

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI
DARI *Sonneratia caseolaris***

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

Oleh:

MAHFUDIN

NIM. 0710830008



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2011

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI
DARI *Sonneratia caseolaris***

**LAPORAN SKRIPSI
SEBAGAI SALAH SATU SYARAT MEMPEROLEH GELAR SARJANA
PADA FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG**

Oleh:

MAHFUDIN

NIM. 0710830008

**Mengetahui
Ketua Jurusan MSP**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP : 1960 0322 1986 01 1001
Tanggal : _____

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP : 19640604 199002 2 002
Tanggal : _____

Dosen Pembimbing II

Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP : 19680919 200501 1 001
Tanggal : _____

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



RINGKASAN

Mahfudin (0710830008). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Antibakteri Dari *Sonnerati caseolaris* (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS** dan **Ir. Muhamad Firdaus, MP**)

Pangan merupakan kebutuhan esensial bagi setiap manusia. Namun, adanya bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada pangan menyebabkan bahaya keracunan pangan (*Foodborne diseases*). Untuk mencegah bakteri tersebut diperlukan adanya antibakteri. *Sonneratia caseolaris* merupakan tumbuhan mangrove yang merupakan sumber senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang kandungan fitokimia pada *S. caseolaris* yang dapat digunakan sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kandungan fitokimia dari akar, batang, kulit, daun, bunga dan buah *S. caseolaris* dan mendapatkan senyawa bioaktif dari kandungan fitokimia pada salah satu bagian *S. caseolaris* yang paling berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Agustus 2010 – Januari 2011.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif. Metode deskriptif adalah suatu metode dalam meneliti status sekelompok manusia, suatu obyek, suatu kondisi, suatu sistem pemikiran, ataupun suatu kelas peristiwa pada masa sekarang. Pada penelitian ini peneliti mencoba menggambarkan dan menginterpretasikan senyawa bioaktif dari kandungan fitokimia bagian *S. caseolaris* yang dapat digunakan sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Hasil penelitian menunjukkan *S. caseolaris* memiliki kandungan fitokimia alkaloid, tanin, saponin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Namun, senyawa saponin tidak ditemukan pada bagian batang, senyawa fenolik tidak ditemukan pada bagian akar, daun dan bunga, senyawa triterpenoid tidak ditemukan pada bagian buah dan senyawa steroid tidak ditemukan pada bagian batang. Hasil antibakteri terbaik terdapat pada bagian bunga *S. caseolaris* pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm memiliki zona penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 8,4 mm dan zona penghambatan pada bakteri *E. coli* 8,8 mm. Hasil identifikasi UV-Vis dan FT-IR menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang paling berpotensi digunakan sebagai antibakteri adalah golongan terpenoid.

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada senyawa antibakteri ekstrak bunga *S. caseolaris* menggunakan metode identifikasi GC-MS dan NMR untuk mengetahui golongan senyawa terpenoid yang paling berpotensi sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada ALLAH SWT, atas petunjuk, rahmat dan hidayah-Nya dalam menyelesaikan penulisan laporan Skripsi ini, tidak lupa pula kepada Nabi Muhammad SAW sebagai panutan penulis. Laporan ini berjudul Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Bioaktif Antibakteri Dari *Sonneratia caseolaris*.

Penulis mengucapkan terima kasih atas terselesaikannya laporan skripsi ini kepada :

1. Ayah dan Ibu tercinta atas limpahan kasih sayang, do'a, dukungan serta materi yang telah diberikan.
2. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS dan Ir. Muhamad Firadus, MP selaku Dosen Pembimbing atas segala petunjuk dan bimbingan mulai penyusunan usulan usulan skripsi sampai dengan terselesaikannya laporan ini.
3. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen penguji atas semua masukan yang diberikan demi kesempurnaan laporan ini.
4. Teman-teman THP yang telah mendukung dan memberikan do'a dalam penyelesaian laporan Skripsi ini.
5. Semua pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan sehingga dapat tersusunnya laporan ini.

Penulis berharap semoga laporan Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pihak yang memerlukan.

Malang, 17 Juni 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
LEMBAR PERSEMBAHAN	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian	5
1.5 Tempat dan Waktu	5
 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Sonneratia caseolaris</i>	6
2.2 Bioaktif Dari Mangrove	8
2.3 Fitokimia.....	11
2.3.1 Flavonoid.....	11
2.3.2 Tanin	12
2.3.3 Terpenoid	13
2.3.4 Alkaloid.....	13
2.3.5 Fenolik.....	14
2.3.6 Glikosida.....	15
2.3.7 Steroid	15
2.3.8 Saponin	16
2.4 Isolasi.....	17
2.4.1 Ekstraksi.....	17
2.4.2 Pelarut.....	20
2.4.2.1 Metanol.....	21
2.4.2.2 Kloroform	22
2.4.2.3 Etil Asetat	22
2.4.2.4 Heksan	23
2.4.3 Fraksinasi	23
2.5 Senyawa Aktif Antimikroba	24
2.5.1 Mekanisme Kerja Antimikroba Terhadap Gram Positif.....	24
2.5.2 Mekanisme Kerja Antimikroba Terhadap Gram Negatif	26
 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitan	30
3.1.1 Bahan Penelitian	30
3.1.2 Alat Penelitian	30

3.2 Metode Penelitian	31
3.3 Prosedur Penelitian	31
3.3.1 Pembuatan Sampel Kering	33
3.3.2 Perhitungan Rendemen	34
3.3.3 Uji Fitokimia	35
3.3.4 Ekstraksi Mangrove	42
3.3.5 Pembuatan Media	42
3.3.6 Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak <i>S. caseolaris</i>	43
3.3.7 Metode Pemisahan (Partisi)	44
3.3.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	44
3.3.9 Identifikasi Spektra Senyawa Aktif (UV-Vis dan IR)	46
3.3.9.1 Spektrofotometer UV-Vis	46
3.3.9.2 Spektrofotometer FT-IR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>)	45
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Fitokimia	47
4.2 Ekstraksi dan Uji Antibakteri Ekstrak <i>S. caseolaris</i>	54
4.3 Fraksinasi dan Uji Antibakteri Fraksi Ekstrak <i>S. caseolaris</i> dengan Pelarut Metanol Dan Etil Asetat	62
4.3.1 Fraksi Polar Terhadap <i>S. aureus</i> Dan <i>E. coli</i>	63
4.3.2 Fraksi Non Polar Terhadap <i>S. aureus</i> Dan <i>E. coli</i>	64
4.4 Isolasi Senyawa Antibakteri	65
4.5 Identifikasi Senyawa Aktif	68
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	74
5.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	83

DAFTAR GAMBAR

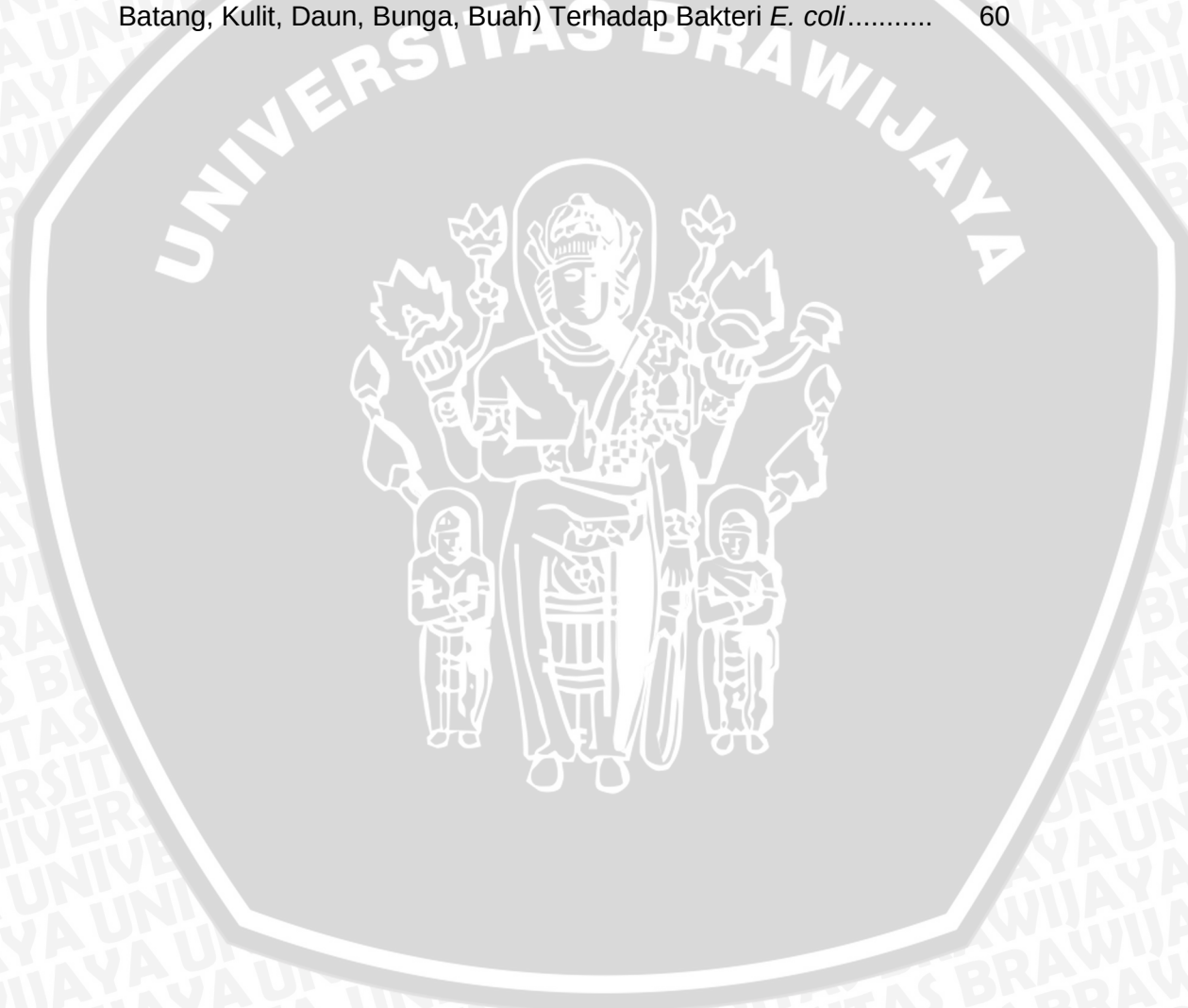
Gambar	Halaman
1. a) Pohon, b) Daun, c) Bunga, d) Batang, e) Buah dan f) Akar <i>Sonneratia caseolaris</i>	8
2. Struktur Kandungan Senyawa Kimi 1-24 Mangrove <i>S. caseolaris</i> ...	10
3. Struktur Kimia Flavonoid	11
4. Struktur Kimia Tanin	12
5. Struktur Kimia Terpenoid	13
6. Struktur Kimia Alkaloid	14
7. Struktur Kimia Fenolik	15
8. Struktur Kimia Glikosida	15
9. Struktur Kimia Steroid	16
10. Struktur Kimia Saponin	16
11. Proses Kromatografi Kolom	23
12. <i>Staphylococcus aureus</i>	25
13. Susunan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif	26
14. <i>Escherichia coli</i>	28
15. Susunan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif	28
16. Skema Kerja Penelitian	32
17. Pengujian Alkaloid	37
18. Pengujian Tanin dan Polifenol	38
19. Pengujian Flavonoid	39
20. Pengujian Glikosida	40
21. Pengujian Saponin, Triterpenoid dan Steroid	41
22. Hasil Ekstraksi Dalam Pelarut: (a) Metanol, (b) Kloroform, (c) Etil Asetat dan (d) Heksan	55
23. Zona Penghambatan Terbaik Ekstrak Bunga Pelarut metanol Pada <i>S. aureus</i>	59
24. Zona Penghambatan Terbaik Ekstrak Bunga Pelarut metanol Pada <i>E. coli</i>	61
25. a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Polar Pada <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> b) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Etil Asetat Fraksi Polar Pada <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	63
26. a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Non Polar Pada <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> b) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Etil Asetat Fraksi Non Polar Pada <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	65
27. Kromatografi Kolom Ekstrak Bunga dengan Pelarut Metanol Fraksi Polar Membentuk Pigmen Warna Jingga dan Hijau	66
28. a) Hasil kromatografi Kolom Ekstrak Bunga Dengan Pelarut Metanol Fraksi Polar Dengan Perbandingan Metanol : Kloroform (6:4) b) Hasil kromatografi Kolom Ekstrak Bunga Dengan Pelarut Metanol Fraksi Polar Dengan Perbandingan Metanol : Aquadest (5:5)	66
29. a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Polar Hasil Kromatografi Kolom Pada <i>S. aureus</i> a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Polar Hasil Kromatografi Kolom Pada <i>E. coli</i>	68
30. Hasil Kromatografi lapis Tipis Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i> Dengan	

Noda Tunggal	69
31. Spektrofotometri UV-Vis Senyawa Bioaktif Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i>	69
32. Pola Spektra Infra Merah Senyawa Bioaktif Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i>	70



