilihat pada **Gambar 1**.



**Gambar 1. Diagram Alir Sampel Ekstrak Kulit Batang Lindur**

### 3.5 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan dalam penelitian utama yaitu penentuan daya hambat kulit batang *B. gymnorrhiza* terbaik dilakukan dengan 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 LC-MS.

### 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  $\alpha$  0,05. Uji lanjut digunakan adalah BNT 5%.

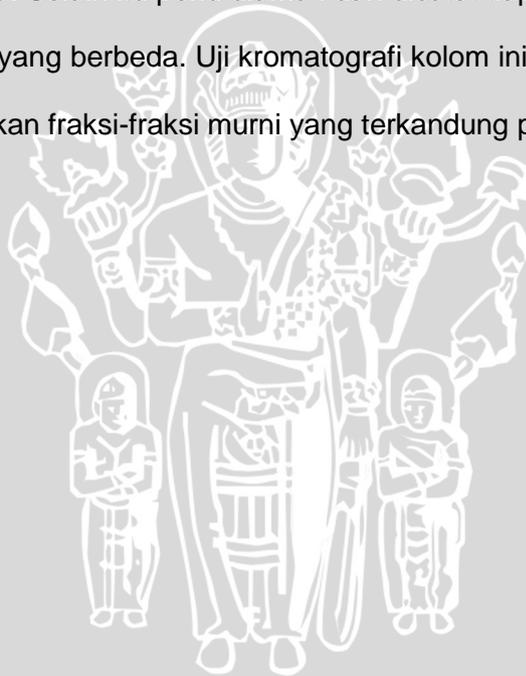
### 3.7 Uji Kromatografi Kolom (Hostettmann *et al.*, 1995 yang telah Dimodifikasi)

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). Fase diam yang digunakan yaitu silika gel ( $\text{SiO}_2$ ) berukuran 60 mesh, ditimbang sebanyak 40 gram dengan menggunakan timbangan digital. Setelah itu dilarutkan silika gel dalam fase gerak perbandingan 8:2 secukupnya dan distirer dengan kecepatan 150 rpm selama 1 jam.

Disiapkan kolom dan selanjutnya dipasang pada statif. 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 fase gerak pada kolom hingga hampir penuh. Silika gel yang telah distirer dimasukkan ke dalam kolom perlahan-lahan melalui dinding bagian dalam kolom dan didiamkan selama  $\pm$  12 jam agar memadat sempurna. Setelah silika gel memadat dan permukaannya tidak retak/pecah, 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. Hal ini bertujuan untuk mempermudah proses

pelarutan ekstrak saat di dalam kolom. Ekstrak yang sudah larut selanjutnya dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fase gerak dan fase diam. Kran pada kolom dibuka perlahan dan fraksi yang keluar ditampung pada botol vial masing-masing 10 ml. Pada kolom sambil terus menerus ditambahkan fase gerak sedikit demi sedikit untuk menghindari pecahnya silika gel. 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. Setiap terjadi perubahan warna pada fraksi yang menetes, maka warna yang berbeda tersebut harus ditampung pada botol vial yang berbeda. 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.



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)

Pada penelitian ini digunakan pelarut metanol dalam mengekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*, karena metanol merupakan pelarut polar yang dapat mengekstraksi senyawa polar dan mengekstrak komponen non polar. Didukung oleh Thompson *et al.*, (1985) bahwa pelarut metanol dapat menarik senyawa alami seperti alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid. Proses ekstraksi dengan pelarut heksan menghasilkan senyawa yang agak kental berwarna hijau pekat dan berbau pelarut. Pada uji antibakteri ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode cakram. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah suhu pengeringan dan perbedaan konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 5.000 ppm, 10.000 pm, dan 20.000 ppm. *Streptomycin* digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO 1%.

Dari gambar pada Lampiran 6. diketahui rata-rata zona hambat ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnhorriza* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berukuran kecil yaitu dengan rerata 0,70 – 2,90 mm (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri pada ekstrak kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dapat dikatakan tergolong lemah. Sedangkan *streptomycin* sebagai kontrol positif mempunyai rerata 2,97 – 4,00 mm yang tergolong kuat dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Pradana *et al.*, (2014) berdasarkan zona hambat yang terbentuk maka aktivitas antibakteri dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu antibakteri yang aktivitasnya tergolong lemah (zona hambat antara 5 – 10 mm), kuat (10 – 20 mm) dan tergolong sangat kuat (zona hambat > 20 mm).

Tabel 3. Diameter rata-rata zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*.

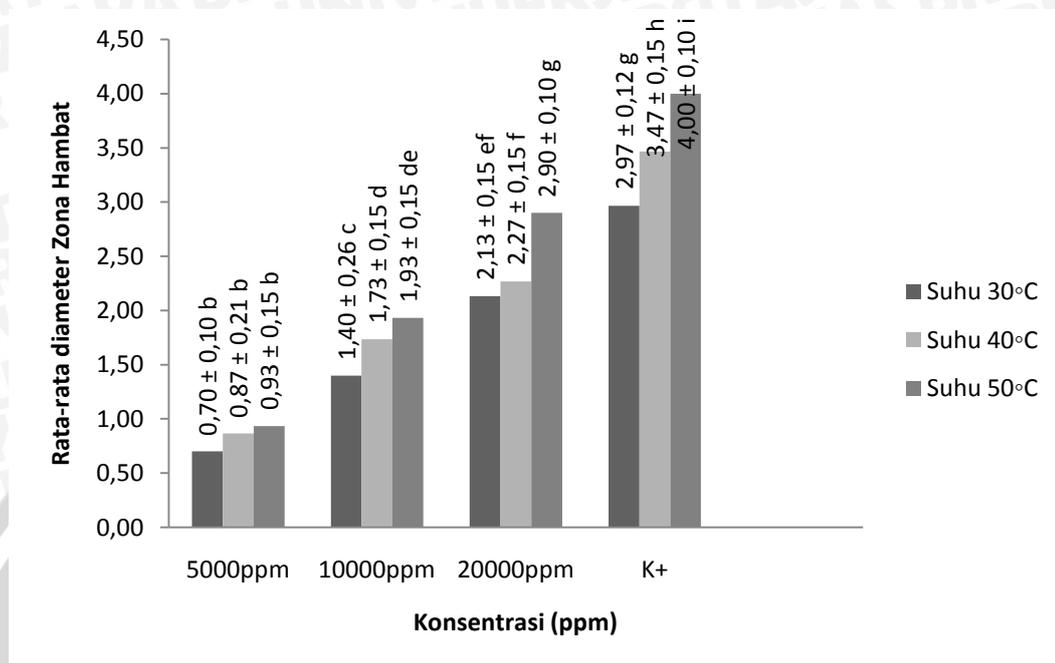
Bakteri	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata diameter zona hambat (mm)		
		Suhu Pengeringan		
		30°C	40°C	50°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.000	0,70 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,87 ± 0,21 <sup>b</sup>	0,93 ± 0,15 <sup>b</sup>
	10.000	1,40 ± 0,26 <sup>c</sup>	1,73 ± 0,15 <sup>d</sup>	1,93 ± 0,15 <sup>de</sup>
	20.000	2,13 ± 0,15 <sup>ef</sup>	2,27 ± 0,15 <sup>f</sup>	2,90 ± 0,10 <sup>g</sup>
	Kontrol +	2,97 ± 0,12 <sup>g</sup>	3,47 ± 0,15 <sup>h</sup>	4,00 ± 0,10 <sup>i</sup>
	Kontrol -	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>

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 *Staphylococcus aureus* Lampiran 6 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 5000 ppm, 10000 ppm, 20000 ppm memberikan pengaruh yang signifikan.

Untuk menentukan perlakuan kombinasi yang terbaik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diperlukan uji lanjut. Uji lanjut yang dilakukan adalah UJD 5%. Hasil uji lanjut UJD 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. Histogram hubungan suhu pengeringan dan konsentrasi terhadap rerata hasil zona hambat dan hasil uji lanjut UJD 5% ekstrak kasar kulit batang

lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Histogram hubungan suhu pengeringan dan konsentrasi terhadap rerata hasil zona hambat dan hasil uji lanjut UJD 5% ekstrak kasar kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus***

Berdasarkan gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan variasi suhu pengeringan memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*. 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 gymnorrhiza*) 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 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. Penggunaan konsentrasi bertingkat juga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan gambar 3 ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 20.000 ppm. Hal tersebut diperkuat dengan data diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* yang terbentuk sekitar 2,13 – 2,90 mm pada suhu pengeringan 30°C - 50°C. Konsentrasi 20.000 ppm merupakan konsentrasi yang tertinggi pada penelitian ini sehingga lebih efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

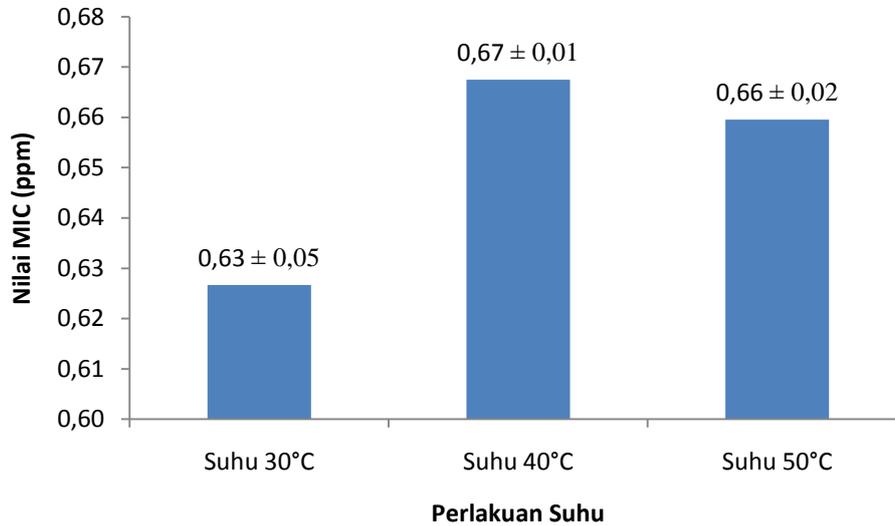
Ditambahkan Pelczar dan Chan (1988), konsentrasi zat antimikrobal yang lebih tinggi dapat lebih cepat membunuh sel – sel mikroorganisme.

Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka akan semakin banyak mikroorganisme yang mati. 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 mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Menurut Abed *et al.* (2013), dinding sel bakteri gram negatif lebih tebal dan lebih kompleks daripada bakteri gram positif. Bagian luar membrane sel bakteri gram negatif banyak mengandung lapisan lipid – polisakarida yang dapat mempertahankan komponen hidrofobik. Pada kontrol + menunjukkan bahwa diameter zona hambat lebih tinggi daripada diameter zona hambat ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana kontrol + yang digunakan dalam penelitian adalah *streptomycin*. Rerata zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* 5,53 – 7,73 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa *streptomycin* lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena *streptomycin* merupakan antibiotik yang tergolong berspektrum sempit yang artinya hanya dapat membunuh bakteri kelompok gram positif saja. Menurut Jawetz *et al.* (1986), *streptomycin* bersifat bakterisidal terhadap mikroorganisme yang peka dengan konsentrasi penghambatan 0,1 – 20 µg/mL. Cara kerja *streptomycin* dalam menghambat mikroorganisme adalah melalui hambatan sintesa protein pada mikroorganisme.

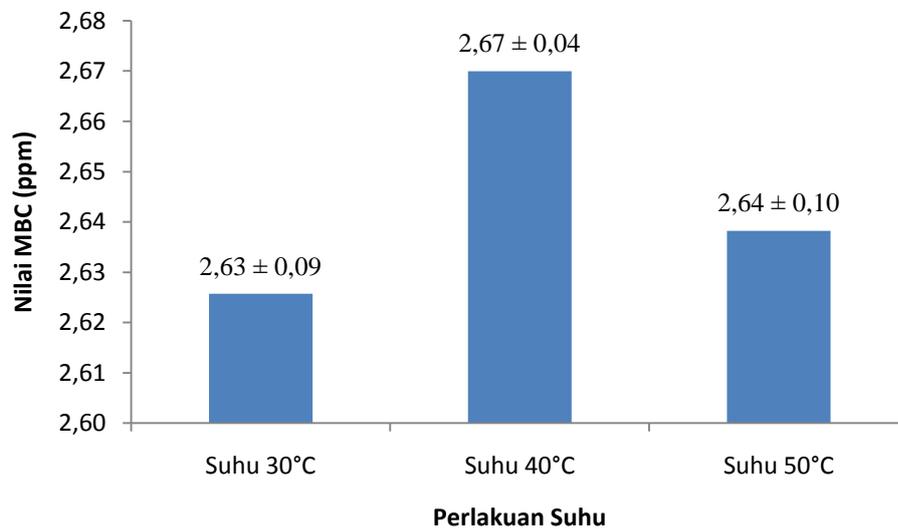
#### 4.2 Hasil Uji MIC dan MBC

Hasil uji antibakteri pada penelitian ini diperoleh suhu pengeringan bahan terbaik dalam menghambat *Staphylococcus aureus* yaitu 50°C dengan konsentrasi 20.000 ppm. Berdasarkan hasil uji tersebut maka dilakukan

pengujian MIC dan MBC untuk mengetahui konsentrasi terendah untuk menghambat dan membunuh *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.



**Gambar 3. Nilai MIC Ekstrak Kasar Kulit Batang *Bruguiera gymnorhiza* Terhadap *Staphylococcus aureus***



**Gambar 4. Nilai MBC Ekstrak Kasar Kulit Batang *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.

#### 4.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* dengan pelarut metanol. Fitokimia yang diujikan yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin. Hasil pengujian kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorhiza* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Fitokimia Ekstrak Kulit Batang *Bruguiera gymnorrhiza*

Suhu Pengeringan	Parameter Uji	Hasil	Reaksi
30°C	Alkaloid	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan
	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning
	Steroid	-	Tidak terdapat perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau
	Terpenoid	-	Tidak terbentuk warna merah kecoklatan
	Tanin	+	Terbentuk warna hitam
	Saponin	-	Tidak terdapat buih
40°C	Alkaloid	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan
	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning
	Steroid	-	Tidak terdapat perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau
	Terpenoid	-	Tidak terbentuk warna merah kecoklatan
	Tanin	+	Terbentuk warna hitam
	Saponin	-	Tidak terdapat buih
50°C	Alkaloid	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan
	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning
	Steroid	-	Tidak terdapat perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau
	Terpenoid	-	Tidak terbentuk warna merah kecoklatan
	Tanin	+	Terbentuk warna hitam
	Saponin	-	Tidak terdapat buih

Keterangan : - : tidak terdeteksi  
+ : terdeteksi

Pada Tabel 4 memperlihatkan bahwa pada ekstrak kulit batang mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* 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 gymnorrhiza* mengandung senyawa flavonoid.

