

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

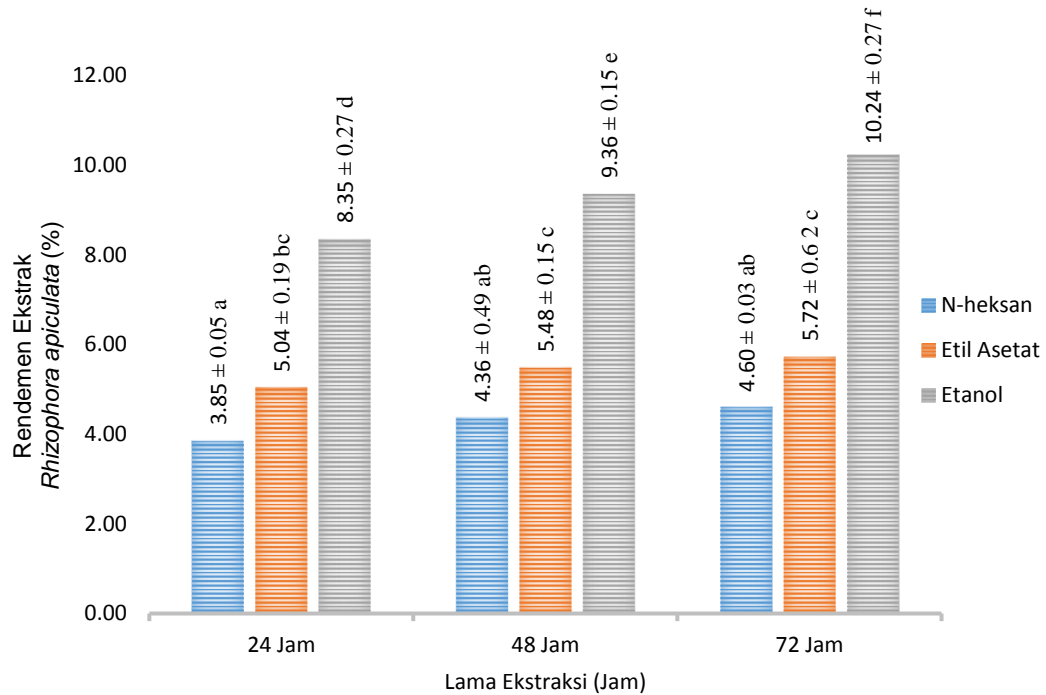
### 4.1 Penelitian pendahuluan

Penelitian tahap pertama, dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat yang bertujuan untuk mengetahui rendemen dan uji fitokimia terbaik ekstrak daun *Rhizophora apiculata* yang akan digunakan untuk uji selanjutnya.

#### 4.1.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak daun *Rhizophora apiculata* didapat berdasarkan perhitungan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat biomassa sel yang digunakan) dikalikan 100% (Sani *et al.*, 2014). Rendemen suatu ekstrak dipengaruhi oleh beberapa hal seperti metode ekstraksi yang dipilih, pelarut yang digunakan, rasio pelarut, lama ekstraksi, suhu, dan berbagai faktor lainnya (Gasemzadeh, 2011).

Hasil ANOVA menyatakan bahwa jenis pelarut, lama ekstraksi dan interaksi jenis pelarut dengan lama ekstraksi berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak kasar *Rhizophora apiculata* ( $p < 0,05$ ). Jika hasil berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut dengan uji Tukey. Hasil ANOVA dan uji Tukey dapat dilihat pada **Lampiran 13**. Hasil rendemen ekstrak dapat dilihat grafik histogram pada **Gambar 6**.



**Gambar 6.** Grafik hasil rendemen ekstrak *Rhizophora apiculata* dengan pelarut yang berbeda dan perlakuan lama waktu ekstraksi yang berbeda.

Dapat dilihat hasil yang berbeda pada setiap perlakuan. Perlakuan pelarut N-Heksan dengan lama ekstraksi 24 jam berbeda nyata terhadap pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 24 jam dan berbeda nyata pada perlakuan pelarut etanol dengan lama ekstraksi 24 jam. Pada perlakuan pelarut N-Heksan 48 jam berbeda nyata dengan pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 48 jam, dan berbeda nyata dengan perlakuan pelarut etanol dengan lama ekstraksi 48 jam. Pada perlakuan pelarut N-Heksan dengan lama ekstraksi 72 jam berbeda nyata dengan perlakuan pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 72 jam, serta berbeda nyata pada perlakuan pelarut etanol dengan lama waktu 72 jam. Perbedaan nilai rendemen yang dihasilkan dari ketiga pelarut tersebut disebabkan berbedanya sifat polaritas dari larutan-larutan tersebut.