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis-Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Komponen Aktif	20
2. Indeks Polaritas Pelarut	21
3. Sifat-Sifat Metanol	22
4. Hasil Perhitungan Rendemen Sampel Kering	47
5. Hasil Uji Fitokimia <i>S. caseolaris</i>	48
6. Hasil Perhitungan Rendemen Hasil Ekstraksi	56
7. Data Hasil Penghambatan Ekstrak Mangrove <i>S. caseolaris</i> (Akar, Batang, Kulit, Daun, Bunga, Buah) Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	58
8. Data Hasil Penghambatan Ekstrak Mangrove <i>S. caseolaris</i> (Akar, Batang, Kulit, Daun, Bunga, Buah) Terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Ekstraksi Mangrove <i>S. caseolaris</i>	83
2. Perhitungan Rendemen Pengeringan	85
3. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak	87
4. Perhitungan Konsentrasi PPM (<i>Part Per Million</i>)	88
5. Data Penghambatan Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i> dengan Pelarut Metanol dan Etil Asetat	89
6. Data Penghambatan Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i> Menggunakan Pelarut Metanol dengan Fraksi Polar dan Non Polar	90
7. Data Penghambatan Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i> Menggunakan Pelarut Etil Asetat dengan Fraksi Polar dan Non Polar	91
8. Data Penghambatan Ekstrak Bunga <i>S. caseolaris</i> Menggunakan Pelarut Metanol Fraksi Polar Dari Hasil Kromatografi Kolom	92
9. Zona Penghambatan Bakteri <i>S. aureus</i> Ekstrak <i>S. caseolaris</i> dengan pelarut Metanol, Kloroform, Etil Asetat dan Heksan	93
10. Zona Penghambatan Bakteri <i>E. coli</i> Ekstrak <i>S. caseolaris</i> dengan pelarut Metanol, Kloroform, Etil Asetat dan Heksan	94
11. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Baurer	95



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya keamanan pangan mengakibatkan meningkatnya perhatian terhadap keamanan pangan. Permasalahan mendasar keamanan pangan pada umumnya terletak pada kelemahan dalam hal jaminan keamanannya terhadap bahaya biologi atau mikrobiologi, kimia, dan fisik. Adanya bahaya atau cemaran tersebut seringkali ditemukan karena rendahnya mutu bahan baku, teknologi pengolahan, belum diterapkannya praktek sanitasi dan higienitas yang memadai, dan kurangnya kesadaran pekerja maupun produsen yang menangani pangan (Dewanti & Nuraida, 2001). Kejadian atau kasus keracunan makanan (*foodborne diseases*) karena mengkonsumsi makanan yang tidak aman sering terjadi di masyarakat. Kejadian-kejadian ini menunjukkan bahwa keamanan pangan di masyarakat masih menjadi masalah utama yang harus dihadapi.

Banyak penyakit yang disebabkan oleh bakteri yang memiliki sifat patogen *Staphylococcus aerus* dan *Escherichia coli* merupakan dua contoh bakteri yang menyerang manusia dan hewan. *E. coli* terdapat secara normal dalam alat-alat pencernaan manusia dan hewan. Suatu serotipe tertentu bersifat enteropathogenik dan dikenal sebagai penyebab diare pada bayi. Beberapa galur lainnya juga sebagai penyebab diare pada orang dewasa. Organisme ini berada di dapur dan tempat-tempat persiapan bahan pangan melalui bahan baku dan selanjutnya masuk ke makanan yang telah dimasak melalui tangan, permukaan alat-alat, tempat-tempat masakan dan peralatan lain. Masa inkubasi adalah 1-3 hari dan gejala-gejalanya menyerupai gejala-gejala keracunan bahan pangan yang tercemar oleh *Salmonella* atau disentri (Buckle *et al.*, 2007).

Selain *E.coli*, bakteri *S. aerus* juga menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan. Gejala penyakit yang ditimbulkan akibat keracunan makanan yang mengandung *S. aerus* antara lain mual, muntah, *retching* (seperti muntah tetapi tidak mengeluarkan apapun), kram perut dan rasa lemas. Dalam kasus-kasus yang lebih parah, dapat terjadi sakit kepala, kram otot dan perubahan yang nyata pada tekanan darah serta denyut nadi. Untuk mencegah bakteri tersebut, diperlukan adanya antibakteri yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan *S. aureus*. dan *E. coli*.

Bahan antimikroba adalah komponen alam semisintesis atau sintesis yang mengganggu metabolisme dan menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba. Bahan antibakteri dapat berupa senyawa kimia sintesis atau senyawa yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, ataupun bahan-bahan kimiawi seperti fenol dan persenyawaan fenolat, alkohol, halogen, logam berat dan persenyawaannya, detergen, aldehida, kemosterilisator gas dan sebagainya (Pelczar dan Chan, 1988).

Bahan alami atau senyawa bioaktif dari mangrove dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan kimia berbahaya yang digunakan sebagai antibakteri. Menurut Channel (1998) mangrove merupakan sumber senyawa fitokimia atau senyawa biologi aktif. Agoramoorthy *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa mangrove selain mengandung tanin sebagai metabolit sekunder utama, juga mengandung steroid, triterpen, saponin, flavonoid dan alkaloid. Mangrove banyak digunakan sebagai obat anti-cacing, anti virus, anti jamur, kanker, tumor, diare, anti oksidan, racun ikan dan antibakteri. Salah satu mangrove yang memiliki sifat antibakteri adalah *Sonneratia caseolaris*.

S. caseolaris memiliki manfaat antara lain, buahnya yang sudah masak dapat dimakan, jus buah setengah masak dapat digunakan untuk mengobati batuk, kulit buah tua untuk vermifuge, jus bunga mengobati darah dalam urine

dan pneumatofora dapat digunakan untuk sumbat botol. Kayu dapat digunakan sebagai kayu bakar jika kayu bakar yang lebih baik tidak diperoleh. Setelah direndam dalam air mendidih, akar nafas dapat digunakan untuk mengganti gabus. (Setyawan *et al.*, 2002).

S. caseolaris merupakan jenis tumbuhan mangrove yang dapat membunuh serta menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa bioaktif yang terdapat pada *S. caseolaris* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, steroid, fenol hidrokuinol dan tanin (Naiborhu, 2002). Hasil penelitian Mingqing *et al.*, (2009) diketahui bahwa *S. caseolaris* mengandung 24 komponen kimia antara lain (1-8) steroid, 9 triterpenoid (9-16, 24), 3 flavonoid (20-22) dan 4 turunan benzenekarboxylic (17-19,23). Dari 24 komponen kimia dalam *S. caseolaris* terdapat 21 komponen 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone yang signifikan terhadap aktivitas *cytotoxic* terhadap sel hepatoma SMMC-7721 manusia .

S. caseolaris adalah jenis mangrove yang memiliki kandungan senyawa bioaktif. Namun kegunaan tumbuhan ini sebagai antibakteri belum banyak diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang senyawa bioaktif dari kandungan fitokimia pada *S. caseolaris* yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

1.2 Rumusan Masalah

Pangan merupakan kebutuhan esensial bagi setiap manusia untuk pertumbuhan maupun mempertahankan hidup. Namun, dapat pula timbul penyakit yang disebabkan oleh pangan. Keracunan pangan atau *foodborne disease* (penyakit bawaan makanan), terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen masih menjadi masalah yang serius di berbagai negara termasuk Indonesia. Bakteri yang dapat menyebabkan keracunan makanan pada manusia

adalah *S. aureus* dan *E. coli*. Untuk mencegah bakteri tersebut, diperlukan adanya antibakteri yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Antibakteri adalah zat yang membunuh bakteri atau menekan pertumbuhan atau reproduksi mereka. Macam- macam antibakteri yang sering digunakan menurut Sanjoyo (2005) antara lain : penisilin, sefalosporin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolid, quinolone, spektinomisin, kloramfenikol dan lain sebagainya. Semakin meningkatnya dampak negatif akibat terlalu banyak mengkonsumsi bahan kimia yang digunakan sebagai antibakteri, maka diperlukan adanya bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri.

S. caseolaris merupakan tumbuhan mangrove yang dapat membunuh serta menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian terdahulu tentang mangrove, bahwa tumbuhan ini merupakan sumber senyawa bioaktif seperti saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, fenolik dan terpenoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Cowan, 1999).

Naiborhu (2002) melaporkan bahwa flavonoid, steroid, fenol hidrokuinon dan tanin *S. caseolaris* dapat membunuh bakteri *Vibrio harveyi*. Berdasarkan informasi tersebut, sangat perlu dilakukan penelitian tentang senyawa bioaktif dari kandungan fitokimia pada *S. caseolaris* yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- Mendapatkan kandungan fitokimia dari akar, batang, kulit, daun, bunga dan buah *S. caseolaris*

- Mendapatkan senyawa bioaktif dari kandungan fitokimia pada salah satu bagian *S. caseolaris* yang paling berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada pihak yang berkepentingan tentang manfaat senyawa bioaktif dari *S. caseolaris* sebagai alternatif antibakteri alami yang sangat potensial.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Agustus 2010 – Januari 2011.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sonneratia caseolaris*

Hutan mangrove adalah hutan yang tumbuh dimuara sungai, daerah pasang surut atau tepi laut. Menurut Latha dan Mitra (1998) hutan mangrove menghasilkan sejumlah besar detritus yang berasal dari serasah daun, puing-puing kayu dan bunga. Produktivitas di perairan mangrove tergantung pada besarnya penutupan kanopi mangrove yang memasok karbon, nitrogen dan fosfor.

Hutan mangrove hidup di dua dunia, antara darat dan laut. Ekosistem mangrove terbentuk pada lingkungan tropis dan sub tropis dengan suhu tinggi, terdapat endapan lumpur (alluvial) berbutir halus, gelombang laut lemah, air garam dan tawar, serta jangkauan pasang surut yang lebar. Mangrove menempati kawasan luas sepanjang pantai, bantaran sungai, muara, delta, dan teluk yang terlindung, serta pulau-pulau yang "overwash". Mangrove juga dapat ditemukan pada laguna tepi pantai, yang terhubung langsung dengan laut namun pengaruh aliran pasang lemah dan salinitas rendah. Ekosistem ini dipengaruhi perbedaan salinitas yang lebar dari aliran pasang dan hujan. Istilah mangrove dapat digunakan untuk hutan intertidal yang toleran terhadap salinitas terdiri dari pohon, semak, dan palem, serta paku terestrial, epifit, dan rumput yang berasosiasi dalam tegakan tersebut (Setyawan *et al.*, 2002).

Potensi mangrove di Indonesia sangat besar karena memiliki beberapa jenis mangrove yang tumbuh subur. Terdapat 5 spesies pohon mangrove dari genus *Sonneratia*, yaitu : *Sonneratia alba*, *S. caseolaris*, *S. ovata*, *S. apetala* dan *S. laceolata*. Salah satu jenis mangrove yang dimanfaatkan yaitu jenis pedada (*S. caseolaris*) yang hidup dan tumbuh di hutan mangrove. Tanaman ini memiliki daun berbentuk elips dan ujungnya memanjang dengan tulang daun berbentuk

menjari. Bunga memiliki kelopak bunga mengkilat dan hijau serta datar dengan benang sari berwarna merah dan renggang. Mangrove *Sonneratia caseolaris* memiliki nama lokal antara lain: prapat, bropak, padada, bogem, prepat, beroppa, mange-mange, mange-kashian, paropa, dadap, bidara, whahat-merah (DKP SulSel, 2004). Klasifikasi *S. caseolaris* menurut Santoso et al., (2008), adalah :

Filum : Anthophyta
Kelas : Angiospermae
Ordo : Myrtales
Famili : Sonneratiaceae
Genus : *Sonneratia*
Spesies : *Sonneratia caseolaris*

S. caseolaris merupakan anggota dari komunitas mangrove yang tumbuh dan berkembang pada salinitas rendah dan biasanya berada pada zona belakang atau diantara zona *Nypa* dan zona *Rhizophora*. Seringkali tanaman ini dapat dijumpai sampai jauh di pedalaman, terutama pinggiran sungai-sungai besar, seperti Sungai Kapuas, Sungai Barito, Sungai Mahakam, Sungai Siak, Sungai Musi dan sebagainya. Bahkan, tanaman ini mampu tumbuh dan berkembang pada lingkungan tawar. Mangrove *S. caseolaris* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. a) Pohon, b) Daun, c) Bunga, d) Batang, e) Buah dan f) Akar *Sonneratia caseolaris*