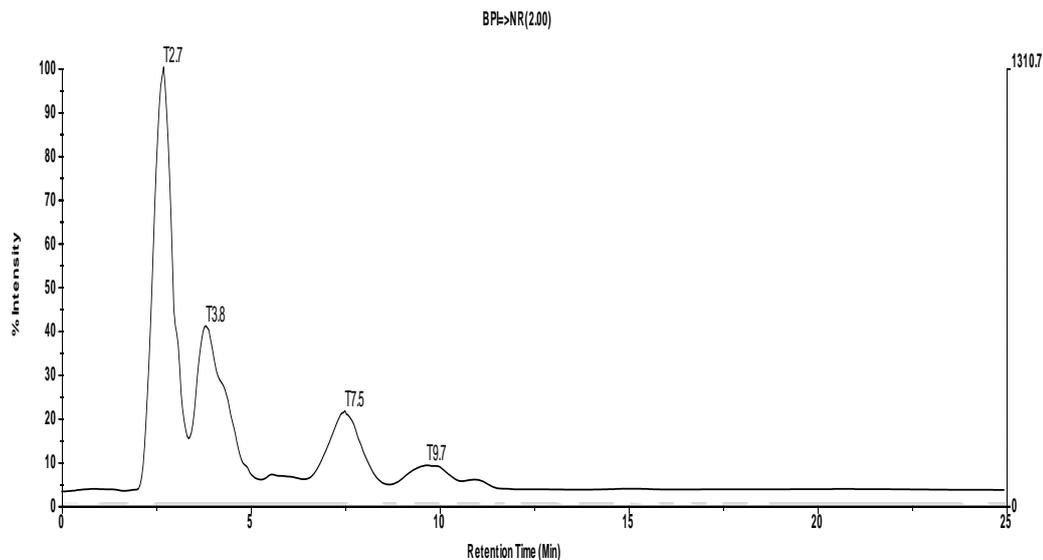
Hasil uji positif senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang termasuk ke dalam senyawa fenol dimana senyawa fenol dapat bersifat menghambat aktivitas bakteri, virus, bahkan jamur (Darsana *et al.*, 2012). Mekanisme kerja flavonoid

sebagai antibakteri yaitu dengan merusak jaringan membran sel bakteri atau merusak permeabilitas dinding sel bakteri tersebut (Krisnata *et al.*, 2014).

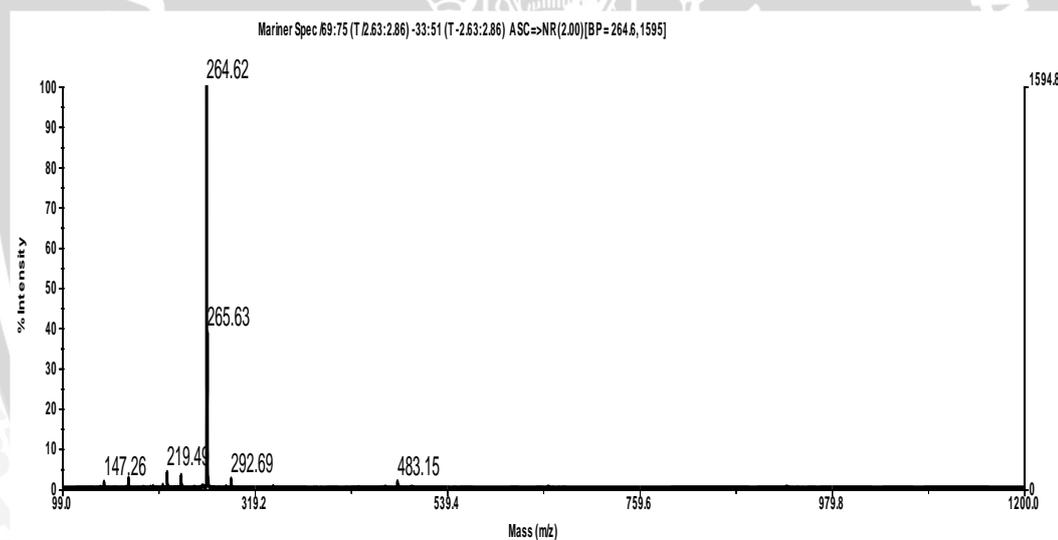
Sedangkan pada tanin juga menghasilkan hasil positif lemah dengan terbentuknya warna hitam. Tanin juga merupakan senyawa antibakteri. Menurut Willah dan Rosidah (2012) bahwa tanin dapat bereaksi dengan membran sel bahkan sampai merusak fungsi materi genetik. Sedangkan mekanisme kerja tanin adalah dengan merusak membran sitoplasma pada bakteri sehingga dapat mengganggu dan terhambatnya aktivitas pertumbuhan bakteri tersebut.

#### **4.4 Analisa Senyawa Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***

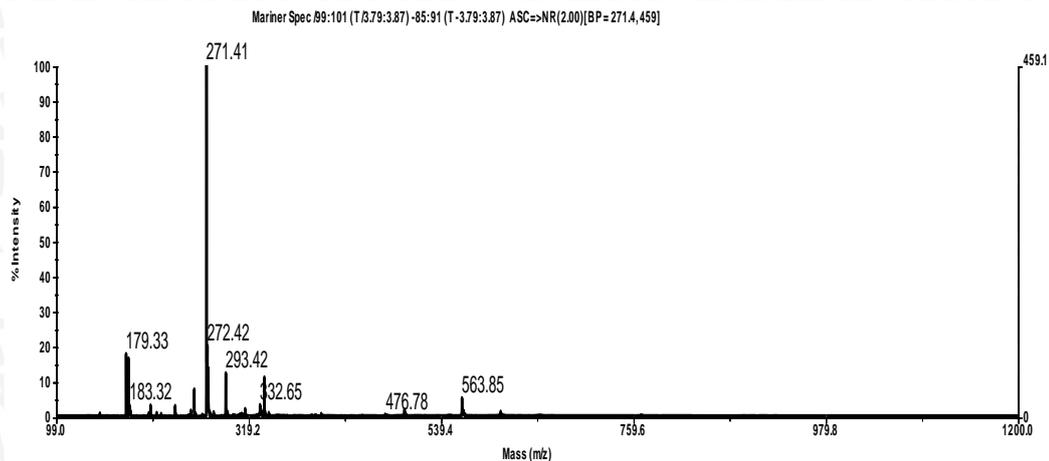
Senyawa antibakteri ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan analisis LC-MS. Analisis senyawa dengan menggunakan uji LC-MS untuk mengidentifikasi struktur senyawa dan berat molekul yang terdapat pada fraksi teraktif ekstrak kulit 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. Puncak dengan waktu retensi paling besar diduga memiliki kelimpahan suatu senyawa yang sangat besar. Pola spektrum LC-MS dapat dilihat pada Gambar 5.



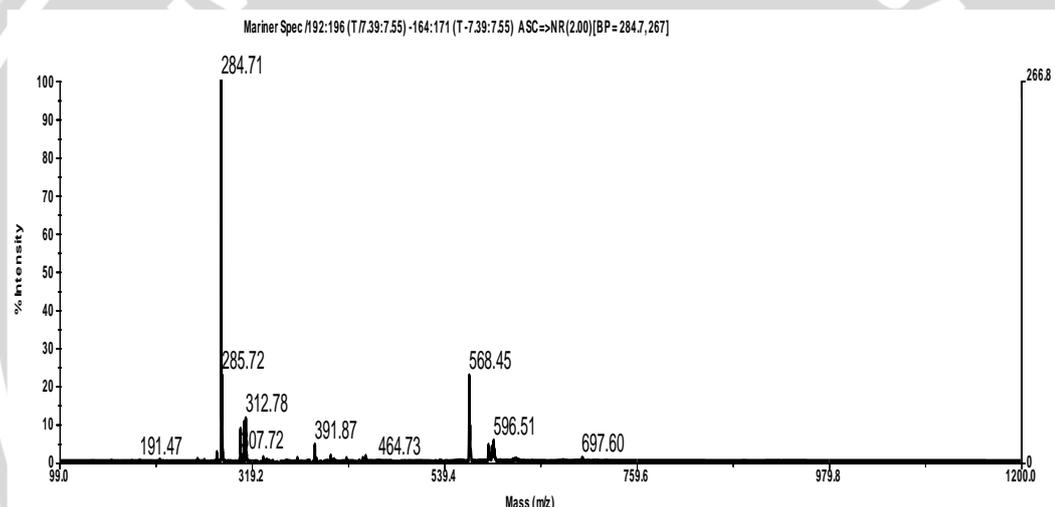
Gambar 5. Spektrum LC Fraksi A Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)



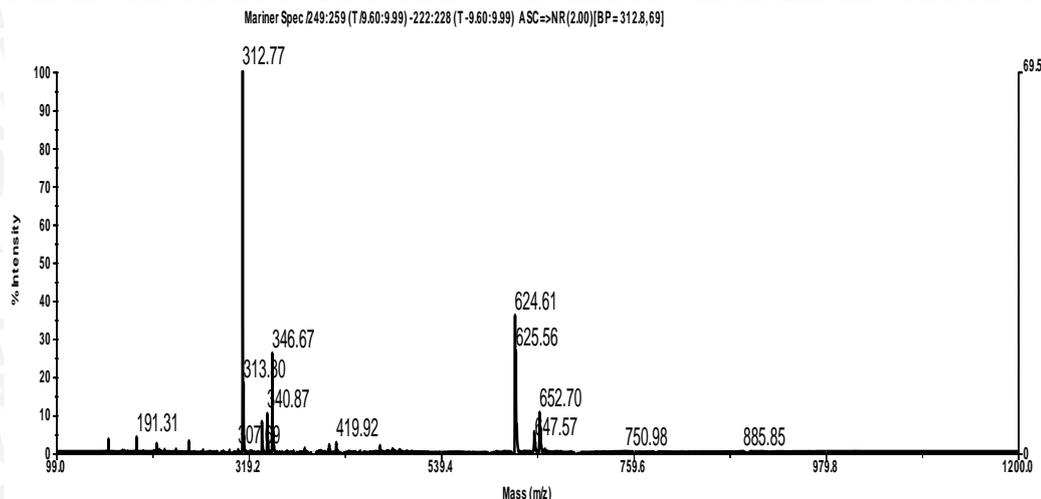
Gambar 6. Spektrum MS Rt 2,70 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)



**Gambar 7. Spektrum MS Rt 3,82 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**



**Gambar 8. Spektrum MS Rt 7,50 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**



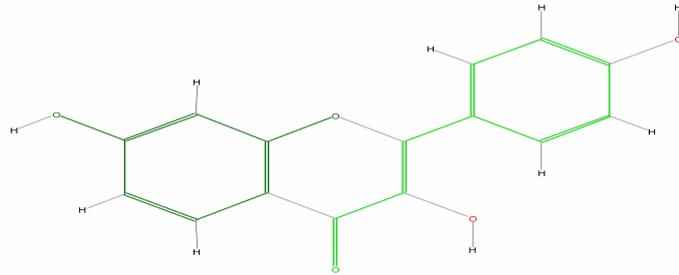
**Gambar 9. Spektrum MS Rt 9,67 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**

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
Desmethylnaprotiline	$C_{19}H_{21}N$	263,16740	6
3, 7, 4'- Trihydroxyflavone	$C_{15}H_{10}O_5$	270,05282	3
7- Aminoflunitrazepam	$C_{16}H_{14}FN_3O$	283,11209	6
4-Hydroxy Diclofenac	$C_{14}H_{11}C_{12}NO_3$	311,01160	9

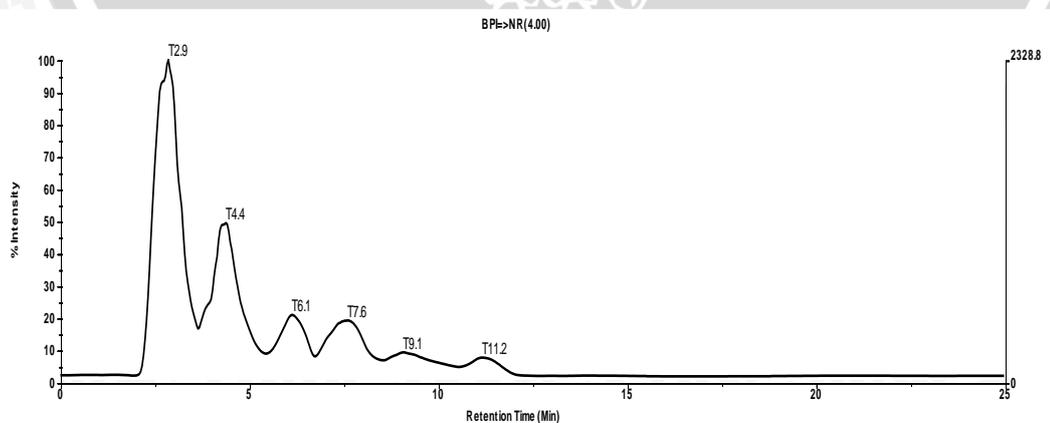
Hasil analisa pada Tabel 5 spektrum MS Fraksi A Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) pada Rt 3,82 menunjukkan terdapat beberapa puncak ion yang menandakan fragmentasi berdasarkan berat molekulnya. Diduga senyawa pada Rt 3,82 memiliki berat molekul 270 m/z. Berdasarkan penelusuran *database* 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

perkembang biakan jaringan neoplasma. Struktur kimia senyawa dugaan dapat dilihat pada Gambar 10.