Jika dilihat dari grafik gambar diatas rendemen ekstrak *Rhizophora apiculata* tertinggi adalah pelarut etanol 72 jam sebesar 10.2% dan yang terendah adalah n-heksan 24 jam sebesar 3,8%. Hal ini disebabkan karena pelarut etanol

merupakan jenis pelarut polar yang mungkin memiliki nilai polaritas yang tinggi sehingga mampu mengekstrak komponen senyawa lebih optimal dibandingkan dengan pelarut N-heksan dan etil asetat dan senyawa yang terkandung di dalam daun mangrove *Rhizophora apiculata* dominan bersifat polar hingga lebih mudah larut dalam pelarut polar hal ini sesuai dengan pernyataan Albab (2016), semakin tinggi tingkat kepolaran dari pelarut yang digunakan maka semakin tinggi hasil ekstrak yang diperoleh karena pada umumnya senyawa yang terdapat pada tumbuhan bersifat polar.

Pada perlakuan lama waktu yang berbeda-beda yaitu 24, 48 dan 72 jam dari setiap jenis pelarut jumlah rendemen tertinggi ialah pada lama waktu 72 jam. Pada ekstrak N-heksan di dapatkan nilai 4.60 %, ekstrak etil asetat 5.72 dan ekstrak etanol 10,24 %. Hal ini disebabkan karena lama ekstraksi mempengaruhi jumlah rendemen, semakin lama serbuk daun mangrove berkontak langsung dengan pelarut maka semakin banyak rendemen yang di dapat. Hal ini sesuai dengan penelitian Irawan (2010), menggunakan minyak nilam dan waktu ekstaksi yang berbeda didapatkan hasil bahwa lamanya waktu proses ekstraksi sangat berpengaruh terhadap minyak yang dihasilkan. Rendemen minyak yang dihasilkan berbeda dalam berbagai perubahan waktu. Kenaikan waktu proses yang digunakan menghasilkan kenaikan rendemen pada minyak yang dihasilkan. Ditambahkan oleh Spigno dan De Faveri (2007), waktu mempengaruhi rendemen sebab semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan maka bahan yang terekstrak semakin meningkat pula.

#### **4.1.2 Uji Fitokimia**

Uji kualitatif fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak kasar *Rhizophora apiculata* dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu N-Heksan, etil asetat dan etanol dan lama waktu yang berbeda.

Kandungan fitokimia yang diuji adalah alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, saponin dan triptenoid. Hasil pengujian kandungan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Uji Kualitatif Fitokimia**

Fitokimia	Perlakuan	Pelarut			Keterangan
		N-Heksan	Etil Asetat	Etanol	
Alkaloid	24	-	-	-	Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna merah jingga
	48	-	-	+	
	72	-	-	++	
Tanin	24	-	-	+	Reaksi positif ditandai dengan warna hitam kehijauan
	48	-	-	++	
	72	-	+	++	
Steroid	24	+	+	+	Reaksi positif dengan perubahan warna dari violet ke warna biru atau hijau
	48	+	++	++	
	72	++	++	++	
Flavaonoid	24	-	+	+	Reaksi positif ditandai dengan warna hijau kebiruan
	48	-	+	++	
	72	-	+	+++	
Saponin	24	-	-	+	Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya busa
	48	-	+	++	
	72	-	+	++	
Terpenoid	24	+	+	+	Reaksi positif ditandai warna merah kecoklatan maka terdapat senyawa terpenoid
	48	+	++	++	
	72	++	++	++	

**Keterangan:**

- (+++) = Sangat kuat;
- (++) = Kuat;
- (+) = Lemah;
- (-) = Tidak terdapat senyawa bioaktif

Hasil uji fitokima ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* pada tabel diatas menunjukkan bahwa pada pelarut N-Heksan hanya terdeteksi mengandung senyawa steroid dan terpenoid kuat. Pada pelarut etil asetat terdeteksi senyawa

steroid dan terpenoid kuat sedangkan saponin lemah. Pada pelarut etanol mengandung senyawa steroid, flavonoid, saponin dan terpenoid yang kuat. Sehingga dapat dilihat, dari setiap jenis pelarut yang mengandung senyawa bioaktif yang tertinggi adalah pelarut etanol, hal ini disebabkan karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *Rhizophora apiculata* bersifat polar dan etanol merupakan jenis pelarut yang memiliki nilai polaritas yang tinggi. Ditambahkan oleh Harborne (1987), etanol adalah pelarut universal termasuk dalam golongan alkohol. Alkohol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan untuk mengekstraksi habis senyawa bioaktif. Pelarut etanol mampu mengekstrak senyawa alkaloid, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida.

Uji fitokoima yang pertama adalah alkaloid dengan menggunakan pereaksi dragendrof dan reaksi positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna merah jingga. Alkaloid dalam tanaman digunakan sebagai bentuk pertahanan diri tanaman terhadap pemangsa, mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbetuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Karou *et al.*, 2006). Pada penelitian senyawa alkaloid terdeteksi pada pelarut etanol namun tidak terdeteksi pada pelarut atil asetat dan N-heksan. Hal ini sesuai dengan penelitian Priyanto (2012), menggunakan ekstrak buah buah bakau *Rhizophora* dengan tiga jenis pelarut yang berbeda yaitu etanol, N-heksan dan etil asetat senyawa alkaloid hanya terdeteksi pada pelarut etanol saat diberikan pereaksi dragendrof.