2.2 Bioaktif dari Mangrove

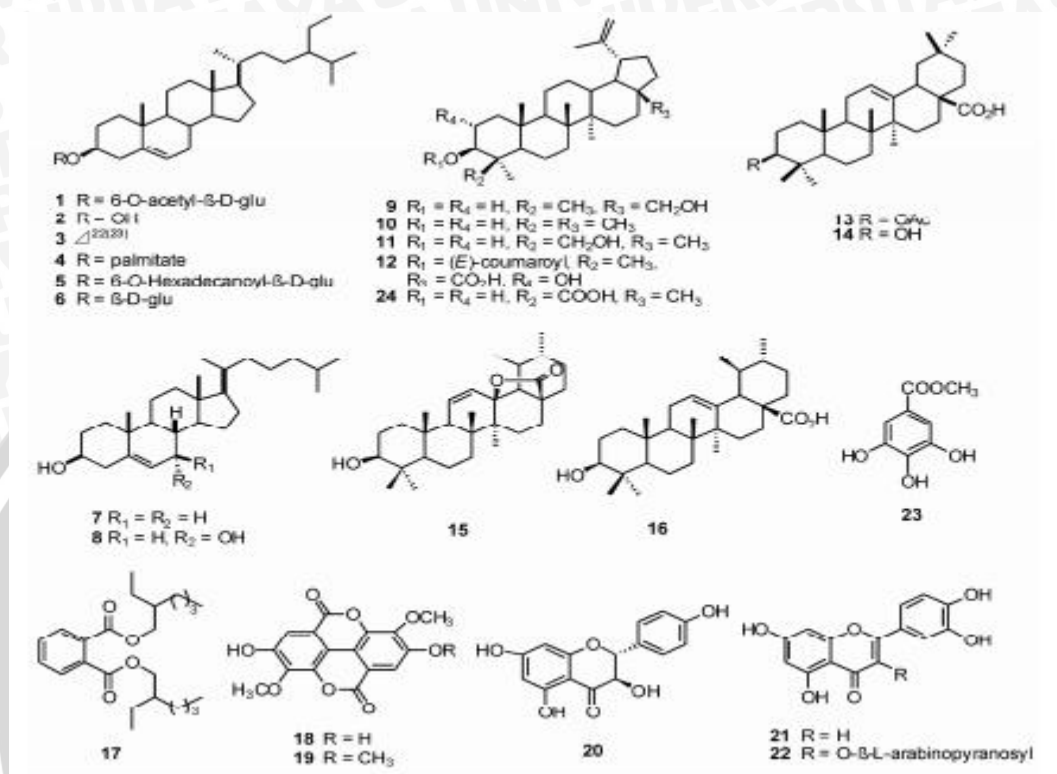
Potensi tumbuhan mangrove sebagai bahan organik sangat besar. Tumbuhan ini kaya akan steroid, triterpen, saponin, flavonoid, alkaloid dan tannin (Bandaranayake, 2002). Secara tradisional, tumbuhan mangrove tersebut banyak digunakan sebagai bahan obat dan mencakup anti anti-helmintik, diare, tumor, anti inflamansi, antioksidan dan antimikroba.

Senyawa kimia dari mangrove yang berperan sebagai antimikrobal yaitu dari golongan alkaloid dikenal sebagai berberina, emitina, kuinina dan tetrametil pirazina; dari golongan fenolik biasanya pada jaringan kayu terdapat senyawa asam amino aromatik, yang berasal dari jalinan asam sikimatnya dapat berperan sebagai herbisida serta tanin yang biasanya dikenal untuk menyamak kulit, karena mereka memotong dan mendenaturasi protein serta mencegah proses pencernaan bakteri. Flavonoid yang mudah larut dalam air pada tumbuhan berfungsi untuk kerja antimikroba dan antivirus; serta isoprenoid dengan turunannya saponin triterpenoid merupakan iritan yang kuat dan berperan sebagai antimikrobal. Sebagian besar fitoaleksin adalah fenil propanoid yang merupakan produk dari asam sikimat, beberapa diantaranya merupakan senyawa isoprenoid dan poliasetilena (Rowe, 1989).

Proses sintesis pada mangrove menghasilkan metabolit primer dan sekunder. Biosintesis metabolit sekunder sangat beragam tergantung dari golongan senyawa yang bersangkutan. Jalur yang biasa dilalui dalam pembentukan metabolit sekunder ada tiga yaitu jalur asam asetat, asam sikimat dan asam mevalonat. Berdasarkan hasil penelitian pada tanaman mangrove disebutkan bahwa, selain mengandung tannin sebagai metabolit sekunder utama, juga mengandung steroid, triterpen, saponin, flavonoid dan alkaloid (Agoramoorthy *et al.*, 2008).

Secara tradisional mangrove *S. caseolaris* dapat digunakan sebagai *astringent* dan *antiseptic* (Bandaranayake, 2002). Hal ini dikarenakan mangrove *S. caseolaris* mengandung komponen asam lemak, hidrokarbon, steroid, pectin dan gula. Berdasarkan hasil isolasi dari penelitian Minqing (2009) diketahui bahwa *S. caseolaris* mengandung 24 komponen kimia antara lain (1-8) steroid, 9 triterpenoid (9-16, 24), 3 flavonoid (20-22) dan 4 turunan benzenekarboxylic (17-19,23). Dari 24 komponen kimia dalam *S. caseolaris* terdapat 21 komponen

3',4',5,7-tetrahydroxyflavone yang signifikan terhadap aktivitas *cytotoxic* terhadap sel hepatoma SMMC-7721 manusia. Struktur kimia dari kandungan senyawa bioaktif mangrove *S. caseolaris* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kandungan Senyawa Kimia 1-24 Mangrove *Sonneratia caseolaris* (Minqing et al., 2009)

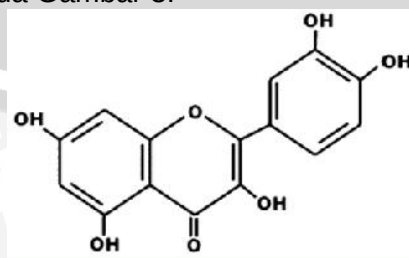
S. caseolaris merupakan jenis tumbuhan mangrove yang dapat membunuh serta menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa bioaktif yang terdapat pada *S. caseolaris* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, steroid, fenol hidrokuinol dan tanin (Naiborhu, 2002). Menurut Pelczar dan Chan (1988) mekanisme senyawa bioaktif sebagai antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein.

2.3 Fitokimia

Komponen aktif yang terdapat pada bahan tanaman dikenal dengan istilah fitokimia. Pengertian fitokimia adalah suatu bahan dari tanaman (*phytos* = tanaman), yang dapat memberikan fungsi-fungsi fisiologis untuk pencegahan penyakit. Bahan yang dimaksud adalah senyawa kimia (*chemical* = kimia) berupa komponen bioaktif yang dapat digunakan untuk pencegahan atau pengobatan penyakit. Titik berat dari fitokimia adalah ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimiannya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologisnya. Kandungan senyawa kimia aktif yang terdapat pada tanaman adalah alkaloida, flavonoida, terpenoida, steroida, tanin dan saponin yang dapat diketahui dengan cara skrining fitokimia.

2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang memiliki struktur dasar flavan atau flavon. Salah satu turunan flavonoid yaitu katekin, ditemukan pada apel, anggur, pear dan teh. Secara *invitro* mampu menghambat *Vibrio cholera*, mutan *Streptococcus* dan *Shigella*. Sifat anti mikroba flavonoid disebabkan karena kemampuannya membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta protein ekstraseluler (Cowan, 1999). Senyawa flavonoid memiliki rumus kimia $C_{15}H_{10}O_2$ dengan berat molekul 222,24 Daltons (Metacyc, 2011). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.

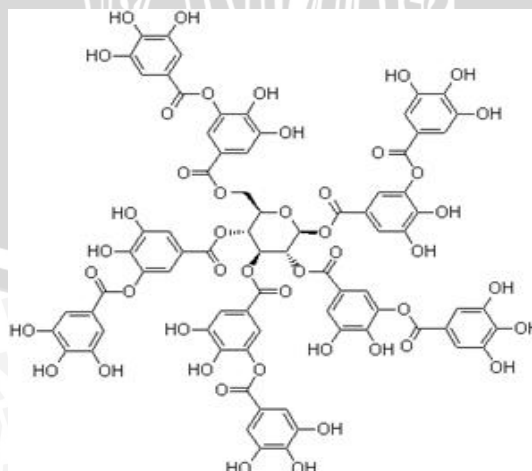


Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid (Pract, 2006)

Senyawa yang begitu mencolok seperti flavonoid memberikan kontribusi keindahan dan kesemarakkan pada bunga dan buah-buahan di alam. Flavin memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warna merah, ungu atau biru, yaitu semua warna yang terdapat pada pelangi kecuali warna hijau. Secara biologis, flavonoid memainkan peranan penting dalam kaitan penyerbukan pada tanaman oleh serangga. Sejumlah flavonoid memiliki rasa pahit hingga dapat bersifat menolak sejenis ulat tertentu. Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mengandung C_{15} terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Cincin A memiliki karakteristik bentuk hidroksilasi phloroglusinol atau resorsinol, dan cincin B biasanya 4-, 3,4-, atau 3,4,5-terhidroksilasi (Sastrohamidjojo, 2007).

2.3.2 Tanin

Condensed tannin juga disebut proanthosianidin, merupakan tanin yang tersusun dari flavonoid seperti katekin atau epikatekin, contohnya prosianidin B-2. Tanin bersifat toksik terhadap kapang, bakteri dan khamir serta menghambat perkembangan virus. Menurut Nangude (2007), rumus kimia dari senyawa tanin adalah $C_{76}H_{52}O_{46}$ dan memiliki berat molekul sangat besar yaitu 1700 Daltons. Struktur kimia tanin dapat dilihat pada Gambar 4.

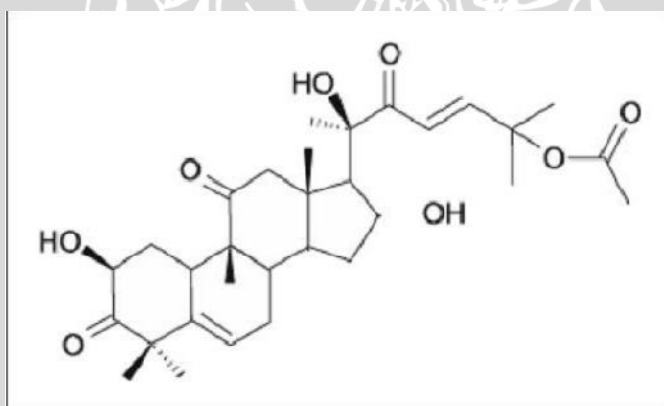


Gambar 4. Struktur Kimia Tanin (Nangude, 2007)

Menurut Cowan (1999), tanin dapat membentuk kompleks dengan protein transmembran, enzim-enzim pada permukaan membran dan protein pili (adhesin), melalui ikatan hidrogen sehingga dapat mengganggu kehidupan bakteri. Ikatan hidrogen antara tanin dan protein terjadi melalui interaksi antara gugus hidroksil pada tanin dengan gugus karbonil pada protein.

2.3.3 Terpenoid

Sebagian besar dan berbagai klas senyawa organik bahan alam yang terdapat dalam sekunder metabolisme tanaman merupakan terpena yang mencakup mono, sesqui, di-, tri dan senyawa poli-terpenoid. Nama terpen diberikan terhadap senyawa yang mempunyai perumusan molekul $C_{10}H_{16}$ (Sastrohamidjojo, 2007). Senyawa terpenoid memiliki berat molekul sebesar 464,6 Daltons (Cruz, 2007). Struktur kimia senyawa terpenoid dapat dilihat pada Gambar 5.



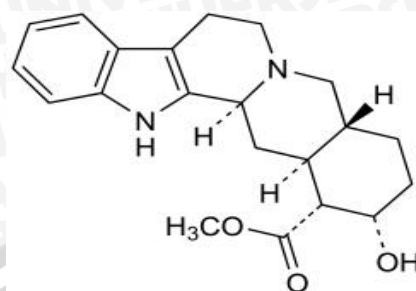
Gambar 5. Struktur Kimia Terpenoid (Thoennissen *et al.*, 2009)

Terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang, virus dan protozoa. Mekanisme penghambatannya diduga melalui perusakan lipibilayer membran sel akibat gugus hidrofobik yang dimilikinya (Cowan, 1999).

2.3.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang memiliki cincin heterosiklik dengan atom nitrogen yang bersifat basa. Alkaloid memiliki struktur kimia

$C_{21}H_{20}N_2O_3 \cdot HNO_3$ dan berat molekulnya sebesar 411,41 Daltons (Druglead, 2009). Struktur kimi alkaloid dapat dilihat pada Gambar 6.

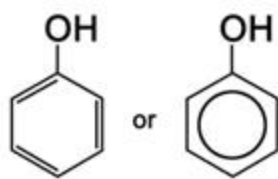


Gambar 6. Struktur Kimia Alkaloid (Dinda, 2008)

Beberapa senyawa alkaloid memiliki kemampuan menghambat mikroba dan mekanismennya diduga karena dapat menyebabkan kerusakan DNA (Cowan, 1999). Menurut Sastrohamidjojo (2001), Sebagian besar sumber alkaloid adalah pada tanaman berbunga, angiosprema. Kebanyakan alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa yang kompleks, spesies aromatik berwarna.