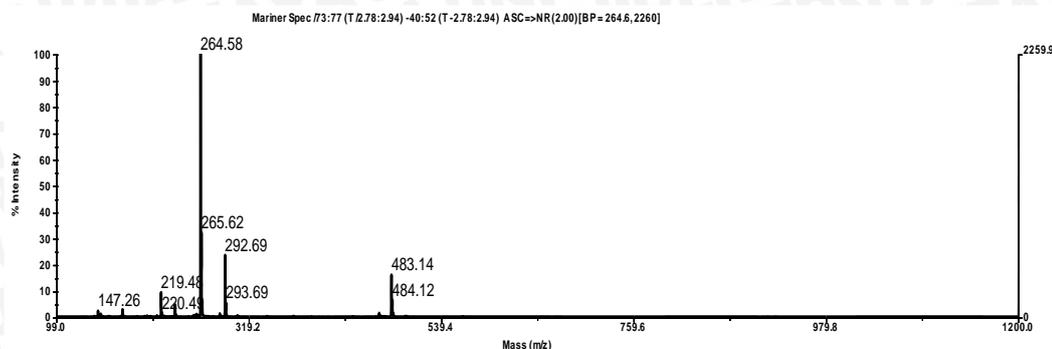


**Gambar 10. Struktur Senyawa 3', 4', 7' – Trihydroxyflavone**

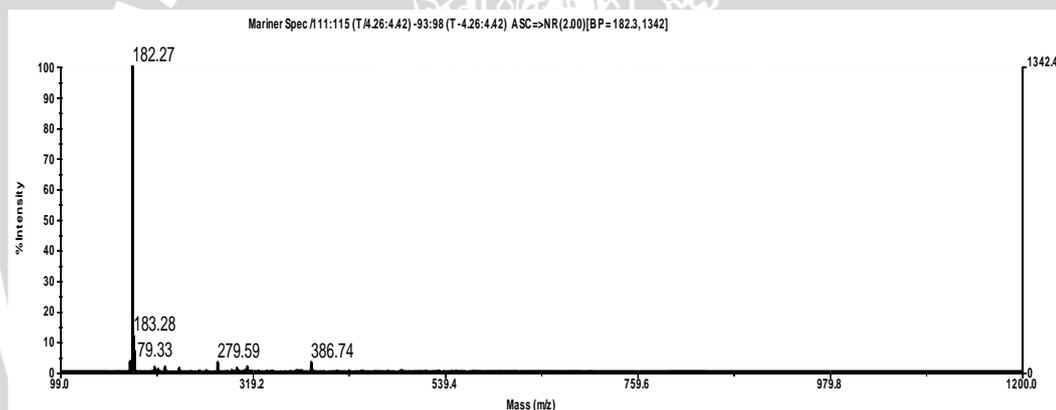
Pada Fraksi B menunjukkan terbentuknya 6 puncak dengan waktu retensi yang berbeda. Pada puncak pertama memiliki waktu retensi yaitu 2,86 menit disusul dengan puncak kedua dengan waktu retensi 4,37 menit, lalu pada puncak ketiga dengan waktu retensi 6,12 menit, kemudian pada puncak keempat memiliki waktu retensi sebesar 9,07 menit dan pada puncak keenam memiliki waktu retensi yaitu 11,16 menit. Pola spektrum LC-MS Fraksi B dapat dilihat pada Gambar 11.



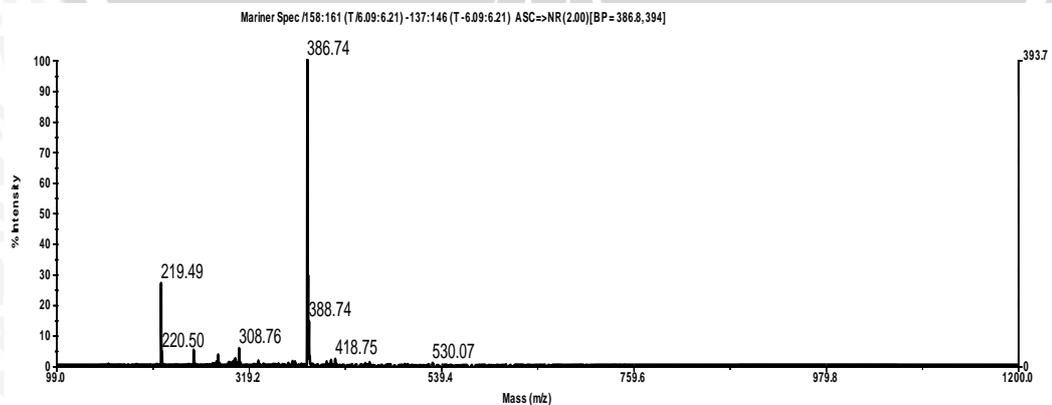
Gambar 11. Spektrum LC Fraksi B Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)



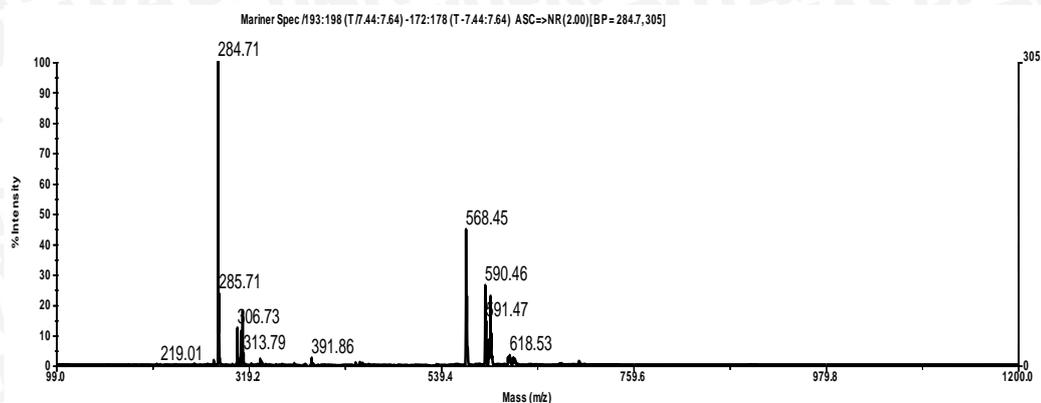
Gambar 12. Spektrum MS Rt 2,86 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)



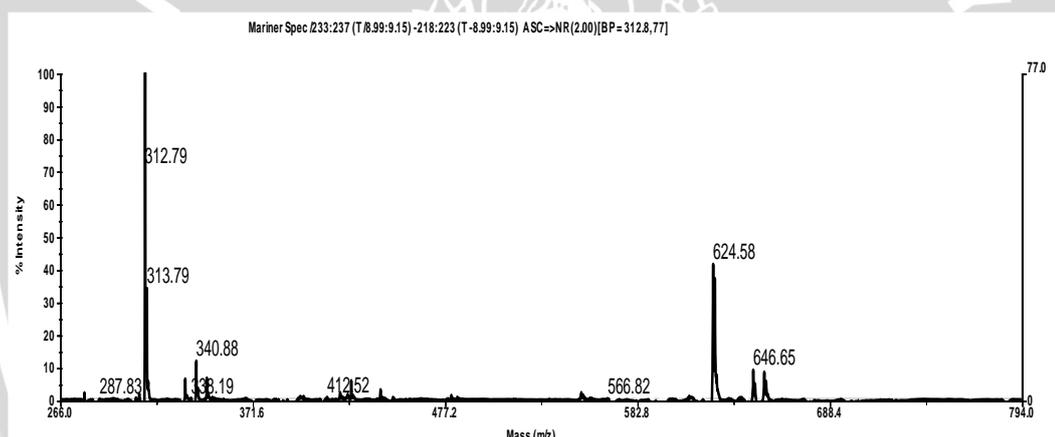
Gambar 13. Spektrum MS Rt 4,37 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)



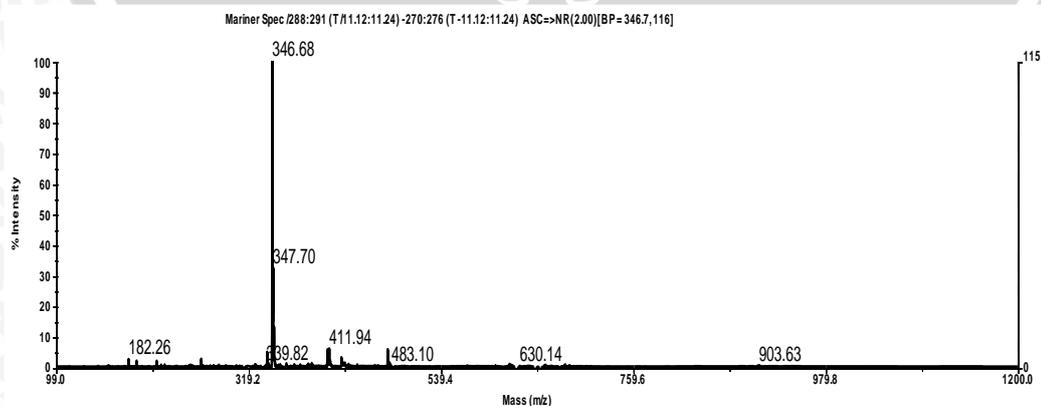
**Gambar 14. Spektrum MS Rt 6,12 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**



**Gambar 15. Spektrum MS Rt 7,59 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**



**Gambar 16. Spektrum MS Rt 9,07 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**



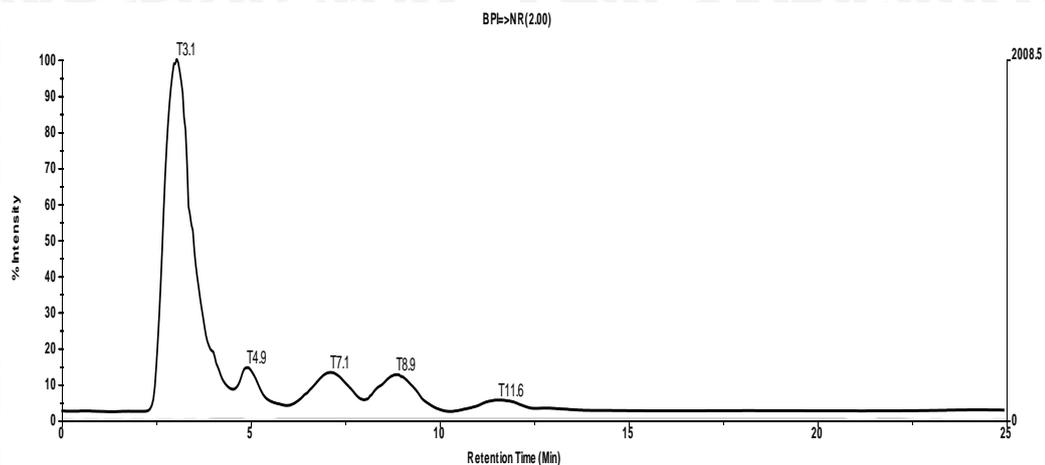
**Gambar 17. Spektrum MS Rt 11,06 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**

Senyawa antibakteri hasil analisis LC-MS ekstrak kasar kulit batang lindur mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dengan pelarut metanol ada pada Tabel 6.

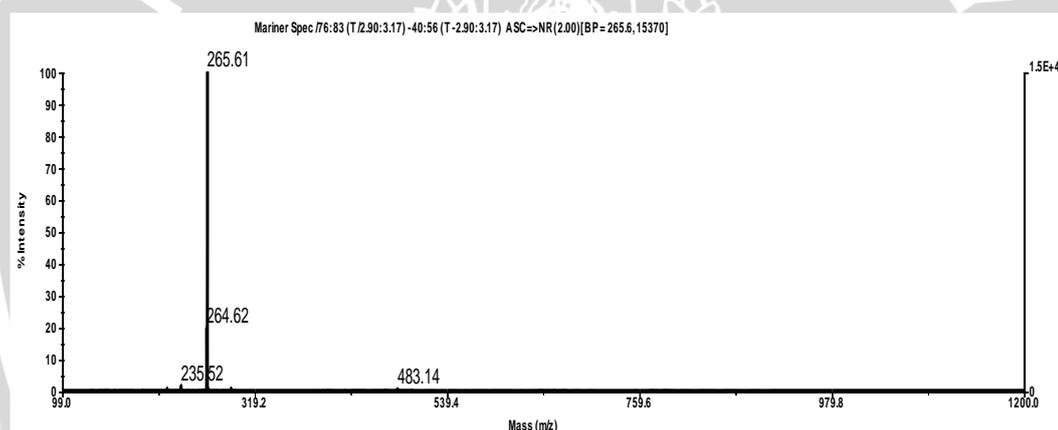
Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Spectra
Desmethylnaprotiline	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N	263,16740	6
2-(Methylsulfanyl)-1,3,6 benzotiazole	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> NS <sub>2</sub>	181,00199	9
Amisulpride N-Oxide	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S	385,16714	14
7-Aminoflunitrazepam	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> FN <sub>3</sub> O	283,11209	6
Thiamine monophosphate	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> PS	345,07864	10

Hasil analisa spektrum MS Fraksi B Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) berbagai waktu retensi menunjukkan terdapat beberapa puncak ion yang menandakan fragmentasi berdasarkan berat molekulnya. Berdasarkan penelusuran *database* spektra massa melalui internet, diduga tidak ada senyawa yang berkorelasi dengan senyawa antibakteri pada berbagai waktu retensi.

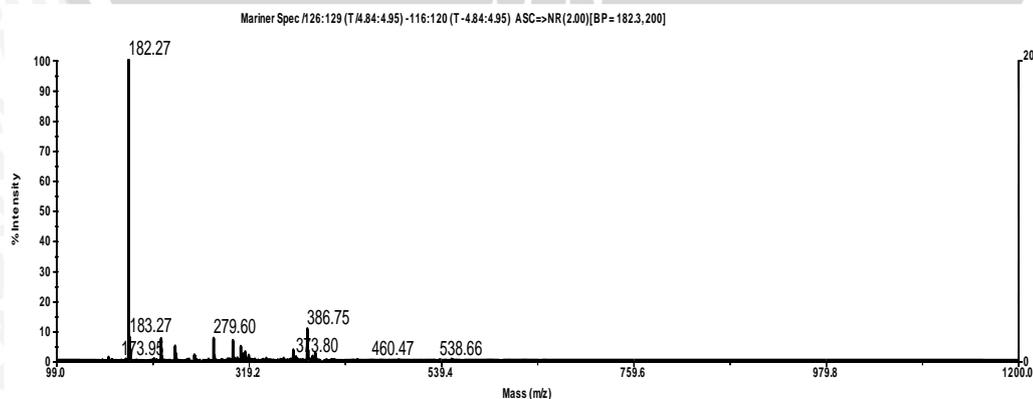
Pada Fraksi C menunjukkan terbentuknya 5 puncak dengan waktu retensi yang berbeda. Pada puncak pertama memiliki waktu retensi yaitu 3,05 menit disusul dengan puncak kedua dengan waktu retensi 4,91 menit, lalu pada puncak ketiga dengan waktu retensi 7,12 menit, kemudian pada puncak keempat memiliki waktu retensi sebesar 11,57 menit. Pola spektrum LC-MS Fraksi C dapat dilihat pada Gambar 18.