Uji selanjutnya adalah tannin, pengujian tannin dilakukan dengan menggunakan  $\text{FeCl}_3$  dan reaksi positif ditandai dengan warna hitam kehijauan. Tanin bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan mikroba dengan merusak dinding sel mikroba dan membentuk ikatan dengan protein fungsional sel mikroba

(Sudira *et al.*, 2011). Pada penelitian ini senyawa tannin pada ekstrak etanol lebih kuat karena warnanya lebih pekat dibandingkan dengan pelarut etil asetat sedangkan pada pelarut N-heksan tidak terdeteksi. Hal ini sesuai dengan Ismarani (2012), senyawa tannin akan larut dalam pelarut organik seperti etanol, methanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Sehingga senyawa tannin akan lebih optimal jika diekstrak dengan pelarut polar.

Uji selanjutnya adalah steroid, steroid banyak terdapat di alam sebagai fraksi lipid dari tanaman atau hewan. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna dari violet ke warna biru atau hijau. Mekanisme kerja steroid sebagai anti bakteri adalah menghambat sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri (Siregar *et al.*, 2012). Pada penelitian ini senyawa steroid positif terkandung pada semua jenis pelarut hal ini disebabkan karena ekstrak *Rhizophora apiculata* memiliki kandungan steroid yang cukup tinggi dan hal ini sesuai dengan penelitian Ernawati dan Hasmila (2015), bahwa berdasarkan pengujian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak *Rhizophora* positif mengandung beberapa jenis senyawa metabolit sekunder yaitu golongan steroid dan flavonoid.

Uji selanjutnya adalah flavonoid, pengujian menggunakan  $H_2SO_4$  dan reaksi positif ditandai dengan warna hijau kebiruan. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji (Pramono *et al.*, 1993). Senyawa flavonoid memiliki peran untuk melindungi dari serangan yang ada disekitar seperti serangan radikal bebas, sehingga senyawa fenolik dan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan (Rompas *et al.*, 2016). Pada penelitian ini senyawa flavonoid lebih kuat pada pelarut etanol di bandingkan dengan pelarut etil asetat sedangkan pada pelarut N-heksan tidak terdeteksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sriwahyuni (2010), flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang

memiliki banyak gugus –OH dengan adanya perbedaan keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hydrogen.

Uji selanjutnya adalah uji saponin, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya busa. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Ningsih *et al.*, 2016). Pada penelitian ini terdeteksi senyawa saponin lebih kuat pada pelarut etanol di bandingkan dengan dengan pelarut N-heksan dan etil asetat. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya banyaknya busa pada ekstrak etanol dibandingkan dua pelarut lainnya. Ditambahkan oleh Ismarani (2012), senyawa tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Sehingga senyawa tanin bersifat polar.

Uji selanjutnya adalah terpenoid, reaksi positif ditandai warna merah kecoklatan. Mekanisme terpenoid sebagai senyawa antibakteri yaitu bereaksi dengan protein membran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga berakibat rusaknya protein transmembran yang menyebabkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya akan terhambat (Cowan, 1999). Pada penelitian ini senyawa triptenoid terdapat pada semua jenis pelarut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Harbone (1987), yang mengatakan bahwa pelarut N-heksan dapat mengekstrak senyawa golongan steroid dan terpenoid, sedangkan pelarut etil asetat mampu mengekstrak senyawa fenol dan terpenoid dan pelarut etanol dapat mengekstrak senyawa fenolik, karotenoid dan tannin.

Efektivitas ekstraksi suatu senyawa oleh pelarut sangat tergantung kepada kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Penggunaan jenis pelarut atau kekuatan ion pelarut dapat memberikan pengaruh terhadap rendemen senyawa yang dihasilkan (Kemit *et al.*, 2015). Waktu ekstraksi yang tepat akan menghasilkan rendemen ekstrak senyawa yang tinggi. Waktu maserasi yang terlalu singkat akan mengakibatkan tidak semua senyawa fitokimia larut dalam pelarut yang digunakan dan apabila waktu ekstraksi terlalu lama maka senyawa fitokimia yang diekstrak akan rusak (Utami, 2009).

Pada perlakuan lama waktu yang berbeda yaitu 24, 48 dan 72 jam dari setiap jenis pelarut, yang memiliki kandungan senyawa biokatif yang kuat terdapat pada perlakuan 72 jam. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu ekstraksi yang diberikan maka senyawa bioaktif yang berperan dalam menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri juga akan meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian Wahyuni dan Widjarnoko (2015), pada ekstraksi pada labu kuning dengan waktu yang berbeda-beda yaitu 5, 15 dan 25 menit hasil tertinggi adalah ekstraksi selama 25 menit. Hal ini dikarenakan ekstraksi selama 25 menit memberikan waktu yang cukup banyak bagi pelarut untuk menembus dinding sel dan menarik keluar senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan, sehingga kandungan senyawanya lebih tinggi. Berdasarkan hasil penelitian waktu terbaik yang digunakan untuk penelitian utama adalah 72 jam karena memiliki jumlah rendemen dan fitokimia terbaik. Ditambahkan oleh Elita *et al.*, (2013) bahwa kultur umur 72 jam (hari ke-3) merupakan waktu optimum produksi senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*.