2.3.5 Fenolik

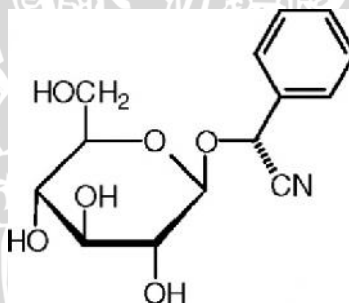
Menurut Cowan (1999), tumbuh-tumbuhan dapat mensintesa berbagai jenis senyawa fenol melalui metabolisme sekunder yang ditujukan sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangan mikroba, insekta, maupun herbivora. Jenis senyawa fenol pada tumbuhan sangat banyak, dan dewasa ini telah terisolasi sekitar 12000 jenis. Jumlah ini diperkirakan baru mencakup sekitar 10% dari jumlah yang ada. Sifat daya hambat senyawa fenol terhadap mikroba disebabkan karena gugus hidroksil yang dimilikinya dapat berinteraksi dengan protein membran sel mikroba melalui ikatan hidrogen, sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya. Senyawa fenolik memiliki rumus kimia C_6H_6O dan berat molekul sebesar 94,11 g/mol (Wikipedia, 2011). Struktur kimia senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur Kimia Fenolik (Freeman dan Gwyn, 2008)

2.3.6 Glikosida

Glikosida adalah senyawa yang menghasilkan satu atau lebih gula (glikon) diantara produk hidrolisisnya dan sisanya berupa senyawa bukan gula (aglikon). Bila gula yang terbentuk glukosa maka golongan senyawa tersebut disebut glukosida, sedangkan bila terbentuk gula lainnya disebut glikosida. Dalam ada O-glikosida, C-glikosida, N-glikosida dan S-glikosida (Mustakim, 2008). Rumus kimia dari senyawa glikosida adalah $C_{14}H_{28}O_6$ dan berat molekul sebesar 292,37 g/mol (Wikipedia, 2010). Struktur kimia senyawa glikosida dapat dilihat pada Gambar 8.

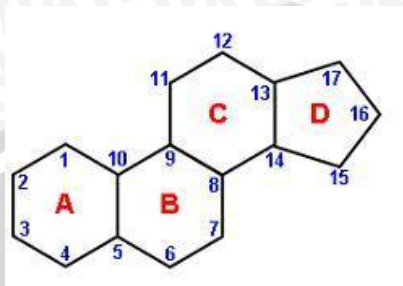


Gambar 8. Struktur Kimia Glikosida (Coffey, 2011)

2.3.7 Steroid

Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin dan asam empedu. Tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Tiga senyawa yang biasa disebut

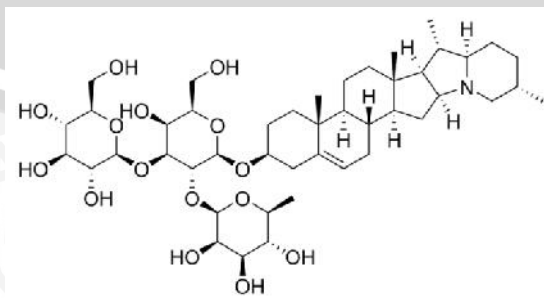
fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu : sitosterol, stigmasterol, dan kampe sterol (Harborne, 1987). Rumus kimia steroid adalah $C_{17}H_{19}N_5$ dan berat molekul sebesar 293,366 g/mol (IUPAC, 2010). Struktur kimia senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Struktur Kimia Steroid (Zulfikar, 2010)

2.3.8 Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai *sapotoksin* (Hartono, 2009). Rumus kimia saponin adalah $C_{27}H_{42}O_3$ (Chemical, 2010). Struktur kimia saponin dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Struktur Kimia Saponin (Wikipedia, 2011)

Saponin diklasifikasikan menjadi 2 yaitu : saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. Saponin steroid diekskresikan setelah konjugasi dengan asam glukoronida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid.

2.4 Isolasi

Faktor yang paling utama yang harus dipertimbangkan sebelum merancang sebuah prosedur isolasi adalah sifat alami senyawa target yang terdapat dalam suatu ekstrak atau fraksi. Gambaran sifat umum molekul yang akan diisolasi sangat membantu dalam proses isolasi meliputi kelarutan (hidrofobisitas dan hidrofilisitas), sifat asam basa, stabilitas dan ukuran molekul. Jika mengisolasi suatu senyawa yang sudah diketahui atau dari sumber yang baru, dapat dicari informasi dari literatur mengenai sifat kromatografi dari senyawa target tersebut, sehingga mudah untuk menentukan metode isolasi yang sesuai. Penentuan prosedur isolasi untuk ekstrak dengan kandungan senyawa yang belum sama sekali diketahui tipe senyawanya dapat menimbulkan kesulitan. Oleh karena itu disarankan, untuk dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui tipe senyawa seperti : fenolik, steroid, alkaloid, flavonoid dan sebagainya (Sa'ad, 2009).

2.4.1 Ekstraksi

Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya (Sjahid, 2008). Menurut Harborne (2006),

prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (biji kering, akar, daun) ialah dengan mengekstraksi sinambung serbuk dengan alat Soxhlet menggunakan sederetan pelarut secara berganti-ganti, mulai dengan eter, lalu eter minyak bumi dan kloroform (untuk memisahkan lipid dan terpenoid). Kemudian digunakan alkohol dan etilasetat (untuk senyawa yang lebih polar). Ekstrak yang pekat mungkin mengkristal bila dibiarkan. Bila hal ini terjadi, ekstrak harus disaring dan keseragamannya diuji dengan kromatografi dengan menggunakan beberapa pengembang.

Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat, ekstraksi cair padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi sinambung (Harborne, 1987). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali (Sa'ad, 2009).

Prinsip maserasi penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Maserasi merupakan cara

penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya (Firmansyah, 2010).

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui sampel yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adhesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi) (Irwan, 2010).

Prinsip Kerja Soxhletasi adalah penyairan secara berkesinambungan, dimana cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan akan terkondensasi molekul-molekul cairan penyari oleh pendingin balik dengan turun kedalam klonsong menyari simplisia dan selanjutnya masuk kembali kedalam labu alas bulat setelah melewati pipa siphon, proses ini berlangsung hingga penyarian zat aktif menjadi sempurna (Cahyono, 2010).

Destilasi uap adalah metode yang populer untuk ekstraksi minyak-minyak menguap (esensial) dari sampel tanaman. Metode destilasi uap air diperuntukkan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal (Wiro, 2010).

Faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi antara lain ukuran bahan, waktu kontak antara bahan dengan pelarut dan suhu ekstraksi. Faktor lain yang menentukan hasil ekstraksi adalah perbandingan antara sampel terhadap cairan pengestraksi (jumlah bahan pengestraksi) dan jangka waktu dimana sampel kontak dengan cairan pengestraksi (waktu ekstraksi).

2.4.2 Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah bahan kimia organik (mengandung karbon) yang juga disebut pelarut organik. Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar. Pelarut merupakan komponen zat dalam jumlah yang lebih besar pada suatu larutan. Larutan adalah campuran homogen antara dua komponen zat atau lebih, yaitu pelarut (*solvent*) dan zat terlarut (*solute*). Jenis-jenis pelarut yang sering digunakan untuk mengeskrak berbagai jenis senyawa antimikroba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis-jenis pelarut untuk ekstraksi komponen aktif

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

Sumber : Cowan (1999)

Menurut Watson (2010), pelarut–pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi memiliki indeks polaritas yang berbeda. Semakin polar suatu pelarut atau campuran pelarut, semakin jauh pelarut tersebut akan menggerakan senyawa polar. Indeks polaritas pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Indeks Polaritas Pelarut

Pelarut	Indeks Polaritas
Heksan (C_6H_{14})	0
Toluen (C_6H_6)	2,4
Dietileter ($C_4H_{10}O$)	2,8
Diklorometan (CH_2Cl_2)	3,1
Butanol (C_4H_9OH)	3,9
Kloroform ($CHCl_3$)	4,1
Etil Asetat ($C_2H_5COOCH_3$)	4,4
Aseton (CH_3COCH_3)	5,1
Metanol (CH_3OH)	5,1
Etanol (C_2H_5OH)	5,2
Asetonitril (CH_3CN)	5,8
Asam Asetat (CH_3COOH)	6,2
Air (H_2O)	9,0

Sumber : Watson (2010)

2.4.2.1 Metanol

Metanol (*methyl alcohol*) dengan rumus molekul CH_3OH adalah zat kimia yang tidak berwarna, berbentuk cair pada suhu kamar, mudah menguap dan sedikit berbau ringan. Metanol merupakan zat kimia yang toksin (beracun) dan menyebabkan efek berbahaya bila dihirup atau tertelan. Secara sistematis metanol dibuat dari hidrogen dan karbondioksida (Pratiwi, 2010). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri. Secara umum pelarut metanol paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder. Sifat-sifat metanol dapat dilihat pada Tabel

3.

Tabel 3. Sifat-Sifat Metanol

No.	Karakteristik	Metanol
1.	Nama lain	Hidroksi metana, metil alkohol, metil hidrat, alkohol kayu dan karbinol
2.	Rumus molekul	CH ₃ OH $\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$
3.	Sifat	Mudah terbakar, tidak berwarna
4.	Titik leleh	-97 °C
5.	Titik didih	64.7 °C
6.	Massa molar	32.04 g/mol
7.	Densitas	0,7918 g/cm ³ , cair
8.	Titik nyala	11 °C
9.	Konstanta dielektrik	33

Sumber : Wikipedia (2009)

2.4.2.2 Kloroform

Kloroform adalah nama umum untuk triklorometana (CHCl₃). Kloroform dikenal karena sering digunakan sebagai bahan pembius, meskipun kebanyakan digunakan sebagai pelarut nonpolar di laboratorium atau industri. Wujudnya pada suhu ruang berupa cairan, namun mudah menguap. Kloroform mampu menyerap kuat di daerah 200-260 nm, sangat cocok untuk mengukur spektrum pigmen tumbuhan, seperti karotenoid, di daerah spektrum tampak. Kloroform biasa digunakan untuk memisahkan lipid dan terpenoid (Harborne, 1987).

2.4.2.3 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus CH₃CH₂OC(O)CH₃. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Senyawa ini sering disingkat EtOAc, dengan Et mewakili gugus etil dan OAc mewakili asetat. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Menurut Harborne (1987) etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa seperti flavonoid.

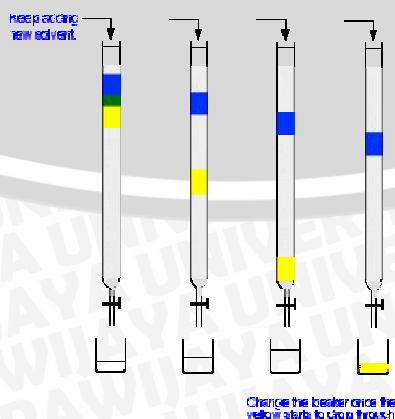
2.4.2.4 Heksan

Heksan merupakan pelarut organik bersifat non polar. Pelarut heksan banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa polar (Channel, 1998). Heksan memiliki rumus molekul C_6H_{14} , berat jenis 0.6548 g/mL dalam keadaan cair, daya larut dalam air 13 mg/L at 20°C, titik didih 69 °C (342 K), dan titik beku -95 °C (178 K)

2.4.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk kepelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase stasioner dengan cairan (pereaksi) sebagai mobil untuk mengetahui banyaknya komponen contoh yang keluar melalui kolom. Pengisian kolom dilakukan dengan memasukan adsorben dalam bentuk larutan (*slurry*), dan partikelnya dibiarkan mengendap. Pemisahan komponen secara kromatografi kolom bertujuan untuk mengetahui komponen-komponen senyawa kimia yang dapat terpisah (Hayani, 2007). Kolom kromatografi dapat dilihat pada Gambar 11.



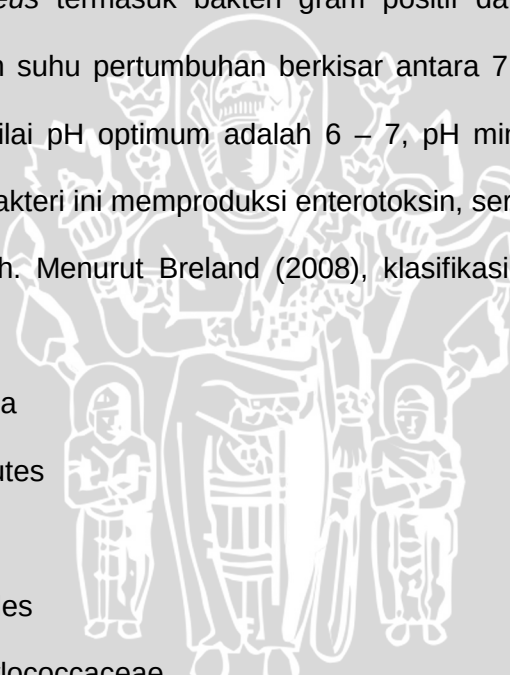
Gambar 11. Proses Kromatografi Kolom (Chemistry, 2007)

Kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada berapa besarnya komponen terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat. Akan terlihat bahwa jika perbedaan-perbedaan dalam serapan cukup besar maka akan terjadi pemisahan yang sempurna (Sastrohamidjojo, 2001).