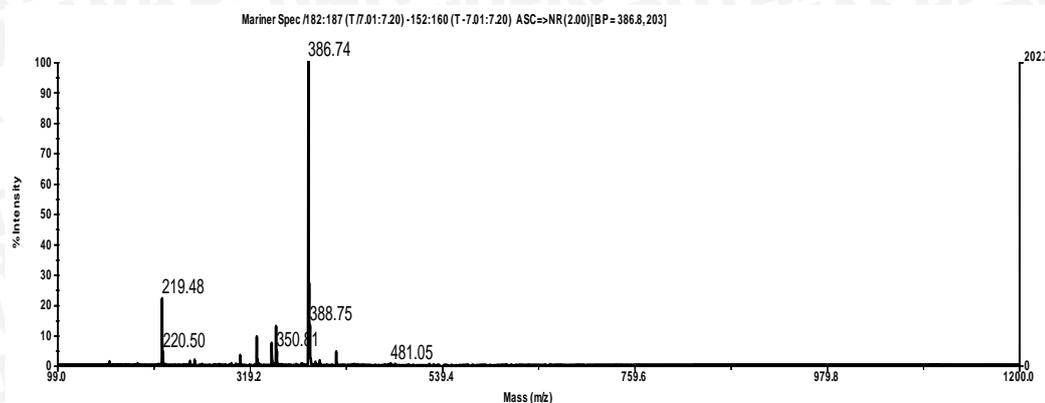
Gambar 18. Spektrum LC Fraksi C Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)



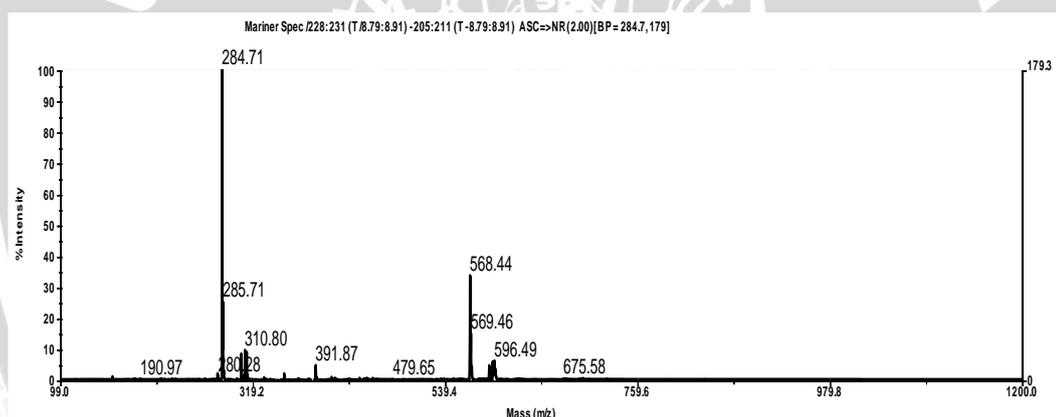
Gambar 19. Spektrum MS Rt 3,05 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)



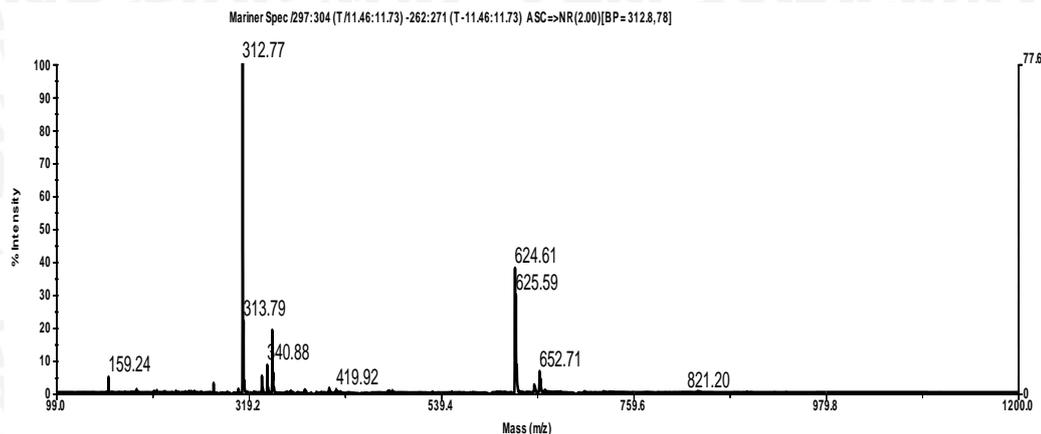
**Gambar 20. Spektrum MS Rt 4,91 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)**



**Gambar 21. Spektrum MS Rt 7,12 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)**



**Gambar 22. Spektrum MS Rt 8,86 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*)**



**Gambar 23. Spektrum MS Rt 11,57 Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*)**

Senyawa antibakteri hasil analisis LC-MS ekstrak kasar kulit batang lindur mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* dengan pelarut metanol ada pada Tabel 7.

Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Spectra
2',2'-Difluoro – 2'-deoxyuridine	$C_9H_{10}F_2N_2O_5$	264,05580	14
2-(Methylsulfanyl)-1,3,6 benzotiazole	$C_8H_7NS_2$	181,00199	9
Amisulpride N-Oxide	$C_{17}H_{22}N_3O_5S$	385,16714	14
7-Aminoflunitrazepam	$C_{16}H_{14}FN_3O$	283,11209	6
4-Hydroxy diclofenac	$C_{14}H_{11}C_{12}NO_3$	311,01160	9

Hasil analisa spektrum MS Fraksi C Ekstrak Kulit Batang Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) berbagai waktu retensi menunjukkan terdapat beberapa puncak ion yang menandakan fragmentasi berdasarkan berat molekulnya. Namun berdasarkan penelusuran *database* spektra massa melalui internet, diduga tidak ada senyawa yang berkorelasi dengan senyawa antibakteri pada berbagai waktu retensi.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 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.

### 5.2 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*
- Abeysinge, P. D and R. P Wanigatunge. 2006. *Evaluation of Antibacterial Activity of Different Mangrove Plant Extracts. Ruhuna Journal of Science.*
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* Bioscientiae Volume 1, Nomor 1, Januari 2004 Hlm 31-38.
- Amarantini, Charis, Widya A, Haripurnomo K, Langkah S. 2009. Seleksi Bakteri Salmonella typhi dari Kultur Darah Penderita Demam Tifoid. MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Andrew, J. M. 2006. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. New York : Oxford University Press. p 2
- Awika JM, Yang LY, Browning JD, and Faraj A. 2009. *Comparative Antioxidant, Antiproliferatif and Phase II Enzyme Inducing Potencial of Sorghum (Sorghum bicolor) Varieties. LWT-Food Science and Technology Journal 42:1041-1046.*
- Bachtiar, E. 2010. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove di Kabupaten Ganis Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri pada Ikan.
- Bamroongruga B. 1999. *Bioactive Substanea From The Mangrove Resource Songklakar J. Sci. Technol., 3: 77-386.*
- Bandaranayake, W. M dan A. D. Rocher. 1999. *Role Of Secondary Metabolites And Pigment In Epidermal Tissues, Ripe Ovaries, Viscera, Gut Content And Diet Of The Sea Cucumber Holothuria Atra. Journal of Mar. Biol 133 : 163-169.*
- Clinton C. 2009. *Plant Tannins : A Novel Approach To The Treatment of Ulcerative Colitis. Natural Medicine Journal 1(3):1-4*
- 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)*
- Doughari JH. 2009. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents.* [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com) [30 Maret 2016].
- Fardiaz S. 1989. Mikrobiologi Pangan Jilid I. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Francis G, Kerem Z, Makhar HPS, Beeker K. 2002. *The Biological Action of Saponins in Animal Systems: a Review. British Journal Of Nutrition 88: 587-605.*

- Hagerman AE. 2002. *Tannin Chemistry-Department Chemistry and Biochemistry. Miami University. Oxford. USA.*
- Handayani N, M. Widyono W, Rishka K M. 2012. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta
- 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.
- Haq M, Wirakarnain S, Hossain BMS, Taha RM, Monneruzzaman KM. 2011. *Total Phenolic Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of B. gymnorhiza. J Med Plant Research. 5 (17): 4112-4119.*
- Hikmah. 2007. Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) Dari Minyak Dedak Dan Metanol Dengan Proses Esterifikasi Dan Transesterifikasi. Skripsi. Fakultas Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Semarang.
- Holt, JG, NR Krieg, PHA Sheath, JT Staley, ST Williams. 2000. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology 9<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams & Wilkins. New York.*
- Hong LS, Ibrahim D, Kassim J, Sulaiman S. 2011. *Galic Acid: An Antimicrobial Compound In Hydrolysable Tannin Extracted From The Barks of R. Apiculata Blume. Journal Of Applied Pharmaceutical Science 1(6): 75-79.*
- Hou D. 1970. *Rhizoporaceae. In : Flora Of The Thailand Smitinand T. Larsen K. Ediors. Bangkok. Asret Press PP. 5-15.*
- James A, Allen and Norman C. Duke. 2006. *Bruguiera gymnorhiza (Large-Leafed Mangrove). Species Profiles For Pasific Island Agroforestry.*
- Jawetz, E., J. L. Melnick, dan E.A Adelberg. 1986. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan. Edisi 16. Jakarta : ECG Penerbit Buku Kedokteran
- Jawetz, E., J. L. Melnick, and E. Adelberg. 2001. *Medical Microbiology 22nd Ed. McGraw-Hill Companies Inc. New York. Hlm 235-237.*
- Krisnata, A. B., Y. Rizka, dan D. Mulawarmanti. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove (*Avicennia marina*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Mixed *periodontopatogen*. Jurnal Kedokteran Gigi 8(1)
- Kusumaningtyas, E., S. Lusi, dan A. Estie. 2008. Penentuan Golongan Bercak Senyawa Aktif Ekstrak N-Heksan *Alpinia Galanga* Terhadap *Candida albicans* Dengan Bioautografi Dan Kromatografi Lapis Tipis. *JITV 13(4) : 323-328.*
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta : PT. RajaGrafindo Persada. Hlm. 70 – 71

- Lia, Etik P. 2012. Aplikasi Metode Gc-Ms Untuk Penetapan Kadar Residu Profenofos Pada Buah Stroberi (*Fragaria Sp.*) Setelah Pencucian. [Skripsi] Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Lutfiyanti R, Widodo F M, Eko N D. 2012. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak Gelidium Latifolium Terhadap *Candida Albicans*. Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan Vol 1(1) : Hlm 1-8.
- Madigan MT, Martinko JM, Dumap PV, Clark DP. 2006. *Brock Biology of Microorganisms 11<sup>th</sup> Ed.* San Fransisco: Pearson Education Inc.
- Michalouvicz J, Duda W. 2007. *Phenol-Sources and Toxicity. Polish Journal of Environment Study* 16(3): 347-362.
- 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.
- 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* 1(2).
- 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)
- Nur MA, Adijuwana HA. 1989. Teknik Separasi dalam Analisis Pangan. Bogor. Pusat Antar Universitas IPB.
- 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
- Pelczar, M.J dan E. C. S Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi ke-5 Jilid 1. Terjemahan Sri, R.H *et al.* Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta. 88 hlm.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. Dasar – Dasar Mikrobiologi. Jilid 2. Jakarta: UI Press
- Prabhu VV, Guruvayoorappan C. 2012. Phytochemical Screening of Metanolic Extract of Mangrove *A. Manina* (Forsck). *Vierh. Der Pharmacia Sinica* 3(1): 64-70.
- 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.
- Rarikumar S, Ali MS, Ramu A, Ferosekhan M. 2011. *Antibacterial Activity of Chosen Mangrove Plants Against Bacterial Specified Pathogens. World Applied Sciences Journal* 14(8) : 1198-1202.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi Edisi Ke-6. Terjemahan Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung. Hlm 152-196.
- Rohyami, J. 2008. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanaol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa scheff boerl*). Program DIII, Kimia Analisis, FMIPA, UII, Yogyakarta.
- Setyawan AD, Winarno. 2006. Pemanfaatan Langsung Ekosistem Mangrove di Jawa Tengah dan Penggunaan Lahan di Sekitarnya ; Kerusakan dan Upaya Restorasinya. *Biodiversitas* 7(3) : 282-291.
- Singh S, Swapnil, Verma SK. 2011. *Antibacterial Properties of Alkaloid Rich Fractions Obtained From Various Parts of Prosopis Juliflora. International Journal of Pharma Sciences and Research* 2(3): 114-120.
- Suarsana NI, Priosoeryanto BP, Bintang M, Wresdiyati T. 2008. Aktivitas Lipoglikemik dan Antioksidatif Ekstrak Metanol Tempe pada Tikus Diabetes. *J Veteriner* 9: 122-127.
- Sudarno, F.A. Setiorini dan H. Suprpto. 2011. Efektifitas Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) sebagai Antibakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol 3(1) : 103 - 108
- Susanto, W. H. 1999. Teknologi Lemak dan Minyak Makan. Jurusan THP Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Untoro NS, Kusrahayu dan BE Setiani. 2012. Kadar Air, Kekenyalan, Kadar Lemak dan Citarasa Bakso Daging Sapi dengan Penambahan Ikan Bandeng Presto (*Chanos chanos Forsk*). *Animal Agriculture Journal* 1(1).
- Utari SPSD. 2012. Analisis Jaringan Tanaman Lindur (*Bruguiera gymnorhiza*) dan Pemanfaatan Patinya Sebagai Edible Film Dengan Penambahan Gliserol dan Karagenan [Skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Waluyo L. 2008. Teknol dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi. Malang : UMM Press.
- Withanawasam DM. 2002. *Preliminary In Vitro Screening of Antibacterial and Antifungal Compounds of Mangrove Plant Extracts for Pathogens from Different Sources*.