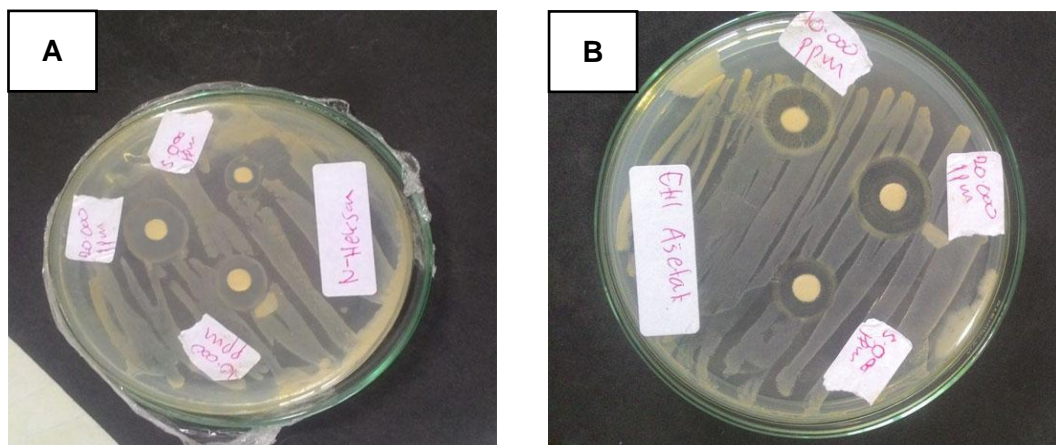


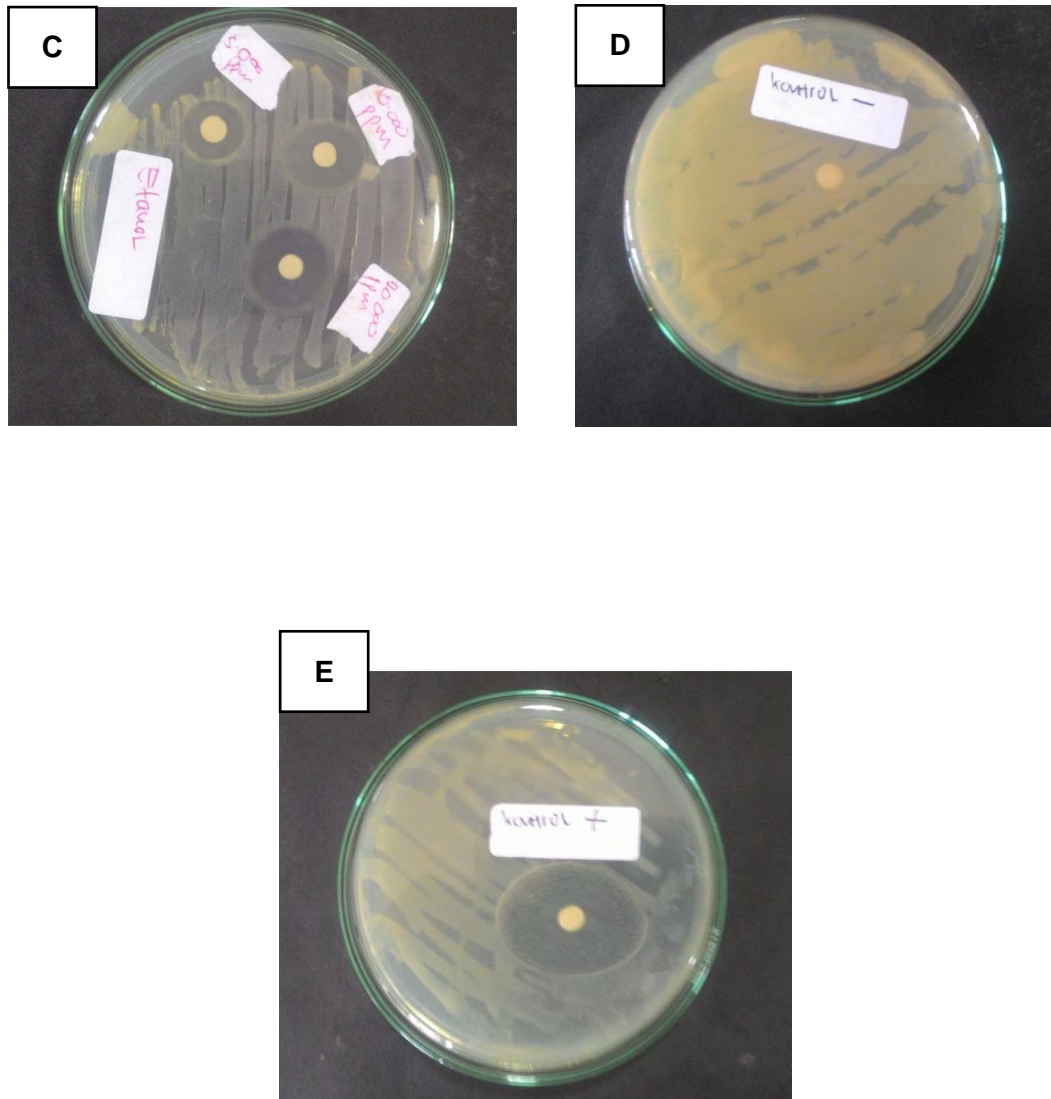
## 4.2. Penelitian Utama

### 4.2.1. Hasil Analisa Uji Cakram

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak *Rhizophora apiculata* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan mengukur besarnya diameter zona hambat. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis pelarut yang berbeda yakni N-heksan, etil asetat dan etanol dengan masing-masing konsentrasi 5.000 ppm, 10.000 ppm dan 20.000 ppm dengan perbandingan kontrol positif amoxicillin serta kontrol negatif DMSO 10 %. Pada metode ini aktivitas antibakteri dihitung dengan mengukur zona hambat di sekitar lubang sampel yang terlihat jernih. Untuk diameter zona bening dari berbagai jenis pelarut dengan konsentrasi yang berbeda-beda dapat dilihat pada **Gambar 7** dan histogram rerata uji diameter zona hambat ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* dapat pada pada **Gambar 8**.