2.5 Senyawa Aktif Antimikroba

2.5.1 Mekanisme Kerja Antimikroba Terhadap Gram Positif

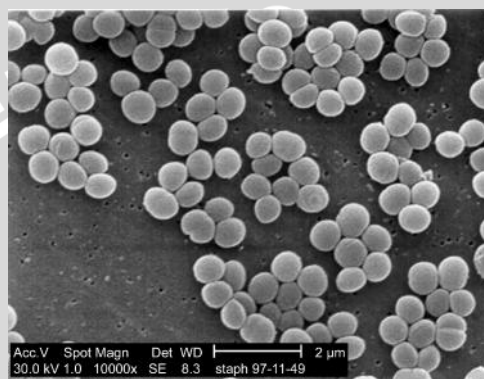
Bakteri *S. aureus* termasuk bakteri gram positif dan termasuk dalam bakteri mesofil dengan suhu pertumbuhan berkisar antara 7 – 48°C, dan suhu optimum 35 - 40°C. nilai pH optimum adalah 6 – 7, pH minimum 4,0 dan pH maksimum 9,8 – 10. Bakteri ini memproduksi enterotoksin, serta toleran terhadap garam dan aW rendah. Menurut Breland (2008), klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut :



Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

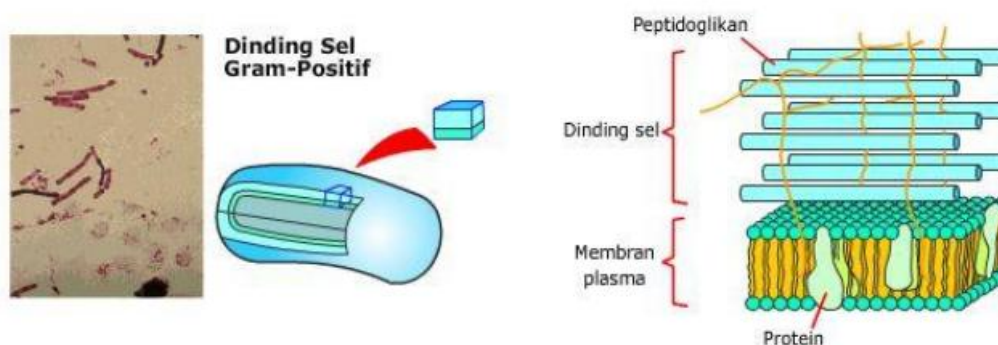
Timbulnya gejala keracunan makanan di staphylococcal bisa sangat cepat, umumnya sekitar 3 jam setelah menelan makanan tetapi mungkin pada awal 1 jam atau hingga akhir 6 jam, tergantung pada kerentanan individu toksin, jumlah makanan yang terkontaminasi dimakan, jumlah racun dalam makanan, dan kesehatan umum individu. Gejala yang paling umum adalah

mual, muntah, muntah, kram perut, dan sujud. Beberapa orang mungkin tidak menunjukkan semua gejala yang berkaitan dengan penyakit. Dalam kasus yang lebih berat, sakit kepala, kram otot, dan sementara perubahan tekanan darah dan denyut nadi dapat terjadi. Darah mungkin diamati pada tinja dan muntahan. Pemulihan umumnya membutuhkan dua hari. Namun, tidak jarang untuk pemulihan lengkap untuk mengambil tiga hari atau lagi pada kasus berat (Bremer, 2004). Bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah bakteri gram positif yang sangat sensitif terhadap senyawa antimikroba. Dinding sel gram positif sangat tebal yang terdiri dari peptidoglikan, asam teikoat dan polisakarida. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri gram positif yaitu melalui penghambatan sintesis dinding sel dengan mengganggu sintesis peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan komponen utama dinding sel bakteri gram positif. Peptidoglikan merupakan molekul besar yang disusun oleh senyawa gula dan asam amino. Dua gula penyusunnya adalah N-acetylglucosamin (NAG) dan N-acetylmuramic acid (NAM). Lapisan peptidoglikan tunggal saling berikatan dengan lapisan lainnya melalui bagian rantai asam aminonya, sehingga membentuk suatu ikatan silang yang kuat menutupi seluruh sel (Kurnia, 2010). Susunan struktur dinding sel bakteri gram positif dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Susunan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif (Padli, 2010)

Masuknya antibakteri ke dalam sel dapat melalui beberapa cara antara lain melalui asam teikoat yang hanya ditemui pada dinding sel dan membran dinding sel, asam teikoat diketahui mempunyai muatan negatif sehingga dapat membatasi macam substansi yang akan diikat dan diteruskan dalam sel. Selain itu dapat melalui adsorpsi yang mempengaruhi permeabilitas dan porositas dinding sel yang menyebabkan terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel (Kurnia, 2010).

Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Kusmiati dan Agustini, 2006).

2.5.2 Mekanisme Kerja Antimikroba Terhadap Gram Negatif

E. coli adalah bakteri gram negatif, fakultatif anaerobik dan tidak berspora. Selnya memiliki panjang 2 μm dan diameter 0,5 μm dengan volume

sel $0,6 \times 0,7 \mu\text{m}^3$. Menurut Wasitaningrum (2009) klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Protozoa
Divisi : Schyzomycota
Class : Schyzomycetes
Ordo : Eubacteriaceae
Genus : Escherichia
Species : *Escherichia coli*

E. coli dapat menyebar ke makanan melalui penanganan makanan yang tidak menggunakan sanitasi dan higiene yang baik, misalnya dengan tangan kotor, khususnya setelah menggunakan kamar mandi (Hoyle, 2010). Selain itu, *E. coli* dapat masuk ke dalam tubuh manusia terutama melalui konsumsi pangan yang tercemar, misalnya daging mentah, daging yang dimasak setengah matang, susu mentah dan cemaran fekal pada air dan pangan.

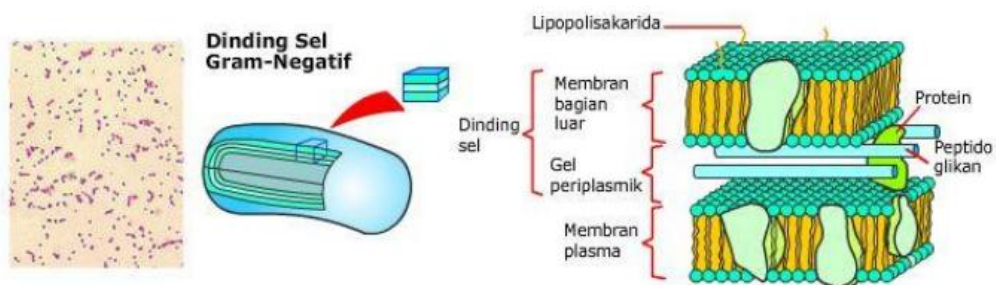
Beberapa strain dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksiya, seperti infeksi saluran kemih (ISK) dan diare (Hawley, 2003). Hal ini berkaitan dengan kemampuan strain ini dalam membentuk enterotoksik yang berperan dalam pengeluaran cairan dan elektrosit. Terlebih *Escherichia coli* ini yang infeksi oleh bakteriofag dapat memproduksi sejenis verotoksin yang mirip dengan shigotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Shigella sp.*

Gejala penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* adalah kram perut diare, demam, mual dan muntah. Masa inkubasi berkisar 3-8 hari, sedangkan pada kasus sedang berkisar antara 3 – 4 hari. Bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. *Escherichia coli*

E. coli adalah bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipid, yang bersifat nonpolar (Dewi, 2010). Susunan struktur dinding sel bakteri gram negatif dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Susunan Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif (Padli, 2010)

Menurut Fadhilla (2010), perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, pada bakteri gram positif 90% dinding selnya terdiri lapisan peptidoglikan, sedangkan bakteri gram negatif lapisan

peptidoglikan hanya sekitar 5-20%. Senyawa antibakteri dapat mencegah sintesis peptidoglikan pada sel yang sedang tumbuh, maka bakteri gram positif umumnya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif. Senyawa fenol dapat bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran luar sel sehingga menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran dan akan mengakibatkan sel mengalami kebocoran. Perubahan permeabilitas membran akan menyebabkan keluarnya metabolit seluler selain protein, asam nukleat dan ion-ion logam (Ca^{2+} , K^+ , dan Mg^{2+}) dan perubahan morfologi.

Menurut Buck (2001), menyatakan dalam penelitiannya bahwa awal-awal terjadinya interaksi mekanisme antimikroba pada bakteri gram negatif umumnya senyawa antimikroba akan dihambat oleh membran luar berupa lipopolisakarida. Kemudian terjadi akumulasi yang kemudian mengganggu ikatan-ikatan hidrofilik membran luar. Secara selektif sebagian senyawa anti mikroba dengan ukuran molekul kecil masuk melalui protein porin hingga menuju sitoplasma.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah mangrove *S. caseolaris* yang diperoleh dari muara sungai Porong, Dusun Tegalsari, Desa Kupang Kecamatan Jabong Kabupaten Sidoarjo dan biakan murni bakteri *E. coli* O-157 dan *S. aureus* 2212-P dengan kepadatan 10^6 koloni/ml yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Bahan pendukung dalam penelitian ini antara lain : metanol, kloroform, etil asetat dan heksan Pro Analisis yang digunakan sebagai pelarut. Bahan yang digunakan untuk media adalah MHA (*Muller Hinton Agar*). Bahan pembantu yang digunakan adalah aquades, kertas saring, tisu, kertas label, kertas cakram (*paper disk*), aluminium foil, kapas, *cotton swab*, DMSO (Dimetil sulfoksida), Streptomycin, NaCl fisiologis, koran, tali, pasir dan silica gel G-60 F₂₅₄.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam proses ekstraksi antara lain : Erlenmeyer 250 ml, spatula, termometer, cawan petri, penangas air, corong, *beaker glass* 100 ml, gelas ukur 100 ml, blender, timbangan analitik dan botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji antibakteri antara lain : tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, pipet volume 10 ml, pipet serologis 1 ml, mikro pipet, jarum ose, bunsen, autoklaf, *beaker glass* 100 ml, *beaker glass* 50 ml erlenmeyer 250 ml, *bottle sprayer*, panci, kompor, inkubator, timbangan analitik, statif, mikrobiuret, makrobiuret, gelas ukur 100 ml dan spatula. Peralatan yang digunakan untuk kromatografi kolom antara lain : kolom kromatografi 50 cm, botol vial 3 ml, erlenmeyer 100 ml, *beaker glass* 50 ml, spatula, statif, corong,

pipet tetes. Alat yang digunakan untuk identifikasi pola spektra dengan spektrofotometer UV-Vis 1601 Shimadzu, dan uji identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometri FTIR.

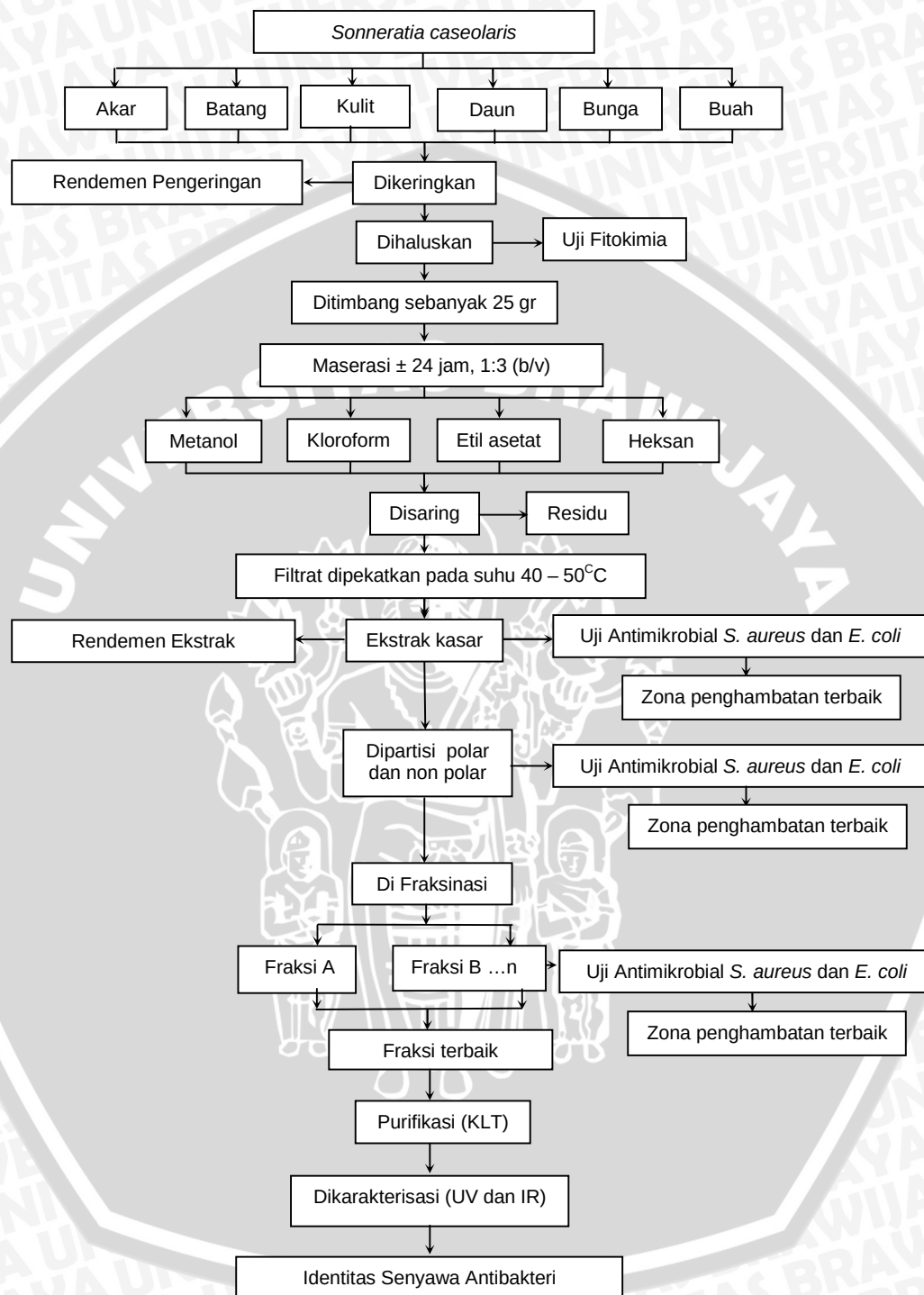
3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif. Metode deskriptif adalah suatu metode dalam meneliti status sekelompok manusia, suatu obyek, suatu kondisi, suatu sistem pemikiran, ataupun suatu kelas peristiwa pada masa sekarang. Tujuan dari penelitian deskriptif ini adalah untuk membuat deskripsi, gambaran atau lukisan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki (Mutaqqin, 2010).