Lampiran 1. Rendemen Kulit Batang *Bruguiera gymnorhiza* Kering

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

Keterangan : W<sub>1</sub> = Berat sebelum proses pengeringan

W<sub>2</sub> = Berat setelah proses pengeringan

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

1. Perlakuan pengeringan pada suhu 50°C

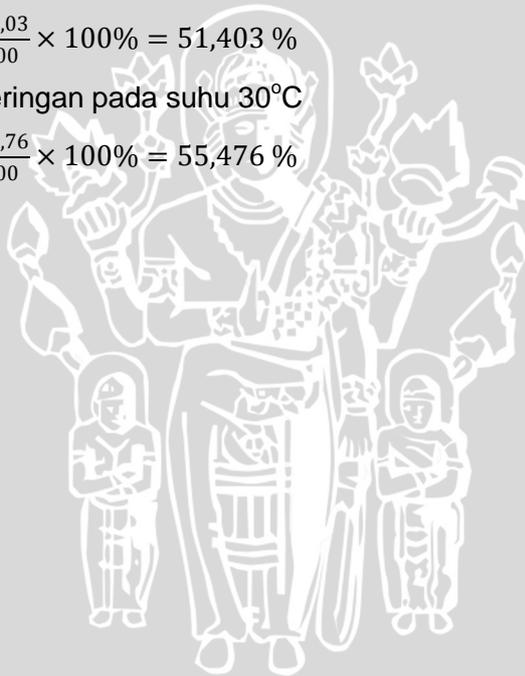
$$\text{Rendemen} = \frac{538,78}{1000} \times 100\% = 53,878 \%$$

2. Perlakuan pengeringan pada suhu 40°C

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

3. Perlakuan pengeringan pada suhu 30°C

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



Lampiran 2. Rata-Rata Rendemen Ekstrak Kulit Batang *Bruguiera gymnorrhiza*

Perlakuan	W <sub>1</sub> (g)	W <sub>2</sub> (g)	Rendemen (%)
<b>Pengeringan</b>			
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

Keterangan : W<sub>1</sub> = berat sampel yang diekstrak

W<sub>2</sub> = berat botol vial kosong

W<sub>3</sub> = berat botol vial dan isi

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

4. Perlakuan pengeringan pada suhu 50°C

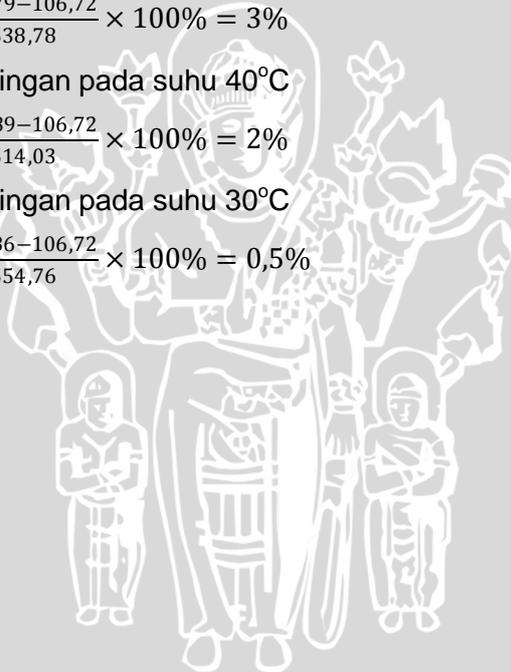
$$\text{Rendemen} = \frac{124,79 - 106,72}{538,78} \times 100\% = 3\%$$

5. Perlakuan pengeringan pada suhu 40°C

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

6. Perlakuan pengeringan pada suhu 30°C

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



### Lampiran 3. Kadar Air Kulit Batang *Bruguiera gymnorrhiza*

Penentuan kadar air 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 gymnorrhiza* 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 gymnorrhiza*

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

Perhitungan :

1. Suhu 50°C

$$\text{Kadar Air} = \frac{1 - (31,64 - 30,77)}{1} \times 100\% = 13\%$$

2. Suhu 40°C

$$\text{Kadar Air} = \frac{1 - (26,67 - 25,80)}{1} \times 100\% = 13\%$$

3. Suhu 30°C

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

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

Sampel	W <sub>1</sub> (g)	W <sub>2</sub> (g)	W <sub>3</sub> (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

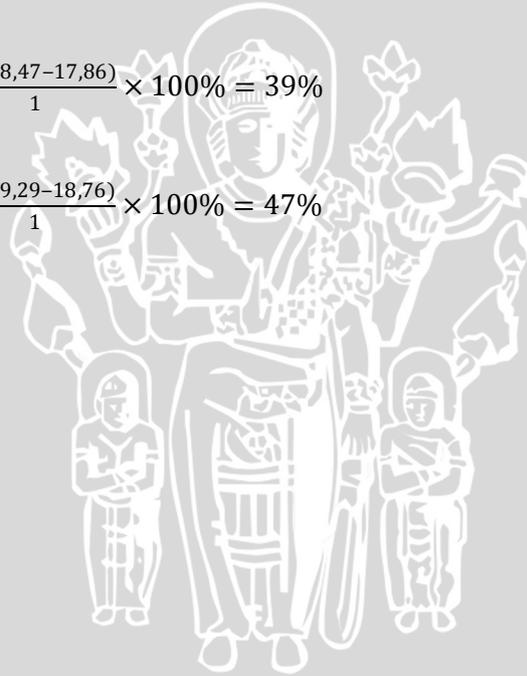
$$\text{Kadar Air} = \frac{1-(19,52-18,83)}{1} \times 100\% = 31\%$$

2. Ekstrak B

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

3. Ekstrak C

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

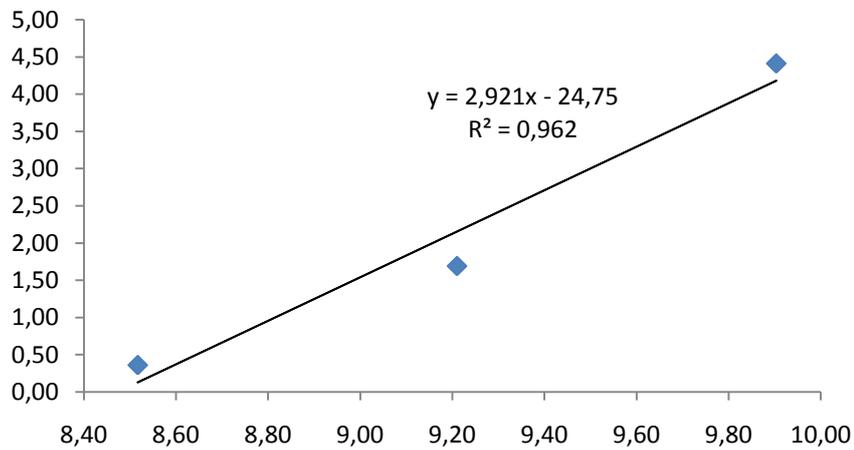


#### Lampiran 4.

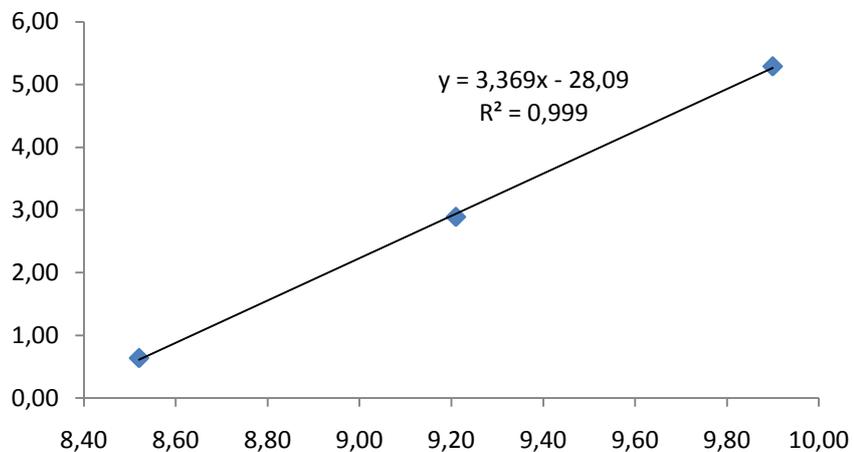
#### Perhitungan Uji MIC dan MBC *Staphylococcus aureus*

Suhu 30°C	Konsentrasi (ppm)	Zona Hambat			Nilai X			Nilai Y		
		U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
	5000	0,60	0,80	0,70	8,52	0,36	0,64	0,49		
	10000	1,30	1,70	1,20	9,21	1,69	2,89	1,44		
	20000	2,10	2,30	2,00	9,90	4,41	5,29	4,00		
	Nilai MBC (ppm)	2,62	2,72	2,54						
	Nilai MIC (ppm)	0,65	0,68	0,64						

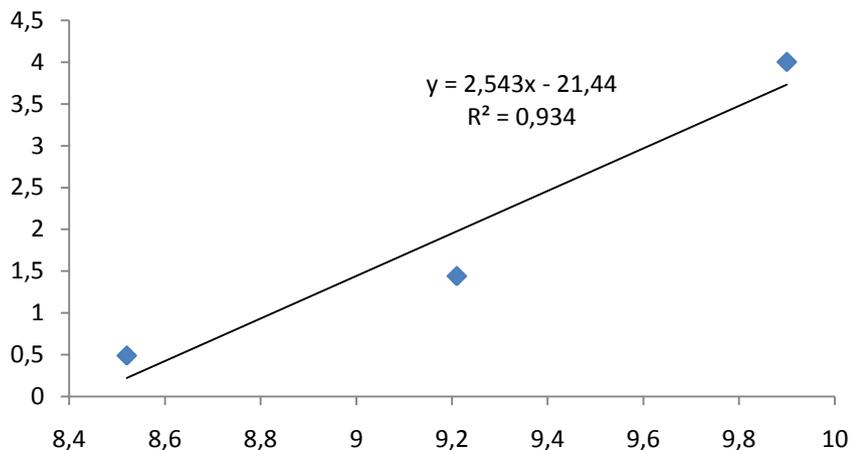
#### ULANGAN 1 (Suhu 30°C)



#### ULANGAN 2

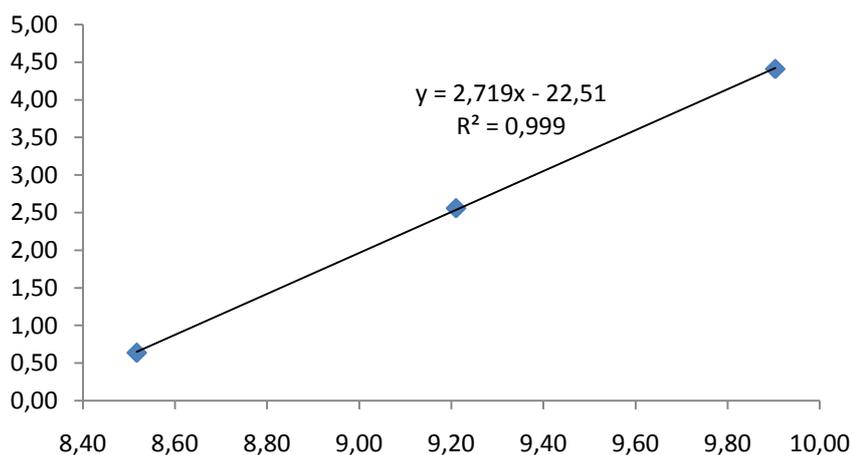


### ULANGAN 3

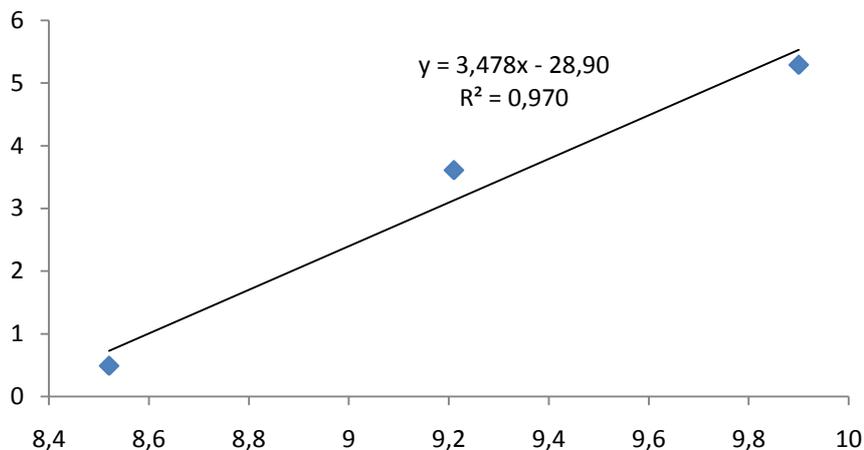


Suhu 40°C	Zona Hambat			Nilai X		Nilai Y	
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	
Konsentrasi (ppm)							
5000	0,8	0,7	1,1	8,52	0,64	1,21	
10000	1,6	1,9	1,7	9,21	2,56	2,89	
20000	2,1	2,3	2,4	9,90	4,41	5,76	
Nilai MBC (ppm)	2,72	2,64	2,66				
Nilai MIC (ppm)	0,68	0,66	0,66				

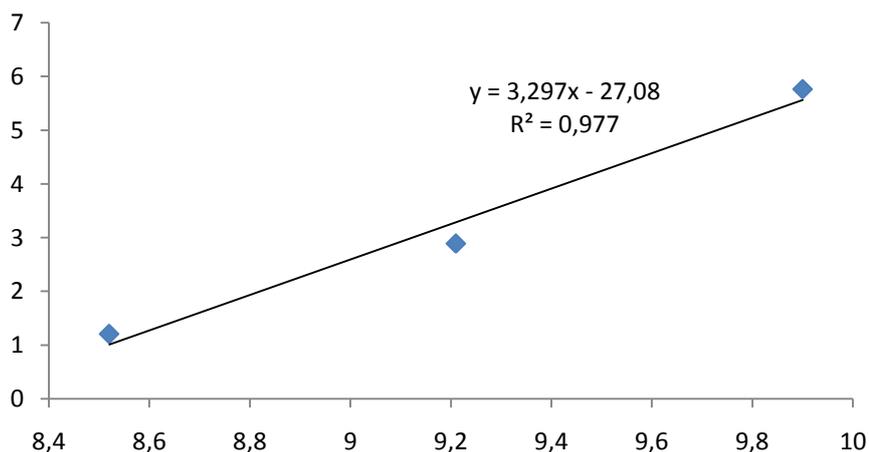
### ULANGAN 1 (Suhu 40°C)