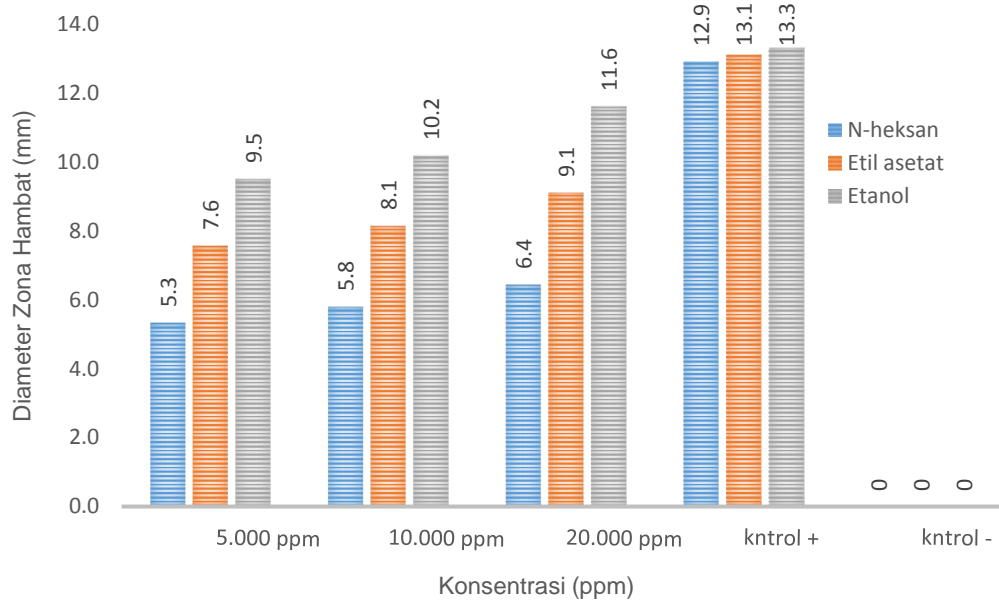
Dari hasil uji diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* dilakukan Uji Rancangan Acak Lengkap dengan taraf 5 % menggunakan aplikasi SPSS 16. Jika hasil ANOVA dari berbagai konsentrasi dan jenis pelarut menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka selanjutnya dilakukan uji Tukey untuk menentukan perlakuan kombinasi terbaik. Hasil uji Tukey dapat dilihat pada **Lampiran 14**.





Keterangan : A= Ekstrak N-heksan Konsentrasi 5.000, 10.000 dan 20.000 ppm,  
 B= Ekstrak Etil asetat Konsentrasi 5.000, 10.000 dan 20.000 ppm, C= Ekstrak  
 Etanol 5.000, 10.000 dan 20.000 ppm, D= Kontrol – DMSO 10 %, E= Kontrol +  
 amoxicillin

**Gambar 7.** Diameter Zona Bening



**Gambar 8.** Grafik hasil uji cakram ekstrak *Rhizophora apiculata* dengan pelarut yang berbeda dan konsentrasi yang berbeda.