S. caseolaris diketahui memiliki berbagai kandungan fitokimia yang termasuk ke dalam senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Berdasarkan informasi tersebut, peneliti mencoba menggambarkan dan menginterpretasikan senyawa bioaktif dari kandungan fitokimia bagian *S. caseolaris* yang dapat digunakan sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian tentang aktivitas antibakteri dari ekstrak mangrove *S. caseolaris* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* melalui beberapa tahapan antara lain : persiapan sampel, uji fitokimia, proses ekstraksi, uji anti mikroba, proses pemisahan (partisi), karakterisasi senyawa bioaktif yang terdapat pada *S. caseolaris*. Skema penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Skema Kerja Penelitian

3.3.1 Pembuatan Sampel Kering

Bahan uji (*S. caseolaris*) didapatkan dari muara sungai Porong. Sampel yang digunakan diambil dibagian selatan muara sungai porong dimana dilingkungan tersebut banyak terdapat limbah (logam berat dan bakteri patogen). Pengambilan sampel dilakukan disiang hari ketika air laut sedang surut sehingga mempermudah pengambilan sampel. Sampel yang digunakan diambil dari satu jenis tanaman dan memiliki bagian tanaman yang lengkap antara lain akar, batang, daun, bunga dan buah. Cara pengambilan sampel yaitu dimulai dari bunga, buah dan daun, kemudian dilakukan pengambilan kulit pada batang. Setelah didapatkan kulit kayu, batang *S. caseolaris* dipotong di bagian utama yaitu bagian batang yang paling kokoh yang berada dekat dengan akar. Untuk pengambilan akar langsung dilakukan pencabutan dari ujung akar, karena akar *S. caseolaris* berada di permukaan tanah. Semua bagian diambil dan ditimbang sebanyak 500 g – 1000 g tergantung jumlah sampel yang terdapat dalam satu jenis tanaman tersebut. Sampel yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam plastik untuk mempermudah transportasi. Sampel yang sudah didapatkan kemudian dibersihkan dari kotoran dan dipotong kecil-kecil sebesar 5 – 10cm untuk mempercepat proses pengeringan. Metode yang digunakan untuk preparasi sampel mangrove kering berdasarkan penelitian Ncube *et al.*, (2008) yaitu bahan uji dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air bersih, kemudian dikeringkan dan diangin – anginkan dibawah sinar matahari hingga kadar air $\pm 10 - 20\%$. Menurut Patra *et al.*, (2009) sampel yang akan diekstraksi harus dikeringkan selama 15 hari dan dihancurkan hingga menjadi bubuk menggunakan mortar dan blender. Bahan uji dicuci dan dikeringkan kemudian dipisahkan masing-masing bagian dari tanaman (akar, batang, kulit, daun, bunga dan buah) (Elela *et al.*, 2009). Bahan uji dipotong kecil-kecil dan di blender hingga halus. Menurut Harborne (2006) ekstrak kasar dapat diperoleh dengan

cara mengeringkan daun bakau, hal ini untuk menjaga agar bahan tetap dalam keadaan baik untuk dianalisis. Sampel yang sudah dikeringkan selama 1 minggu kemudian ditimbang berat akhirnya untuk melihat banyaknya kadar air yang masih tersimpan dalam sampel, jika kadar air pada sampel $\pm 20\%$ maka sampel dilakukan penghalusan dengan blender kemudian ditimbang sebanyak $\pm 25\text{ g}$ dengan timbangan analitik.

3.3.2 Perhitungan Rendemen

Metode perhitungan rendemen berdasarkan Pambayun *et al.*, (2009) yaitu rendemen ekstraksi adalah bahan terekstrak dibagi dengan bahan baku dikalikan 100%. Perhitungan rendemen dilakukan sebanyak 2 kali yaitu pada tahap pengeringan sampel dan proses pemekatan hasil ekstraksi. Pada proses pengeringan sampel, perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar air yang keluar (menguap) akibat proses pemanasan. Adanya kadar air yang terlalu banyak pada sampel yang akan diekstraksi akan membuat hasil ekstraksi kurang maksimal. Pada perhitungan sampel kering, sampel dari hasil pengeringan selama 1 minggu pada setiap bagian dibagi sampel yang diambil di muara sungai Porong yang sudah ditimbang 500 g – 1000 g tergantung jumlah sampel pada bagian masing-masing yang diperoleh sehingga dapat diketahui jumlah kadar air pada sampel tersebut.

Perhitungan sampel hasil ekstraksi dilakukan dengan menimbang jumlah sampel hasil penyaringan ekstraksi pada cawan petri untuk masing-masing bagian *S. caseolaris* dikurangi dengan cawan kering hasil pemekatan sehingga diperoleh rendemen hasil ekstraksinya. Secara umum rumus perhitungan rendemen adalah :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir (setelah perlakuan)}}{\text{Berat awal (sebelum perlakuan)}} \times 100\%$$

3.3.3 Uji Fitokimia

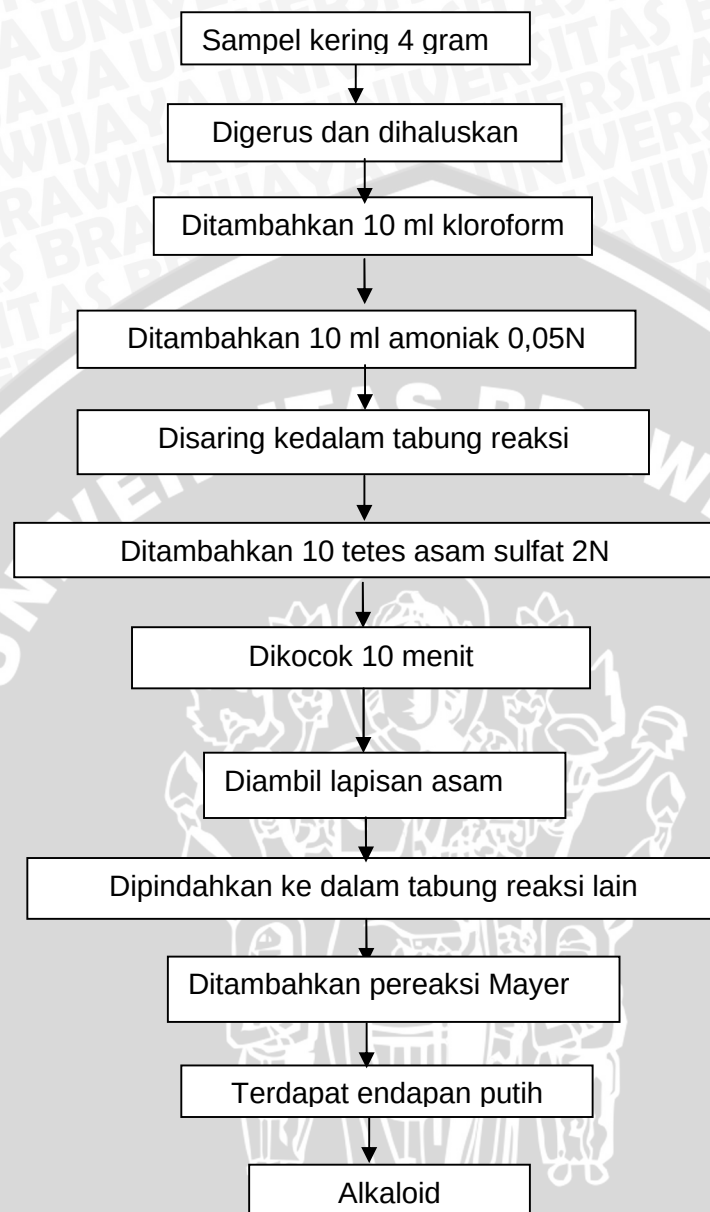
Analisis fitokimia identifikasi yang dilakukan adalah uji alkaloid, tanin, polifenol, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan glikosida. Uji alkaloid menurut Culvenor (1963) yaitu sampel yang telah halus dilarutkan dalam kloroform sebanyak 10 ml dan ditambahkan 10 ml amoniak 0,05N serta ditambahkan asam sulfat 2N sebanyak 10 tetes kemudian ditambahkan pereaksi Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan munculnya endapan putih. Skema pengujian alkaloid dapat dilihat pada Gambar 17.

Untuk uji tanin, polifenol, flavonoid dan glikosida dilakukan menurut Harborne (1987) yaitu sampel dididihkan kemudian disaring dan ditambahkan FeCl_3 , adanya warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya tanin. Uji polifenol sampel dilakukan dengan menambahkan gelatin dan diamati endapan proteinnya. Skema pengujian tanin dan polifenol secara lengkap pada Gambar 18. Untuk uji flavonoid sampel direndam dalam methanol selama 5 menit dan ditambahkan H_2SO_4 sebanyak 5 tetes dan diamati adanya warna merah yang menunjukkan kandungan flavonoid. Skema pengujian flavonoid terdapat pada Gambar 19. Pada uji Glikosida sampel ditambahkan etanol 80% sebanyak 10 ml dan dicuci dengan heksana hingga larutan heksana tidak berwarna, lalu ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 ml dan ditetesi asam sulfat pekat. Adanya kandungan glikosida ditandai dengan terbentuknya warna merah kecokelatan. Skema pengujian glikosida terdapat pada Gambar 20.

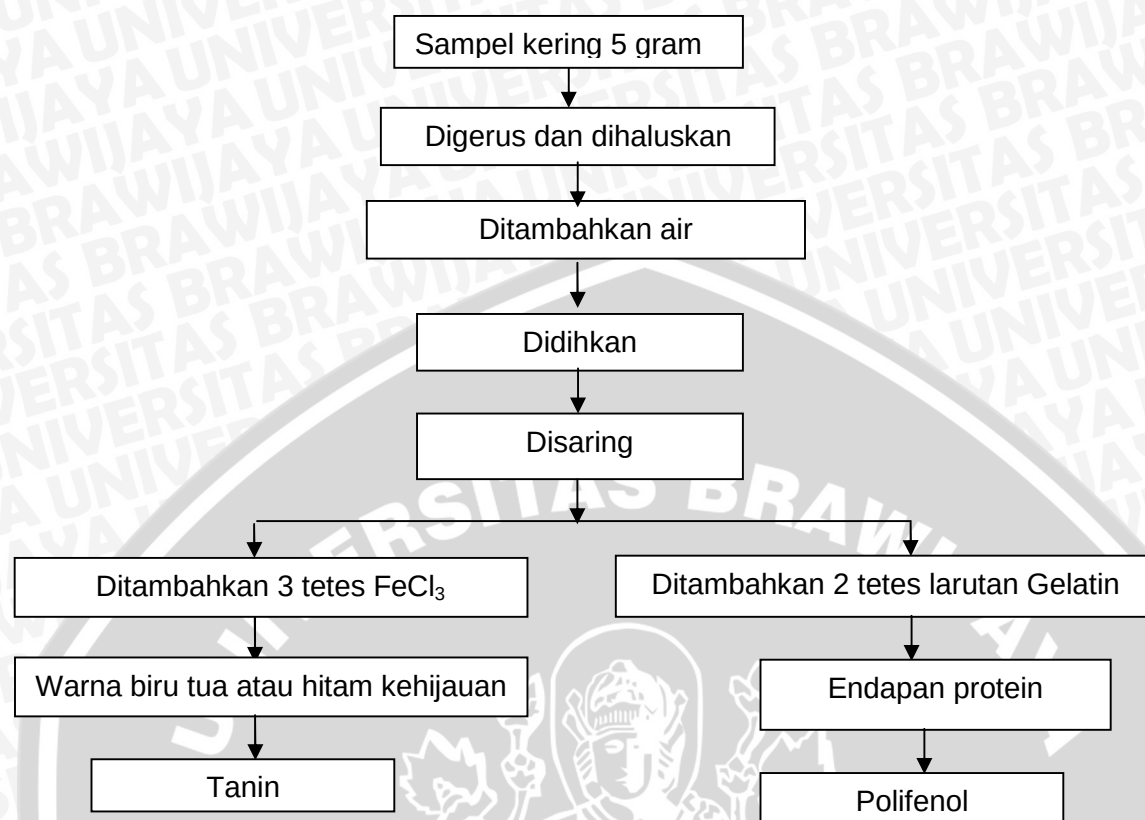
Pada analisa uji saponin, triterpenoid dan steroid dilakukan menurut Simes *et al.*, (1995) yaitu untuk uji saponin sampel halus dididihkan dengan etanol sebanyak 25 ml dan diuapkan, kemudian ditambahkan kloroform dan terbentuk lapisan air dan kloroform. Lapisan air dikocok kuat-kuat sehingga terbentuk busa yang menunjukkan adanya saponin. Pada lapisan kloroform ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard sehingga terbentuk warna merah yang

menandakan adanya terpenoid serta warna biru atau hijau yang menandakan adanya steroid. Skema pengujian saponin, triterpenoid dan steroid secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 17.