## ULANGAN 2

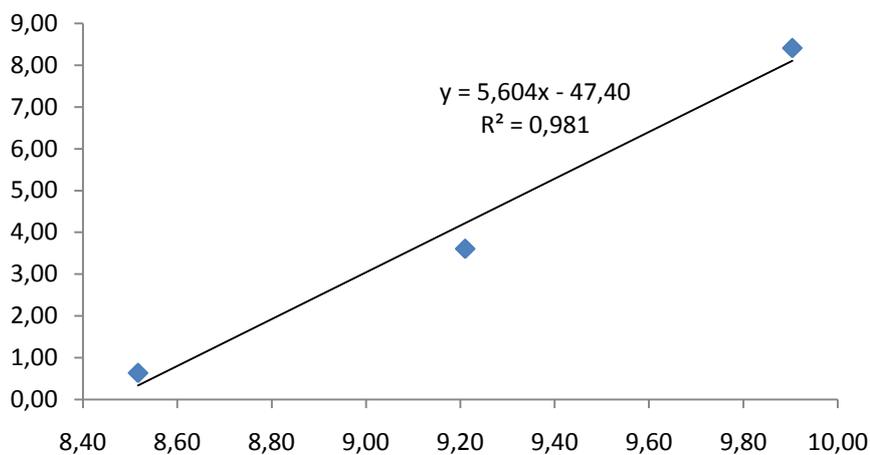


## ULANGAN 3

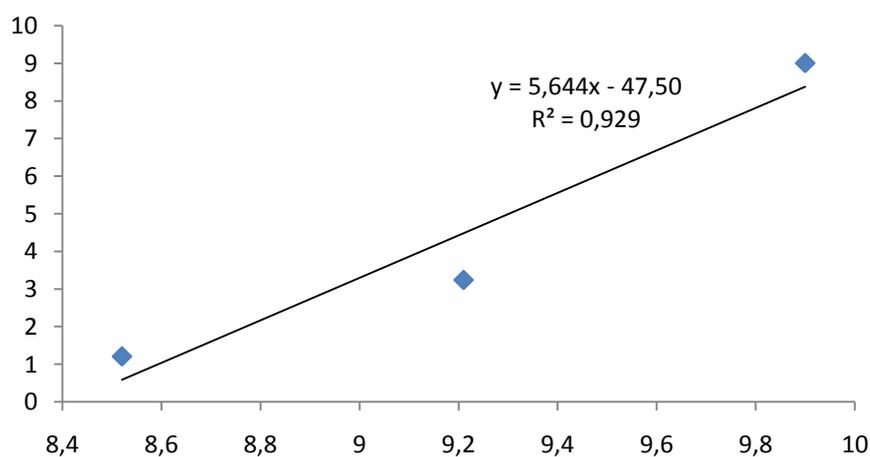


	Zona Hambat			Nilai X			Nilai Y		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
Suhu 50°C									
Konsentrasi (ppm)									
5000	0,8	1,1	0,9	8,52	0,64	1,21	0,81		
10000	1,9	1,8	2,1	9,21	3,61	3,24	4,41		
20000	2,9	3	2,8	9,90	8,41	9,00	7,84		
Nilai MBC (ppm)	2,67	2,53	2,72						
Nilai MIC (ppm)	0,67	0,63	0,68						

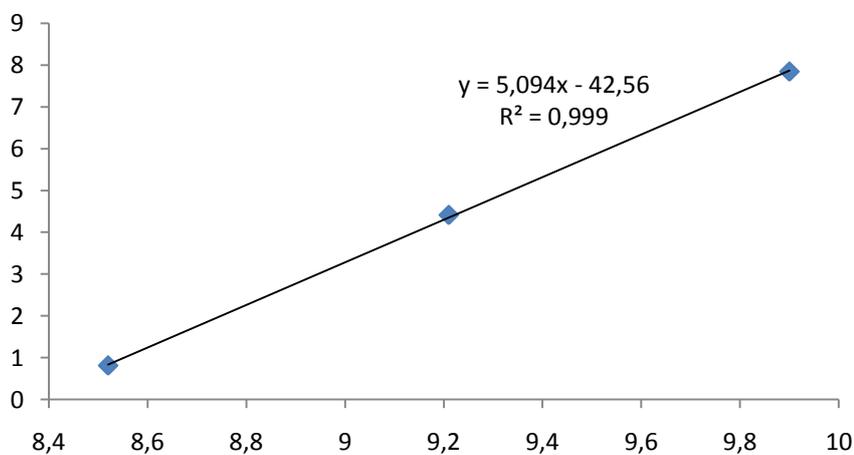
### ULANGAN 1 (Suhu 50°C)



### ULANGAN 2



### ULANGAN 3



## Lampiran 5. Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

### Komposisi media *Muller Hinton Agar* (MHA)

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

Sumber : Label media MHA

#### Prosedur Pembuatan :

1. Ditimbang media MHA sesuai kebutuhan
2. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml
3. Ditambahkan aquades sedikit demi sedikit sambil digoyang
4. Dipanaskan dengan *hotplate* suhu 100°C selama 15 menit
5. Selama pemanasan di *hotplate* sesekali digoyang erlenmeyer untuk membantu pelarutan (homogen)
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlenmeyer berarti media telah homogen
7. Media dimasukkan dalam autoklaf suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit untuk proses sterilisasi
8. Media dituangkan pada cawan steril ± 20 mL, tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas
9. Tunggu hingga padat, maka media siap untuk digunakan dalam penanaman bakteri.

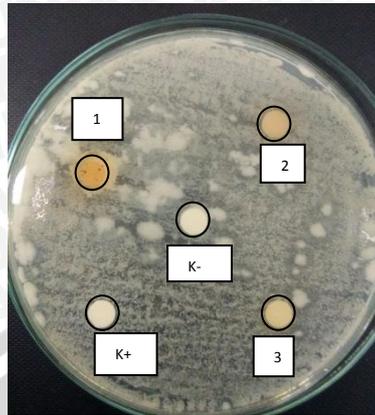
#### Kebutuhan media

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

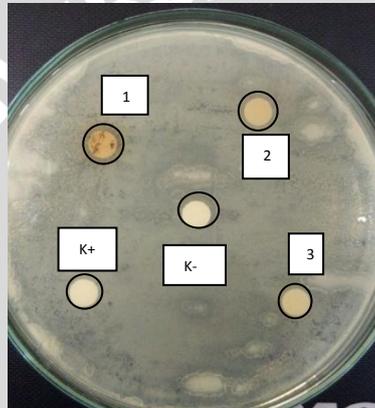
#### Kebutuhan aquades

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

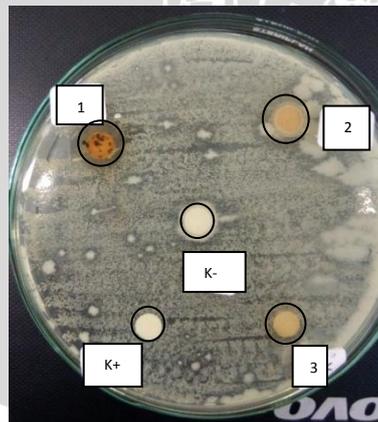
Lampiran 6. Diameter Zona Bening *Staphylococcus aureus*



Suhu pengeringan 30°C



Suhu pengeringan 40°C



Suhu pengeringan 50°C  
(a)

Keterangan :

(a) *Staphylococcus aureus*

(1) Ekstrak dengan konsentrasi 20.000 ppm

(2) Ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm

(3) Ekstrak dengan konsentrasi 5.000 ppm

Lampiran 7. Data Pengamatan Zona Hambat

Data Diameter Zona Hambat Antibakteri ekstrak kulit batang lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap *Staphylococcus aureus*

a. Diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Total	Rerata±SD
	U1	U2	U3		
<b>Suhu 30°C</b>					
5000ppm	0,6	0,8	0,7	2,1	0,70±0,10
10000ppm	1,3	1,7	1,2	4,2	1,40±0,26
20000ppm	2,1	2,3	2	6,4	2,13±0,15
K+	2,9	3,1	2,9	8,9	2,97±0,12
K-	0	0	0	0	0,00±0,00
<b>Suhu 40°C</b>					
5000ppm	0,8	0,7	1,1	2,6	0,87±0,21
10000ppm	1,6	1,9	1,7	5,2	1,73±0,15
20000ppm	2,1	2,3	2,4	6,8	2,27±0,15
K+	3,6	3,3	3,5	10,4	3,47±0,15
K-	0	0	0	0	0,00±0,00
<b>Suhu 50°C</b>					
5000ppm	0,8	1,1	0,9	2,8	0,93±0,15
10000ppm	1,9	1,8	2,1	5,8	1,93±0,15
20000ppm	2,9	3	2,8	8,7	2,90±0,10
K+	4,1	3,9	4	12	4,00±0,10
K-	0	0	0	0	0,00±0,00
<b>Total</b>	<b>17,8</b>	<b>18</b>	<b>18,5</b>	<b>54,3</b>	<b>18,10</b>

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 7.

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependents Variable hasil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	197.197 <sup>a</sup>	15	13.146	664.708	.000
Perlakuan_a	1.985	2	.993	50.191	.000
Perlakuan_b	66.048	4	16.512	834.871	.000
Perlakuan_a * Perlakuan_b	1.146	8	.143	7.242	.000
Error	.593	30	.020		
Total	197.790	45			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

#### Post Hoc Tests

Suhu

Homogeneous Subsets

Hasil

Duncan

Suhu	N	Subset		
		1	2	3
30°C	15	1.4400		
40°C	15		1.6667	
50°C	15			1.9533
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 7.

**konsentrasi  
Homogeneous Subsets**

**Hasil**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
Kontrol -	9	.0000				
5000ppm	9		.8333			
10000ppm	9			1.6889		
20000ppm	9				2.4333	
Kontrol +	9					3.4778
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 7.

UJD 5% interaksi

Hasil

Duncan

Interaksi	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
30°C - Kontrol -	3	.0000								
40°C - Kontrol -	3	.0000								
50°C - Kontrol -	3	.0000								
30°C - 5000ppm	3		.7000							
40°C - 5000ppm	3		.8667							
50°C - 5000ppm	3		.9333							
30°C - 10000ppm	3			1.4000						
40°C - 10000ppm	3				1.7333					
50°C - 10000ppm	3				1.9333	1.9333				
30°C - 20000ppm	3					2.1333	2.1333			
40°C - 20000ppm	3						2.2667			
50°C - 20000ppm	3							2.9000		
30°C - kontrol +	3							2.9667		
40°C - Kontrol +	3								3.4667	
50°C - Kontrol +	3									4.0000
Sig.		1.000	.063	1.000	.092	.092	.255	.566	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## Lampiran 8. Pembuatan Larutan

### 1. Pembuatan $\text{FeCl}_3$ 1%

Banyaknya  $\text{FeCl}_3$  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  $\text{FeCl}_3$  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

### 3. 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, dibutuhkan 1 ml DMSO 100 % dilarutkan dengan aquades 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 stok 10.000 ppm

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

$$10 \times 10.000 = V_2 \times 20.000$$

$$V_2 = \frac{10 \times 10.000}{20.000}$$

$$= 5 \text{ mL}$$

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

volumenya 10 ml

- Pembuatan 5.000 ppm

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

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

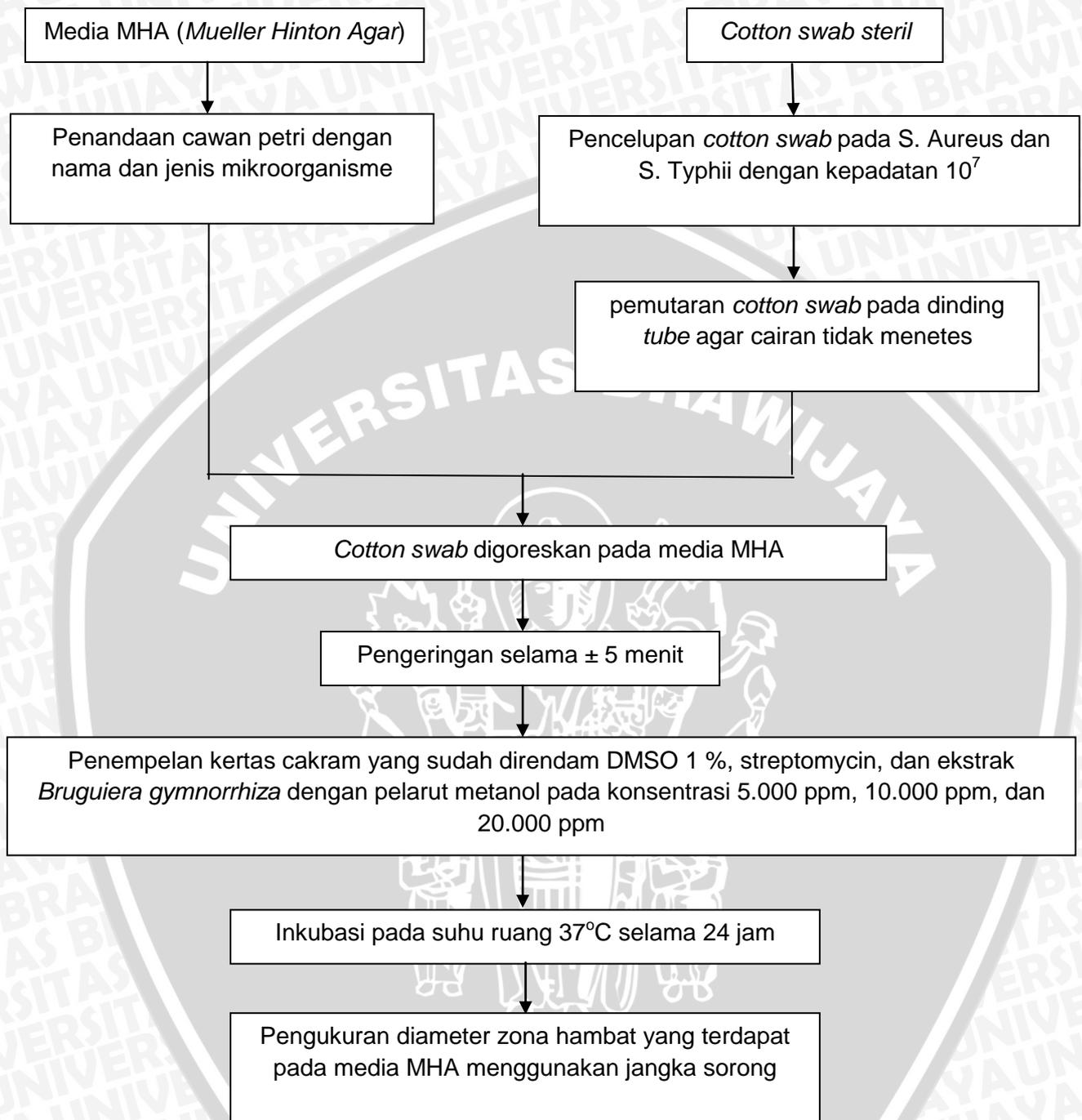
$$V_2 = \frac{10 \times 5.000}{10.000}$$