Berdasarkan grafik diatas hasil uji cakram yang memiliki zona hambat tertinggi dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pelarut etanol dengan konsentarsi 20.000 ppm yaitu 11,6 mm sedangkan zona hambat terendah adalah pelarut N-hekan dengan konsentrasi 5.000 ppm yaitu 5,3 mm. Hal ini terjadi karena pengaruh interaksi antara konsentrasi yang tinggi dan jenis pelarut memberikan pengaruh efektif terhadap terhadap aktifitas antibakteri. Pelakuan kontrol negatif menggunakan DMSO 10% tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri karena tidak adanya zona bening ataupun zona keruh di sekitar cakram pada bakteri uji pada setiap jenis pelarut, hal ini menunjukkan bahwa DMSO 10% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga penggunaan DMSO 10% sebagai pelarut dalam melarutkan ekstrak tidak mempengaruhi ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Widowati dan Harfia (2009), DMSO merupakan pelarut yang dapat digunakan untuk melarutkan sebagian ekstrak yang tidak dapat larut dalam air dan pada konsentrasi dibawah 10 % biasanya DMSO tidak toksik kepada sel. Ditambahkan oleh Handayani *et al.*

(2013), DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar. Kontrol positif menggunakan Amoxicillin, Amoxicillin merupakan obat semi sintetik dari kelas antibiotik penisilin. Amoxicillin mempunyai spektrum antibakteri yang luas terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Kaur *et al.*, 2011).

Menurut Adolf *et al.* (2006), standar diameter zona hambat yang dapat dikatakan efektif menghambat adalah yang memiliki diameter > 11 mm, dikatakan intermediete jika memiliki diameter zona hambat 9-11 mm, dan dikatakan tidak efektif menghambat jika memiliki diameter zona hambat < 9 mm. Jika dibandingkan dengan standart tersebut maka ekstrak *Rhizophora apiculata* dengan perlakuan pelarut etanol 20.000 ppm cukup efektif menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil penelitian, hasil daya antibakteri ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya dan jumlah konsentrasi yang digunakan. Hal ini disebabkan karena senyawa antibakteri pada *Rhizophora apiculata* lebih banyak terlarut dalam pelarut polar di bandingkan dengan pelarut non polar dan semi polar. Menurut Cowan (1999), etanol dan metanol merupakan pelarut-pelarut yang sering digunakan untuk mengekstrak senyawa antimikroba dari tumbuhan. Karena senyawa – senyawa tersebut umumnya merupakan senyawa aromatik dan organik jenuh. Ditambahkan oleh Suciaty *et al.* (2012), semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *mangrove* berarti kandungan bahan antibakteri juga semakin banyak, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan lebih cepat membunuh sel – sel mikroorganisme.

#### 4.2.2 Uji MIC dan MBC

Uji *MIC* dan *MBC* merupakan metode yang digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM/MIC) dan kadar bunuh minimum (KBM/MBC). Hasil uji antibakteri diperoleh jenis pelarut dan konsentrasi terbaik dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pelarut etanol dengan konsentrasi 20.000 ppm. Berdasarkan hasil tersebut maka dilanjutkan dengan uji MIC untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak *Rhizophora apiculata* dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji MIC dapat dilihat pada

#### Tabel 3 .

**Tabel 3. Hasil Uji MIC**

Konsentrasi	Rata-rata OD sebelum inkubasi	Rata-rata setelah OD inkubasi	$\Delta$ OD
20.000 ppm	0.531 $\pm$ 0.01	0.217 $\pm$ 0.02	+
10.000 ppm	0.546 $\pm$ 0.05	0.305 $\pm$ 0.05	+
5.000 ppm	0.584 $\pm$ 0.02	0.413 $\pm$ 0.05	+
2.500 ppm	0.601 $\pm$ 0.03	0.455 $\pm$ 0.03	+
1.250 ppm	0.610 $\pm$ 0.04	1.240 $\pm$ 0.03	-
Kontrol +	0.587 $\pm$ 0.03	0.125 $\pm$ 0.08	+
Kontrol -	0.602 $\pm$ 0.01	1.573 $\pm$ 0.04	-

Keterangan :

- : terdapat pertumbuhan bakteri
- + : pertumbuhan bakteri terhambat

Dari hasil uji MIC tersebut dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 20.000, 10.000, 5.000 dan 2.500 dan kontrol positif menghasilkan  $\Delta$ OD positif sedangkan pada konsentrasi 1.250 dan kontrol negatif menghasilkan  $\Delta$ OD negatif.  $\Delta$ OD menunjukkan tingkat kekeruhan medium,  $\Delta$ OD dikatakan positif jika sampel terlihat jernih sedangkan dikatakan negatif jika sampel terlihat keruh. Dari hasil diatas maka nilai MIC terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini adalah 2.500 ppm karena pada konsentasi tersebut sudah dapat menghambat bakteri dilihat dari media yang agak jernih yang artinya jumlah bakteri yang tumbuh sedikit. Adapun yang dimaksud dari MIC itu sendiri adalah konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Jadi, semakin kecil nilai MIC maka bisa dikatakan konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri semakin

baik, namun jika nilai MIC semakin tinggi maka konsentrasi untuk menghambat pertumbuhan bakteri semakin rendah.