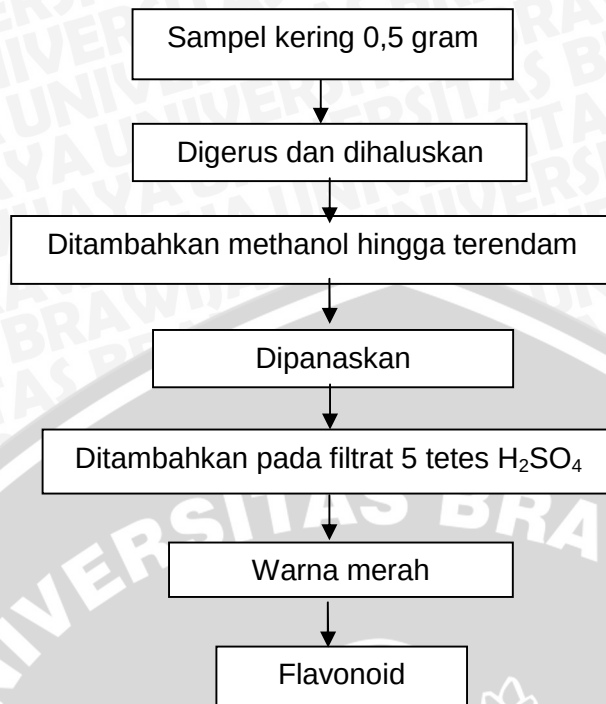




Gambar 17. Pengujian Alkaloid (Culvenor dan Fitzgerald, 1963)



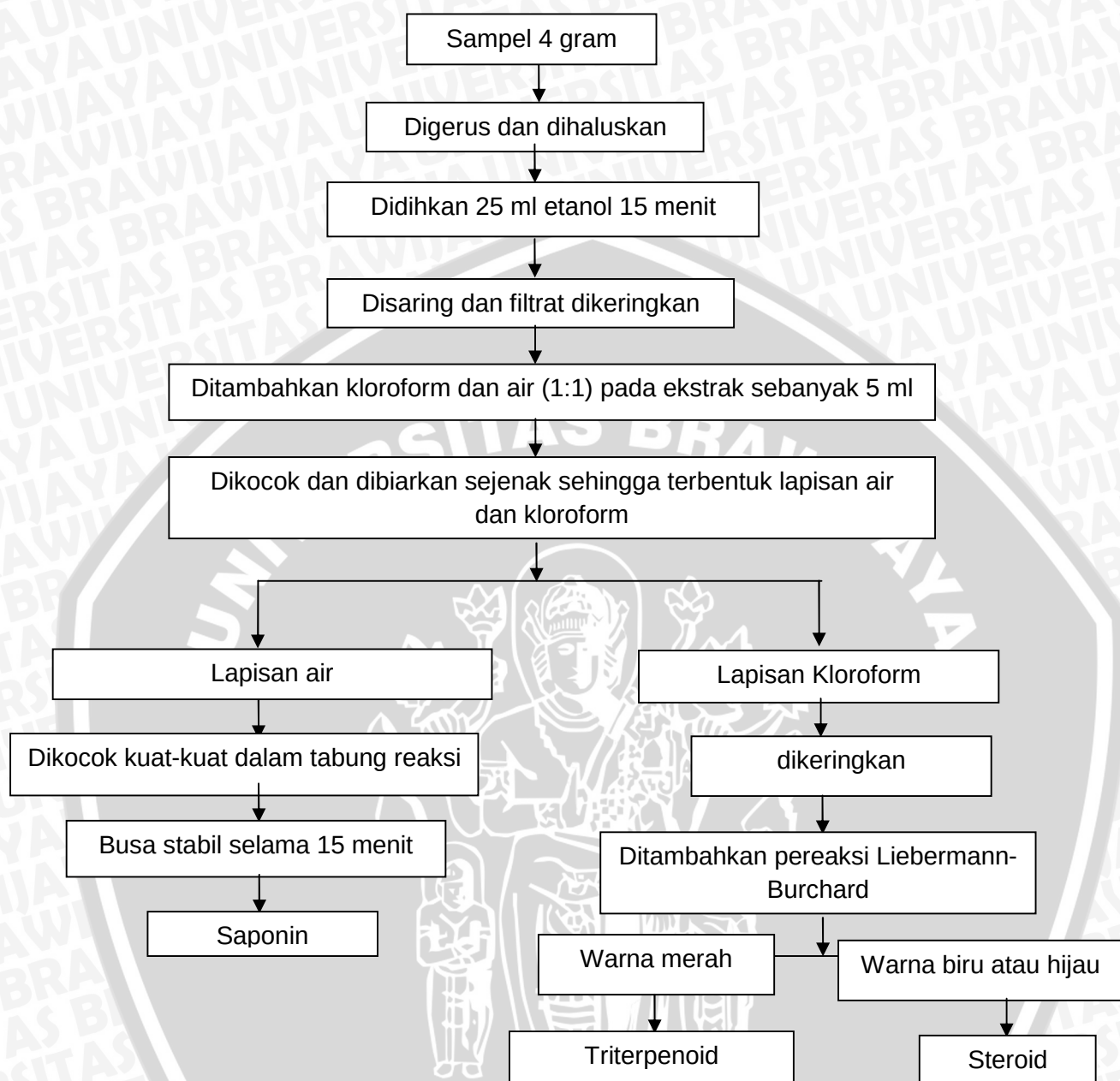
Gambar 18. Pengujian Tanin dan Polifenol (Harborne, 1987)



Gambar 19. Pengujian Flavonoid (Harborne, 1987)



Gambar 20. Pengujian Glikosida (Harborne, 1987)



Gambar 21. Pengujian Saponin, Triterpenoid dan Steroid (Simes *et al.*, 1995)

3.3.4 Ekstraksi Mangrove

Ekstraksi *Sonneratia caseolaris* menggunakan metode Pambayun *et al.*, (2009) yaitu dengan menggunakan pelarut metanol, kloroform, etil asetat dan heksan. Proses ekstraksi menggunakan perbandingan sampel dan pelarut adalah 1:3 (b/v). Serbuk sampel yang halus dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan pelarut sebanyak 75 ml. Metode yang digunakan adalah metode maserasi atau perendaman. Maserasi merupakan proses perendaman dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruang. Setelah larutan tercampur, kemudian didiamkan dalam suhu ruang selama 24 jam untuk melepaskan senyawa bioaktif terbebas dari bagian mangrove (akar, daun, batang, kulit batang, bunga dan buah) dan disimpan dalam ruang yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung karena dapat menyebabkan kerusakan senyawa bioaktif tersebut. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat ditampung dalam Erlenmeyer 250 ml dan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik untuk mengetahui rendemennya. Hasil penyaringan kemudian dituang dalam cawan petri dan diuapkan dengan waterbath pada suhu 30°C sampai larutan mengental dan tidak bau pelarut sudah tidak tercium, hal ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut yang masih terjebak dalam senyawa aktif. Ampas hasil dimaserasi ulang selama 24 jam lagi dan disaring dengan kertas saring, ulangan dilakukan sampai tiga kali. Filtrat pertama, kedua dan ketiga digabung dan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kering.

3.3.5 Pembuatan Media

Dalam pembuatan media ini semua alat dan bahan yang digunakan di sterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C,

tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang dibuat adalah media MHA (*Muller Hinton Agar*). Cara membuat media MHA adalah 34 g *Muller-Hinton* agar dilarutkan dalam 1 liter aquades. Larutan yang berada dalam Erlenmeyer dididihkan sampai bubuk benar-benar larut, kemudian dilakukan sterilisasi kedalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm dengan suhu 121 °C.

3.3.6 Uji AKtivitas Antimikroba Ekstrak *S. caseolaris*

Pengujian antimikroba ekstrak mangrove *S. caseolaris* menggunakan metode cawan agar difusi Kirby-Bauer. Prinsip uji ini adalah, pada lempeng agar yang telai disemai dengan mikroorganisme penguji ditempelkan cakram kertas yang berisi berbagai antibiotik. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antibiotik terlihat sebagai wilayah jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Untuk mengetahui konsentrasi yang memberikan diameter daerah hambatan terbesar dilakukan uji cakram, yaitu pengujian antimikroba dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Kepadatan bakteri yang digunakan sesuai dengan standart kepadatan McFarland 0,5 yaitu 10^6 koloni/mL. Menurut Elela (2009) aktivitas antibakteri dari ekstrak mangrove dapat diketahui dengan menggunakan teknik kertas difusi dengan kertas (5 mm) yang ditempel kan pada cawan berisi nutrisi agar hasil inokulasi dengan indikator adanya daya hambat bakteri.

Adapun tahapan-tahapan dalam pelaksanaan uji cakram metode Kirby-Bauer adalah media MHA diberi keterangan jenis bakteri dan tanggal, kemudian *cotton swab* steril dicelupkan kedalam suspensi biakan uji dan disebarakan secara mendatar lalu perputaran 90° untuk olesan kedua dan 45° untuk olesan ketiga. Media yang sudah terdapat bakteri ditempelkan kertas cakram yang sudah

direndam dengan sampel yang telah dilarutkan DMSO 10% dengan konsentrasi 0,1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Media MHA yang sudah ditemplei kertas cakram diinkubasi pada suhu optimal tumbuh dari bakteri yang sedang diujikan. Setelah 24 jam diameter zona jernih dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong. Skema uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 10.

3.3.7 Metode Pemisahan (Partisi)

Pemisahan kandungan kimia dari fraksi methanol dilakukan dengan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel G-60 F₂₅₄. Silika gel yang telah disuspensikan dengan heksana dimasukan kedalam kolom. Ekstrak metanol pekat dilarutkan dan dimasukkan kedalam kolom sebanyak 1 ml. Hasil preabsorpsi dimasukan kedalam kolom lalu dielusi dengan pelarut, kemudian kepolaran eluen ditingkatkan dengan menambahkan pelarut yang lebih polar secara bertahap. Komposisi eluen yang digunakan adalah 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7 dan 2:8 dengan volume masing-masing eluen tersebut adalah 10 ml. Kemudian kolom dibuka sambil terus menerus dan ditambahkan fase gerak sedikit demi sedikit agar silika gel tidak pecah. Fraksi yang keluar ditampung sesuai warna dan diperoleh isolat pigmen murni. Fraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan untuk dilakukan pengujian antimikroba dan uji kromatografi lapis tipis (KLT) serta karakterisasi UV-Vis dan IR.

3.3.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk mengetahui jumlah minimal komponen dalam ekstrak kasar serta sistem pengelusi yang paling tepat untuk kromatografi kolom. Selain itu KLT juga digunakan untuk mengetahui R_f dari fraksi-fraksi hasil isolasi ekstrak kasar dengan menggunakan kromatografi kolom (Abianti *et al.*, 2010)

Dalam KLT, mula-mula dilakukan penjenruhan *developing chamber* dengan pelarut lalu ditutup rapat. Pelarut ini merupakan fase gerak dalam kromatografi dan dicari perbandingan terbaik untuk pemurnian ekstrak. Sementara itu, dilakukan persiapan penotolan sampel ke fasa diam KLT berupa plate KLT. Plate KLT ini adalah lapisan tipis silika gel diatas lempengan alumunium. Plate dipotong seukuran panjang 8 cm dan lebar 2 cm, lalu dibuat garis pada jarak 0,5 cm dari dasar plate sebagai titik awal, yaitu tempat sampel ditotolkan.

Sampel yang sudah dilarutkan dengan pelarut ditotolkan pada titik awal dengan mikropipet sehingga diameter totolan hanya 1,5 mm. setelah *plate* dipastikan kering, *plate* dimasukkan dalam *developing chamber* yang berisi pelarut sebanyak 10 ml. Selanjutnya *developing chamber* ditutup dan dibiarkan sampai pelarut bergerak mendekati garis atas dan dan terbentuk senyawa tunggal dengan hanya muncul satu titik di plate tersebut. Kemudian diambil dengan pinset tanpa menyentuh garis atas pelat dan dikeringkan. Setelah kering *plate* divisualisasikan di bawah lampu UV.

Tujuan dilakukan KLT adalah untuk mengetahui senyawa dalam ekstrak *S. caseolaris* sudah murni dan terbentuk senyawa tunggal. Ciri dari terbentuknya senyawa tunggal yang sudah murni adalah hanya muncul satu titik dalam plate tanpa adanya goresan atau tarikan ekstrak yang tidak sempurna oleh pelarut. Setelah murni kemudian *plate* di kerok dan dilarutkan dalam pelarut yang digunakan pada proses KLT, kemudian di sentrifuge untuk memisahkan ekstrak sampel dengan silika gel. Setelah terpisah sampel ekstrak yang sudah murni ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat sebanyak 1 g untuk mengikat senyawa H_2O yang masih terikat pada sampel ekstrak, setelah ekstrak berbentuk kristal kemudian dilakukan identifikasi UV-Vis dan IR.