$$= 5 \text{ mL}$$

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



### Lampiran 9. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer



## Lampiran 10. Hasil Analisa LC-MS

Iceu UB Kulit Batang A

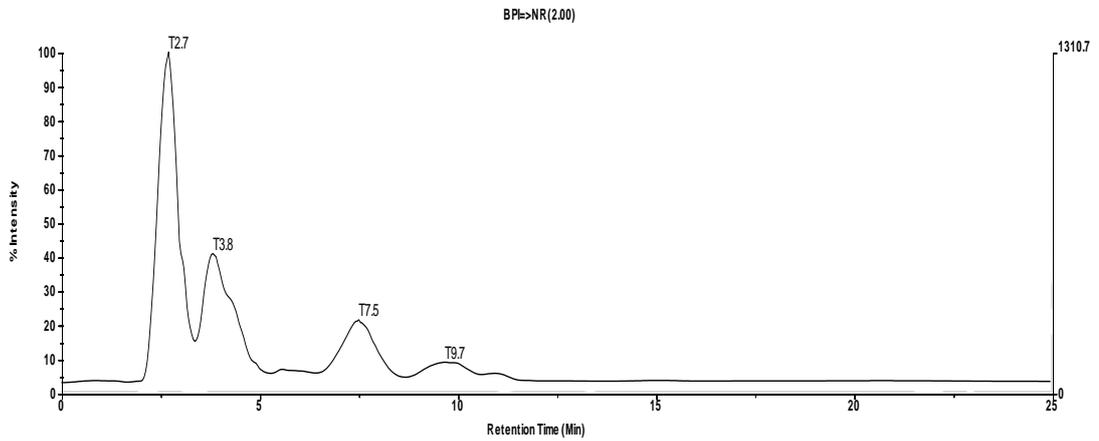
LC MS –ESI pos ion

Vol injection 2 ul

Flow 0.05 ml/min

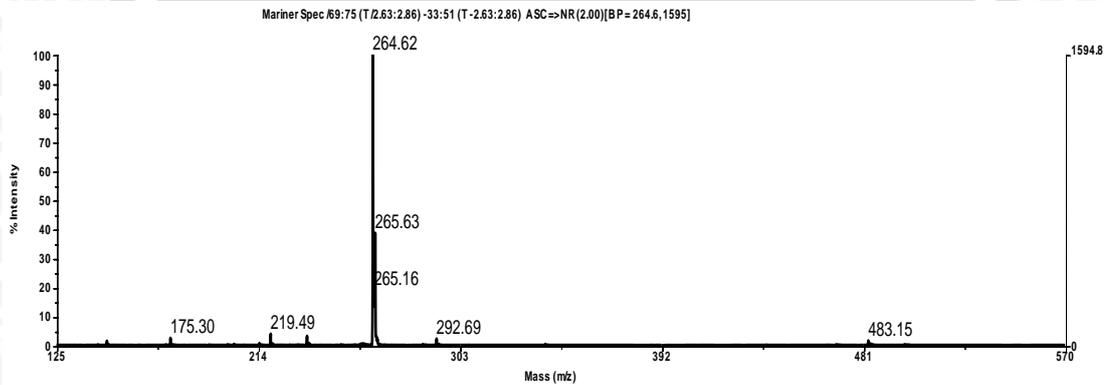
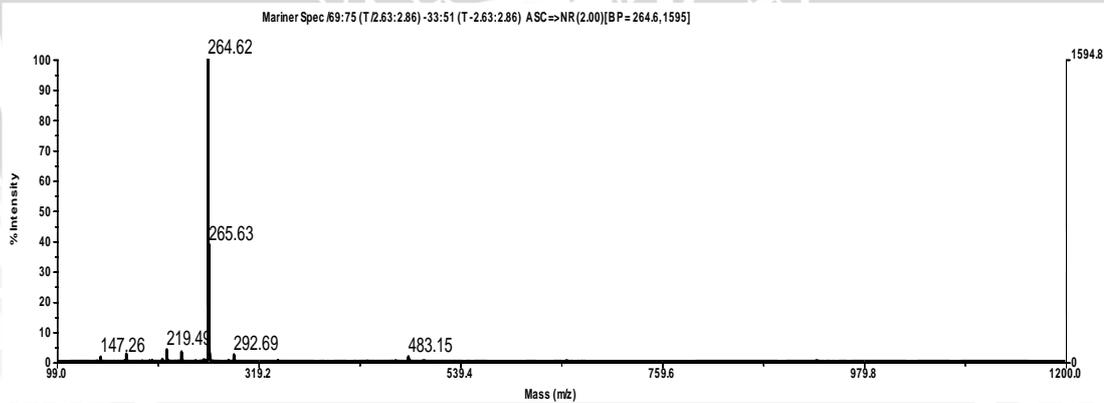
Collumn C-18 (15mm x 1 mm)

Eluent MeOH



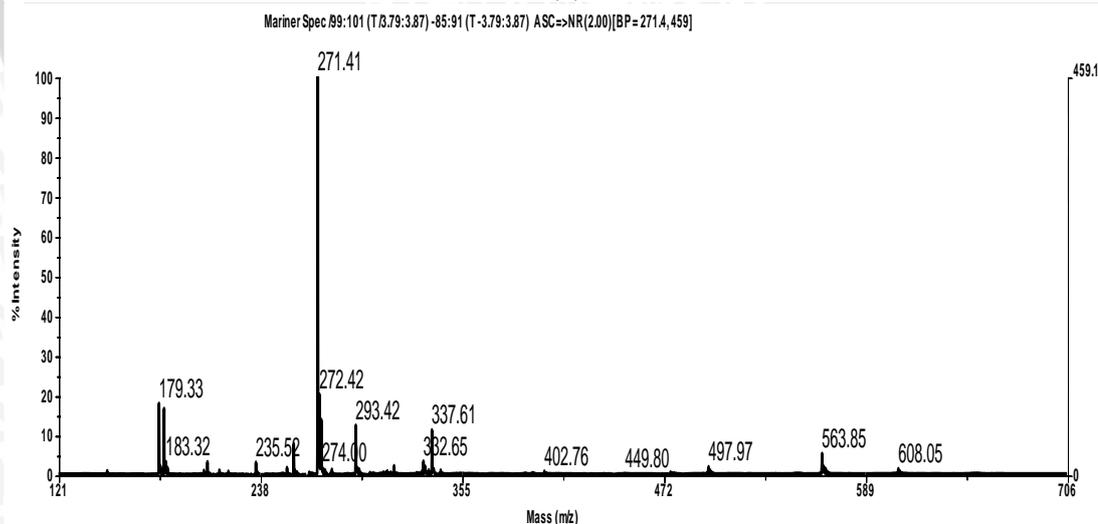
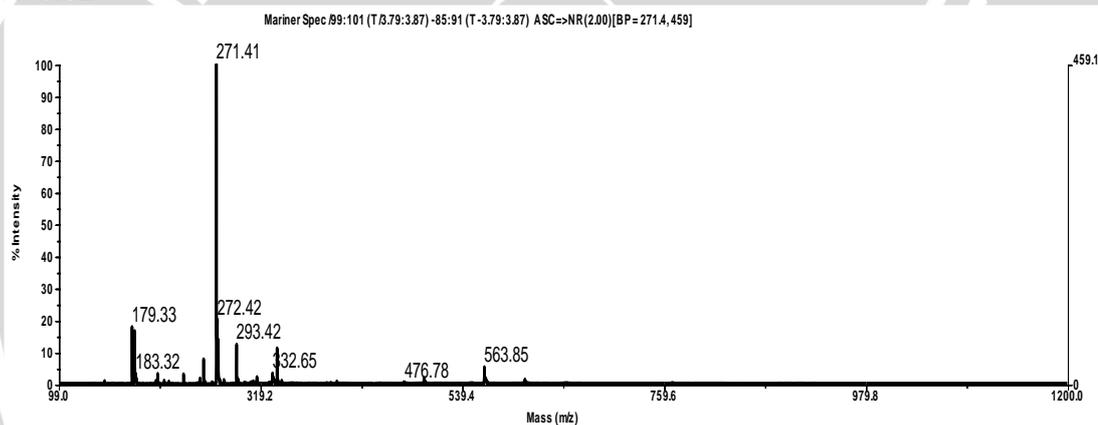
Index	Time	Lower Bound	Upper Bound	Height	Area
1	2.706233	2.048450	3.326617	1311	19786.20
2	3.829183	3.403733	5.108683	535	9916.03
3	7.507633	6.616850	8.477367	280	5137.12
4	9.677250	8.941867	10.412484	117	1191.09

Rt 2.70



Index	Centroid Mass	Relative Intensity	Area
1	147.260818	1.45	151.36
2	158.876881	0.03	146.41
3	175.303838	2.47	243.39
4	190.989689	0.03	139.52
5	219.486974	3.87	413.37
6	235.525419	3.14	407.22
7	264.621513	100	9884.92
8	265.157653	18.9	997.52
9	265.625803	38.55	3278.13
10	266.632735	2.2	126.18
11	292.693323	2.22	266.86
12	483.154107	1.56	201.28

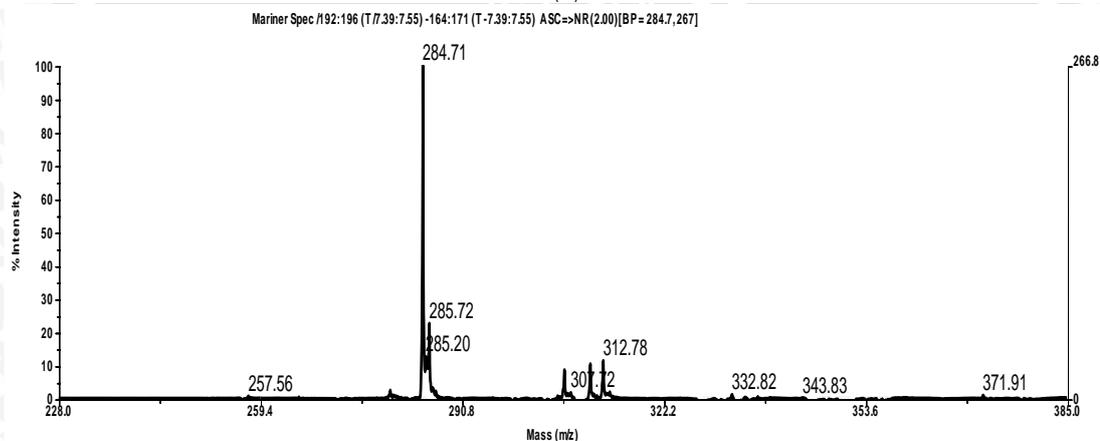
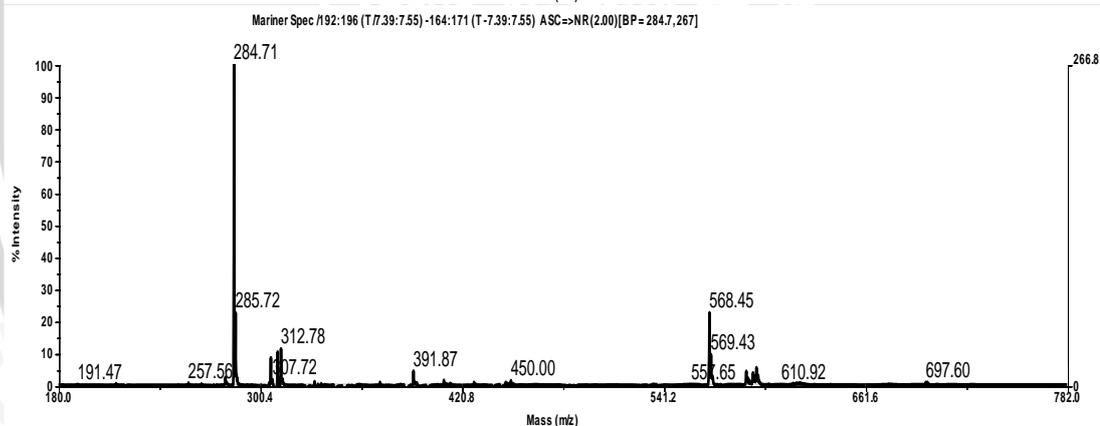
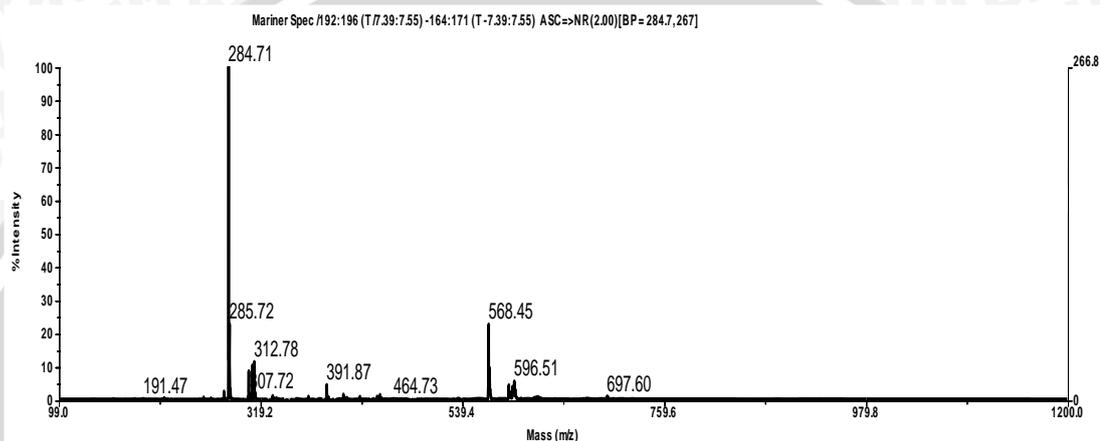
Rt 3.82