Menurut Purwoko (2007), pertumbuhan bakteri dapat diketahui dengan mengukur selisih antara absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Jumlah sel bakteri dapat diukur dengan cara mengetahui kekeruhan (turbiditas) kultur. Semakin keruh suatu kultur, semakin banyak jumlah selnya. Cahaya yang dipancarkan pada spektrofotometer akan mengenai sel sehingga sebagian cahaya akan diserap dan sebagian diteruskan. Banyaknya cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri pada batas-batas tertentu. Ditambahkan oleh Pelczar dan Chan (2008), nilai KHM (MIC) dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu organisme uji, ukuran inokulum, komposisi media kultur, waktu inkubasi, serta kondisi inkubasi itu sendiri. Kondisi inkubasi yang mempengaruhi yakni suhu, aerasi dan pH.

Setelah di dapatkan hasil MIC, selanjutnya di lakukan uji MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*), nilai MBC ditentukan dari konsentrasi terendah ekstrak yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni pada cawan petri. Hasil uji MBC dapat dilihat pada **Tabel 4**.

**Tabel 4. Hasil Uji MBC**

Konsentrasi	Rata –rata jumlah koloni (Cfu/plate) ± SD
20.000 ppm	54 ± 3.21
10.000 ppm	85.3 ± 2.51
5.000 ppm	166 ± 4.00
2.500 ppm	245 ± 2.51
Kontrol +	9.3 ± 0.57
Kontrol -	TBUD

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa pada ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Jumlah pertumbuhan tertinggi terdapat pada konsentrasi 2.500 ppm dengan rerata bakteri yang tumbuh  $245 \pm 2.51$  cfu/plate sedangkan jumlah

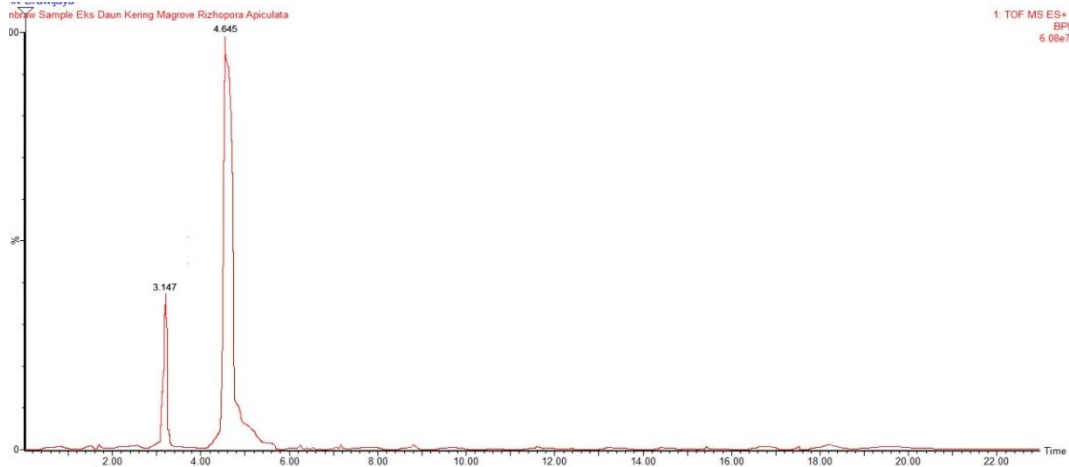
pertumbuhan bakteri terendah adalah pada konsentrasi 20.000 ppm dengan rerata bakteri yang tumbuh  $54 \pm 3.21$  cfu/plate. Pada perlakuan kontrol positif terdapat rerata jumlah koloni  $9.3 \pm 0.57$  cfu/plate sedangkan perlakuan kontrol negatif jumlah koloninya terlalu banyak untuk dihitung. Berdasarkan hasil diatas maka disimpulkan bahwa hasil uji MBC menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora apiculata* memiliki aktivitas bakteristatik namun tidak memiliki aktivitas bakterisidal, karena masih terdapat koloni bakteri yang tumbuh lebih dari 8 koloni.

Bakteriostatik adalah kemampuan menghambat perkembangbiakan bakteri sedangkan bakterisidal memiliki sifat mematikan bakteri. Menurut Benson (1990), antibakteri dikategorikan sebagai bakteriostatik jika pada konsentrasi tersebut bakteri tidak mengalami kematian, namun juga tidak tumbuh. Antibakteri dikategorikan sebagai bakteriosidal jika pada konsentrasi tersebut bakteri mengalami kematian. Menurut Edberg (1983), menjelaskan bahwa senyawa antibakteri bekerja dengan cara berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan juga berdifusi ke dalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat (bakteriostatik) dan atau mati (bakteriosidal). Selain itu senyawa antibakteri juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi.

#### **4.2.3 Uji LC-MS**

Analisis *Liquid Chromatograph Mass Spectrofotometry* (LCMS) dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa dalam ekstrak yang diuji. Prinsip LC/MS dibagi kedalam empat langkah, yaitu pengenalan sampel, ionisasi molekul sampel untuk mengubah molekul netral kedalam bentuk ion dalam fase gas (metode ionisasi), pemisahan ion fase gas oleh *mass analyzer* dan

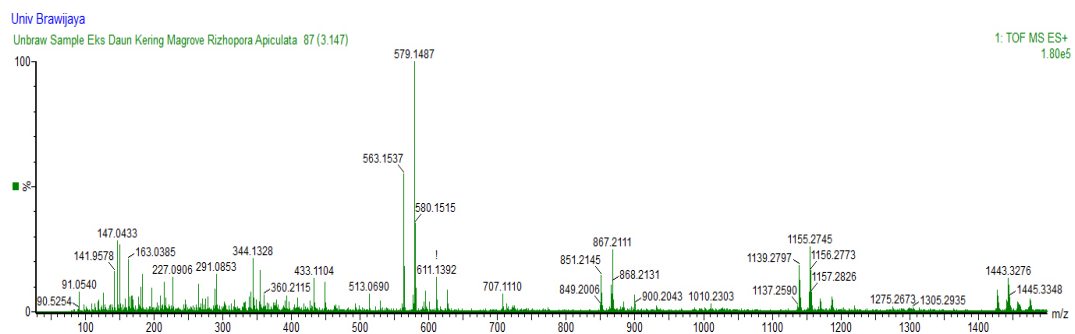
pengidentifikasi ion-ion yang terpisah. Komponen penting dari *mass spectromometer* adalah sumber ion dan *mass analyzer* (Chen *et al.*, 2007). Hasil identifikasi kromatogram ekstrak etanol daun *Rhizophora apiculata* dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9** : Hasil kromatogram ekstrak etanol daun *Rhizophora apiculata*

Berdasarkan Gambar 10 diatas, ekstrak etanol daun *Rhizophora apiculata* memiliki 2 puncak. Puncak-puncak dari 2 waktu retensi dapat dilihat pada Gambar 10 dan Gambar 11.

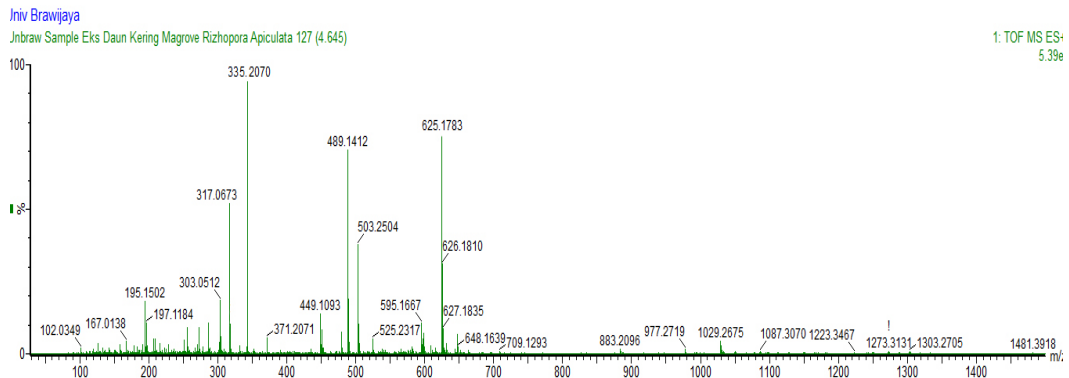
- Rt 3.14



**Gambar 10** : Spektrum massa waktu retensi 3,14



- Rt 4.65



**Gambar 11** : Spektrum massa waktu retensi 4.64

Senyawa yang terdeteksi pada puncak pertama diduga sebagai senyawa *coumarin* yang muncul pada *retention time* 3.14 dengan berat molekul 147.0433 g/mol dan memiliki rumus  $C_9H_6O_2$ . *Coumarin* merupakan golongan senyawa fenilpropanoid yang memiliki cincin laktone enam dan memiliki inti 2H-1-benzopiran-2-on dengan rumus molekul  $C_9H_6O_2$  (Isnawati *et al.*, 2008). *Coumarin* merupakan senyawa alami yang berasal dari tumbuhan dan dikenal karena sifat farmakologinya. *Coumarin* memiliki aktivitas antiinflamasi, antikoagulan, antibakteri, antijamur, antivirus, antikanker, antihipertensi dan antioksidan (Venugopala *et al.*, 2013).

Senyawa yang terdeteksi pada puncak kedua di duga sebagai senyawa rhamnazin yang muncul pada *retention time* 4.64 dengan berat molekul 335.2070 g/mol dan memiliki rumus  $C_{17}H_{15}O_7$  yang merupakan senyawa turunan flavonoid. Menurut Tringali (2001), senyawa flavonoid yang telah dilaporkan efektif menghambat peroksidasi asam linoleat dan mencegah pembentukan anion superoksida antara lain quersetin, isorhamnetin dan rhamnazin. Flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Mekanisme kerja flavonoid untuk menghambat pertumbuhan bakteri adalah menyebabkan

terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Siregar *et al.*, 2012).