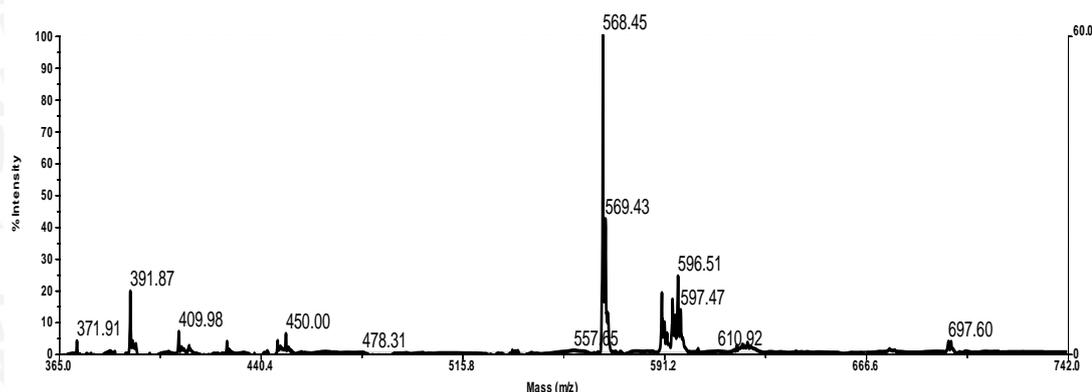
Index	Centroid Mass	Relative Intensity	Area
1	156.971116	0.02	42.78
2	158.799349	0.02	97.45
3	179.331102	17.73	659.54
4	180.316553	1.83	54.55
5	182.270568	16.46	596.73
6	182.694991	1.78	56.94
7	183.320987	3.06	117.2
8	184.274347	1.64	48.85
9	207.411032	3.06	147.31
10	208.861486	0.08	173.96
11	223.184646	0.01	63.31
12	235.51576	2.96	119.49
13	253.542411	1.62	83.62
14	257.438521	7.64	278.32
15	258.29681	0.87	39.33
16	271.409054	100	2695.93
17	271.920075	14.09	46.09
18	271.996595	12.96	37.53
19	272.421896	19.98	410.24
20	273.410955	13.7	479.47
21	274.001023	1.61	45.26
22	275.495727	1.07	60.57
23	276.451567	0.14	219.44
24	279.583684	1.2	45.76
25	291.849658	0.07	112.38
26	293.422841	12.24	475.99
27	294.382775	1.58	37.54
28	301.668746	0.35	54.87
29	313.709722	0.44	58.28
30	315.615617	2.08	87.7
31	332.648786	3.22	121.83
32	333.691336	1.89	45.71
33	337.610296	11.09	353.73
34	340.183265	0.03	51.51
35	402.757689	0.68	37.17
36	425.862788	0.02	36.89
37	449.798617	0.08	37.27
38	462.583783	0.02	43.66
39	474.248662	0.01	399.28
40	475.654238	0.21	125.03
41	476.77752	0.25	77.94

42	492.642398	0.07	35.58
43	497.970208	1.84	100.19
44	513.88963	0.07	34.15
45	549.783984	0.15	80.42
46	563.854044	5.17	208.83
47	564.794573	1.92	77.43
48	565.817731	1.37	59.98
49	608.047087	1.33	59.58

Rt 7.50



Mariner Spec #192:196 (T/7.39:7.55)-164:171 (T-7.39:7.55) ASC=>NR(2.00)[BP=284.7,267]

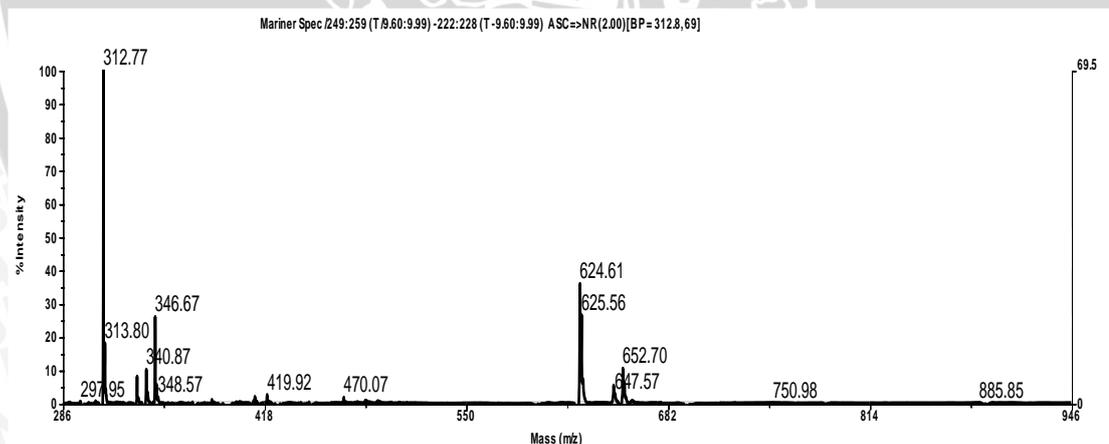
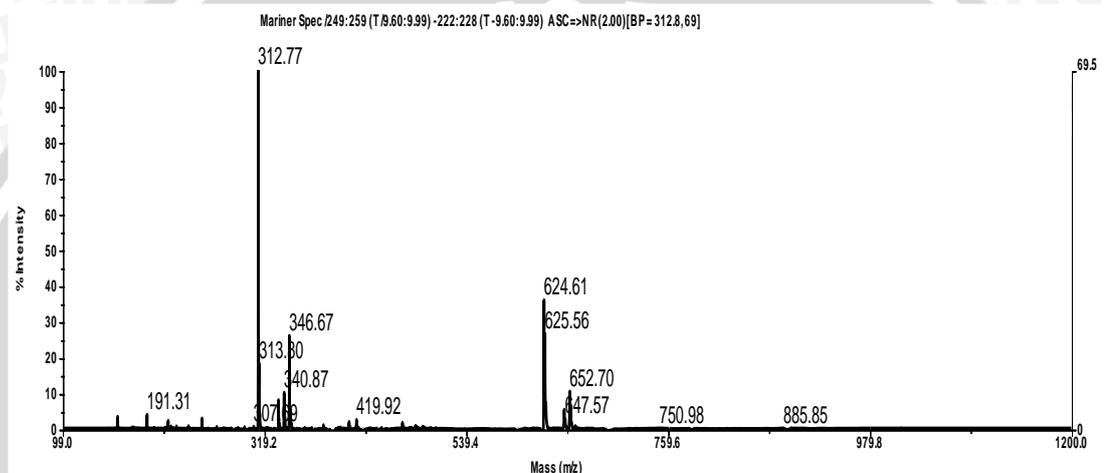


Index	Centroid Mass	Relative Intensity	Area
1	191.468725	0.17	33.27
2	218.879752	0.05	219.74
3	256.00888	0.02	74.52
4	257.558403	0.61	22.41
5	284.708732	100	1716.75
6	285.202275	12.44	32.72
7	285.716872	22.5	250.26
8	306.746696	8.49	192.3
9	307.715976	1.66	871.64
10	310.781676	10.31	250.54
11	311.332105	1.25	27
12	311.842659	0.75	27.06
13	312.781481	11.26	253.96
14	332.822844	1.07	204.01
15	334.886956	0.27	63.17
16	343.829736	0.08	492.22
17	371.909408	0.85	27.78
18	384.229219	0.14	22.92
19	386.110139	0.12	589.45
20	391.868013	4.38	116.04
21	393.897728	0.66	157.27
22	409.977684	1.51	50.99
23	427.999857	0.81	22.73
24	434.163321	0.04	43.26
25	443.065976	0.15	215.4
26	449.997933	1.37	33.03
27	464.72776	0.1	26.45
28	478.305626	0.05	46.33
29	557.654003	0.19	43.71
30	568.446239	22.51	415.36
31	569.426405	9.5	180.67

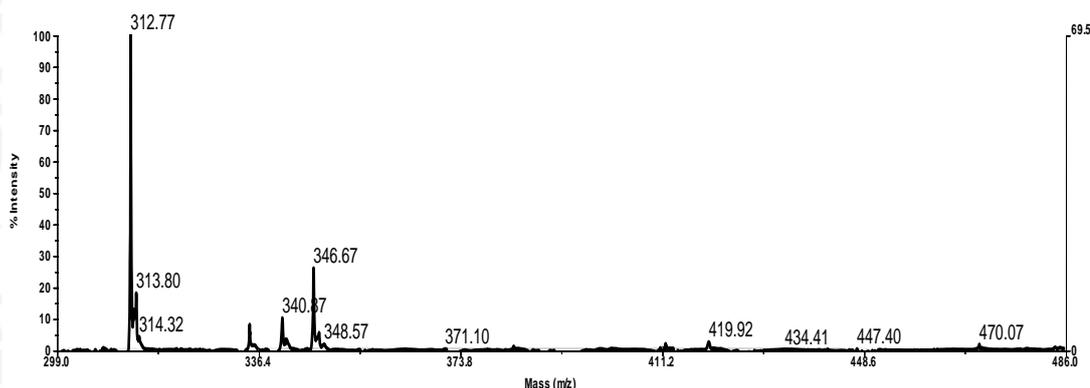


32	590.479006	4.26	45.08
33	591.422814	2.2	47.6
34	594.516347	3.81	94.21
35	595.503489	2.67	38.94
36	596.508072	5.45	140.9
37	597.465604	3.06	59.22
38	610.918451	0.13	27.79
39	697.59782	0.83	25.19
40	726.411676	0.08	23.55

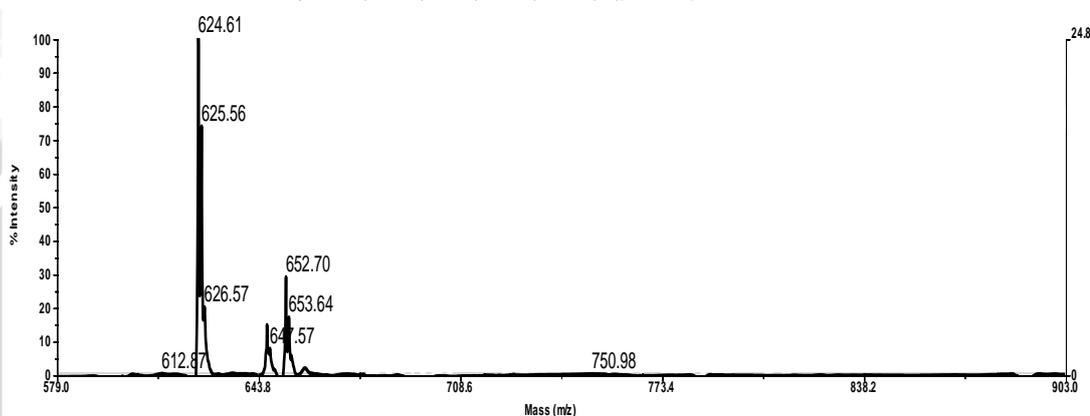
Rt 9.67



Mariner Spec (249:259 (T:9.60:9.99) -222:228 (T:9.60:9.99) ASC=>NR(2.00)[BP=312.8,69]

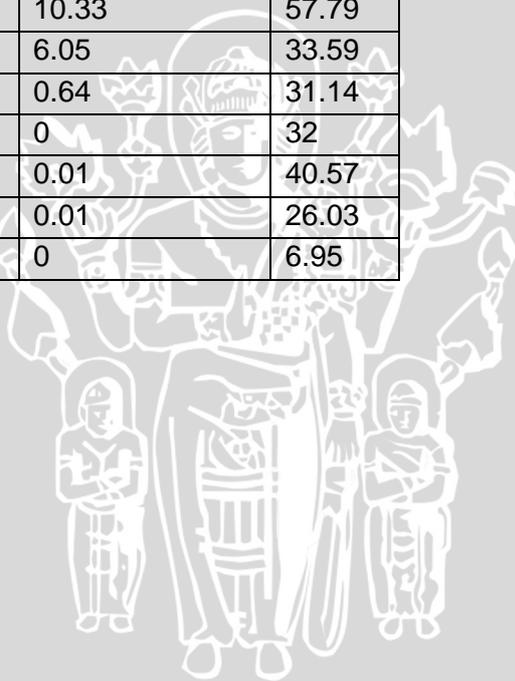


Mariner Spec (249:259 (T:9.60:9.99) -222:228 (T:9.60:9.99) ASC=>NR(2.00)[BP=312.8,69]



Index	Centroid Mass	Relative Intensity	Area
1	191.057562	0.19	11.2
2	191.314378	3.86	7.5
3	282.976633	0.07	24
4	297.948231	0.12	30.01
5	307.688972	0.55	6.8
6	312.774416	100	475.72
7	313.304034	12.69	11.02
8	313.79802	17.89	41.14
9	314.315067	4.07	8.45
10	321.2439	0.18	7.15
11	334.821681	7.94	33.54
12	337.873696	0.04	94.72
13	340.873638	9.99	74.7
14	345.41923	0.23	7.26
15	346.673837	25.81	166.61
16	347.615602	5.37	36.4
17	348.569669	1.69	21.58
18	371.100571	0.13	465.76
19	411.970377	1.59	8.61

20	413.272906	0.4	24.34
21	419.917669	2.38	25.67
22	422.079086	0.22	9.67
23	434.409807	0.05	31.79
24	447.40499	0.19	18.79
25	470.067807	1.59	8.36
26	484.127061	0.69	6.21
27	485.075179	0.6	6.31
28	612.87103	0.03	9.14
29	624.607268	35.74	244.04
30	625.558813	26.36	136.71
31	626.568231	7.13	7.33
32	635.591969	0.07	7.01
33	646.623414	5.24	8.5
34	647.568524	2.71	6.45
35	652.700135	10.33	57.79
36	653.636433	6.05	33.59
37	658.804814	0.64	31.14
38	750.980544	0	32
39	885.850912	0.01	40.57
40	894.640002	0.01	26.03
41	1159.787337	0	6.95



Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian

Ekstraksi



Kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*



Pengeringan dengan oven vakum



Kulit batang *Bruguiera gymnorrhiza*  
kering



Maserasi selama 2 x 24 jam



Penyaringan dan Filtrat



Evaporasi dengan *vacuum rotary evaporator*



Penyemprotan dengan gas nitrogen



Ekstrak kasar kulit batang  
*Bruguiera gymnorrhiza*

### Uji Fitokimia



Uji Alkaloid



Uji Flavonoid



Uji saponin



Uji steroid



Uji terpenoid



Uji tanin

Uji Kadar Air



Berat botol timbang kosong



Berat sampel



Pengovenan



Berat botol timbang + sampel

Setelah oven

Lanjutan Lampiran 10

Uji Daya Hambat



Ekstrak kasar Kulit batang *Bruguiera gymnorhiza*



Pengenceran ekstrak dan perendaman kertas cakram



Penanaman



Inkubasi 24 jam pada suhu 37°C



Pengamatan Daya Hambat



Analisa LC-MS HITACHI L 6200