3.3.9 Identifikasi Spektra Senyawa Aktif (UV-Vis dan IR)

3.3.9.1 Spektrofotometer UV-Vis

Pengukuran pola spektra sampel hasil isolasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Identifikasi ini dipilih karena prosesnya sederhana dan tidak perlu melakukan preparasi khusus. Larutan blanko berupa pelarut dimasukkan dalam kuvet hingga tanda batas ± 10 ml, kemudian dimasukkan dalam alat UV-Vis. Sampel hasil isolasi dimasukan pada kuvet spektro hingga tanda batas, kemudian dimasukkan pada alat UV-Vis Shimadu untuk dilakukan pembacaan pola spektra dan panjang gelombang yang dihasilkan. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang (λ) 200 nm – 800 nm untuk mengetahui absorbansinya pada λ maksimum.

3.3.9.2 Spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*)

Spektrofotometer FT-IR digunakan untuk mengetahui gugus fungsi suatu senyawa. Prosedur identifikasi FT-IR yaitu larutan blanko di teteskan pada plat NaCl yang transparan terhadap radiasi infra merah menggunakan pipet tetes, kemudian dimasukkan dalam alat spektrofotometer FT-IR. Hasil pembacaan gugus fungsi dari blanko dengan spektrofotometer FT-IR dihilangkan agar pengujian sampel gugus fungsi dari pelarut tidak terdeteksi. Setelah itu, sampel hasil isolasi berupa cairan ditetaskan pada plat NaCl dan pelarutnya dibiarkan menguap sehingga membentuk film tipis. Sampel cair tersebut diukur serapannya pada daerah infra merah $\lambda = 15,4 - 2,5 \mu\text{m}$ ($600 - 4000 \text{ cm}^{-1}$).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Fitokimia

Data hasil perhitungan rendemen sampel kering *S. caseolaris* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Rendemen Sampel Kering (Rata-Rata $\pm$ SE)

No	Bagian	Rendemen (%)
1.	Akar	13,10 $\pm$ 3,46
2.	Batang	13,47 $\pm$ 1,74
3.	Kulit	15,33 $\pm$ 3,71
4.	Daun	7,17 $\pm$ 0,52
5.	Bunga	11,33 $\pm$ 0,67
6.	Buah	20,23 $\pm$ 3,67

Tabel 4 menunjukkan rendemen pada proses pengeringan paling tinggi terdapat pada buah sebesar 20,23 $\pm$ 3,67%. Hal ini dikarenakan buah *S. caseolaris* memiliki kandungan air yang cukup tinggi, sehingga pada proses pengeringan dibawah sinar matahari kadar air dalam buah masih banyak. Selain itu, struktur lapisan kulit buah yang memiliki lapisan dinding sel yang tebal membuat air pada buah sulit diuapkan. Respirasi pada organ buah juga tinggi pada saat awal pertumbuhan buah, yakni pada saat sel aktif membelah kemudian menurun. Tetapi penurunan laju respirasi ini kemudian diikuti dengan peningkatan laju respirasi. Gejala ini disebut klimaterik. Klimaterik terjadi bersamaan dengan pematangan penuh dari buah tersebut (Lakitan, 2010).

Rendemen terendah pada proses pengeringan terdapat pada bagian daun 7,17 $\pm$ 0,52%. Struktur daun tanaman memiliki stomata yang digunakan sebagai transpirasi. Transpirasi dapat diartikan sebagai proses kehilangan air dalam bentuk uap dari jaringan tumbuhan melalui stomata. Bahan yang terkandung dalam tanaman sebagian besar adalah senyawa kerangka karbon, dimana karbon tersebut berasal dari udara dalam bentuk karbon dioksida (CO₂). Tumbuhan menyerap CO₂ stomata. Jika tumbuhan ingin menyerap lebih banyak

CO₂ maka stomata harus dibuka lebar. Konsekuensinya jika stomata membuka lebar maka akan semian banyak tumbuhan kehilangan air, karena baik CO₂ maupun uap air bergerak melalui stomata yang sama. Pada siang hari, radiasi matahari yang diserap daun akan meningkatkan suhu daun. Jika transpirasi berlangsung maka peningkatan suhu daun ini dapat dihindari (Lakitan, 2010).

Hubungan kadar air bahan dan rendemen adalah berbanding lurus. Menurut Hariyati (2006) kadar air dipengaruhi oleh derajat pengeringan. Derajat pengeringan yang tinggi akan menghasilkan kadar air yang rendah. Jika kadar air yang dihasilkan tinggi maka nilai rendemen akan tinggi juga. Hasil proses pengeringan masing-masing bagian *S. caseolaris* kemudian dilakukan pengujian fitokimia.

Hasil pengujian kandungan fitokimia yang terdapat pada bagian akar, batang, kulit, daun, bunga dan buah *S. caseolaris* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia *S. caseolaris*

No	Senyawa	<i>Sonneratia caseolaris</i>					
		Akar	Batang	Kulit	Daun	Bunga	Buah
1.	Alkaloid	++++	++++	++++	++++	++++	+
2.	Tanin	+	++	++++	++	+	+
3.	Saponin	+	-	+	++++	+	+
4.	Fenolik	-	+	++	-	-	+
5.	Flavonoid	-	++	++++	+	+	+
6.	Triterpenoid	+	++++	+++	+	++	-
7.	Steroid	+	-	+	++	+	+
8.	Glikosida	+++	+++	++	++++	+++	+

Keterangan :

- : Negatif
- +
- ++ : Positif lemah
- +++ : Positif
- ++++ : Positif kuat
- +++++ : Positif kuat sekali

Tabel 5 memperlihatkan bahwa hampir seluruh bagian dari *S. casolaris* mengandung senyawa bioaktif. Menurut Miles *et al.*, (1999) tanaman mangrove mengandung senyawa kimia antara lain garam, asam organik, karbohidrat, benzokuinon, naptofuran, sesquiterpen, triterpenoid, alkaloid, flavonoid, polimers,

derivat sulfur dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai antibakteri.

Tabel 5 memperlihatkan bahwa alkaloid banyak terdapat pada bagian akar, batang, kulit, daun dan bunga, sedangkan pada bagian buah alkaloid berjumlah sedikit. Bagian akar *S. caseolaris* mengandung senyawa alkaloid yang cukup tinggi, karena beberapa alkaloid mungkin bertindak sebagai substansi cadangan untuk persediaan nitrogen, meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut walaupun sangat kekurangan nitrogen. Selain itu, alkaloid dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan dengan cara pertukaran dengan kation tanah, karena sebagian besar alkaloid bersifat basa. Menurut Sastrohamidjojo (2007) didalam tanaman yang mengandung alkaloid mungkin terlokasi (terkonsentrasi) pada jumlah yang tinggi pada bagian tanaman tertentu, sebagai contoh reserpine terkonsentrasi pada akar. Pada bagian batang alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh, karena dari segi struktur, beberapa alkaloid menyerupai pengatur tumbuh. Pada bagian kulit alkaloid berfungsi sebagai produk akhir dari mekanisme detoksifikasi, jika tidak akumulasi mereka di dalam tumbuhan mungkin menyebabkan kerusakan pada tumbuhan tersebut. Pada bagian daun alkaloid berfungsi sebagai produk pengeluaran (*excretory*) dari tanaman. Pada bagian buah alkaloid berfungsi sebagai cadangan untuk sintesis protein. Pada bagian bunga alkaloid merupakan substansi beracun untuk melindungi tumbuhan dari serangan serangga, parasit atau pemangsa tumbuhan dan penghambatan aktivitas enzimatis oleh alkaloid (Robinson, 1995).

Tabel 5 memperlihatkan bahwa tanin terdapat pada seluruh bagian tanaman dan paling banyak terdapat pada bagian kulit. Menurut Najib (2010) pada kulit dan daun mengandung senyawa tanin cukup tinggi karena tanin digunakan untuk membantu proses metabolisme. Menurut Wei Chuan (2008)

pada jaringan batang tanin sering ditemukan pada area pertumbuhan aktif dari pohon, seperti floem dan xilem sekunder dan merupakan lapisan antara epidermis dan korteks. Selain itu, tanin juga terdapat pada bunga yang berfungsi untuk anti hama bagi tanaman sehingga mencegah serangga dan fungi. Tanin juga terdapat pada buah *S. caseolaris* yang digunakan sebagai pelindung pada saat pertumbuhan ketika buah masih belum matang. Pada buah yang belum matang tanin juga digunakan sebagai energi dalam proses metabolisme dalam bentuk oksidasi tanin. Tanin juga dikatakan sebagai sumber asam pada buah (Najib, 2010). Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Horvart, 1981). Tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Kedua jenis tanin ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi (Ummah, 2010). Menurut Wei Chuan (2008) tanin pada jaringan biji terletak dalam lapisan antara *integument* luar dan lapisan *aleurone* dan memiliki sifat bakterisidal.

Tabel 5 memperlihatkan bahwa saponin paling banyak terdapat pada daun, karena daun merupakan bagian tanaman yang berfungsi sebagai metabolisme tanaman sehingga saponin sangat dibutuhkan untuk mengikat air dan lemak. Tanin juga terdapat pada bagian akar, kulit, bunga dan buah dengan jumlah yang sedikit. Menurut Augustin *et al.*, (2011) saponin dalam epidermis akar berfungsi untuk menetralkan *soil-borne fungi*. Pada bagian batang *S. caseolaris* tidak mengandung saponin. Menurut Cheeke (1999) saponin pada tanaman mangrove berfungsi sebagai surfaktan, dimana saponin memiliki kemampuan untuk mengikat air dan lemak.

Tabel 5 juga menunjukkan bahwa kandungan fenolik paling banyak terdapat pada kulit dan batang. Senyawa fenolik dalam tanaman bermanfaat untuk membantu proses pigmentasi dan pertumbuhan dari tanaman tersebut. Menurut Freeman dan Gwyn (2008) lignin terdiri dari ratusan atau ribuan monomer fenolik dan komponen utama dari batang, karena lignin tidak larut, keras, hampir tidak dapat dicerna dan lignin memberikan pertahanan fisik yang bagus terhadap serangan patogen. Sedangkan pada bagian akar, daun dan bunga tidak mengandung senyawa fenolik. Hal ini dikarenakan akar berfungsi sebagai alat penyerap mineral, sehingga pada akar tidak mengandung senyawa fenolik karena dapat menghambat fungsi dari akar mangrove. Menurut Michalak (2007) salah satu fungsi dari fenolik membentuk lignin untuk mempertebal dinding sel yang berfungsi untuk menghambat masuknya logam berat. Menurut Lattanzio *et al.*, (2006) tanaman memerlukan fenolik untuk pigmentasi, pertumbuhan, reproduksi, resistensi terhadap bakteri patogen dan banyak fungsi lainnya.

Tabel 5 menunjukkan bahwa flavonoid paling banyak terdapat pada kulit. Secara kimia, flavonoid mengandung cincin aromatik tersusun dari 15 atom karbon dengan inti dasar tersusun dalam konjugasi $C_6-C_3-C_6$ (2 inti aromatik terhubung dengan 3 atom karbon). Selain itu kandungan flavonoid juga terdapat pada daun *S. caseolaris*. Menurut Freeman dan Gwyn (2008), pigmen berwarna flavonoid yang bersifat larut air diproduksi oleh tanaman untuk melindungi daun-daunan dari pengaruh bahaya radiasi ultraviolet. Pada bunga *S. caseolaris* juga memiliki kandungan senyawa flavonoid. Secara biologis, flavonoid memainkan peranan penting dalam kaitan penyerbukan pada tanaman oleh serangga, sejumlah flavonoid mempunyai rasa pahit hingga dapat bersifat menolak sejenis ulat tertentu. Senyawa Flavin memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warna merah, ungu atau biru, yaitu semua warna yang ada pada

pelangi kecuali warna hijau pada bunga. Menurut Freeman dan Gwyn (2008), pigmen flavonoid yaitu antosianin bertanggung jawab untuk memberikan warna mencolok dari banyak tanaman dan menghadirkan dalam konsentrasi tinggi pada bunga, buah dan daun yang telah gugur. Senyawa flavonoid juga terdapat pada buah. Flavonoid tidak terdapat pada akar, karena fungsi akar secara umum tidak memerlukan senyawa flavonoid. Menurut Sriningsih *et al.*, (2010) flavonoid merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman, yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji.

Tabel 5 juga memperlihatkan bahwa senyawa triterpenoid pada semua bagian *S. caseolaris* kecuali buah. Senyawa triterpenoid paling banyak ditemui pada bagian batang dan kulit. Hal ini dikarenakan, komponen triterpenoid terlibat dalam interaksi antar tanaman, antar tanaman dan mikroorganisme, antar tanaman dan serangga dan bertindak sebagai agen antibakteri yang banyak berfungsi di batang dan kulit *S. caseolaris*. Menurut Basyuni *et al.*, (2007) senyawa terpenoid pada akar mangrove digunakan sebagai *biomarker* zat organik mangrove. Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologi tertentu, sebagai anti jamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi dan mengatasi penyakit diabetes (Robinson, 1995).

Terpenoid atau sering disebut isoprenoid adalah hasil metabolisme sekunder tanaman yang memiliki turunan paling banyak pada tanaman dan sedikit pada invertebrata. Selain itu, senyawa triterpenoid juga terdapat pada bagian daun. Menurut Basyuni (2009) senyawa triterpenoid pada daun berfungsi untuk mengatur tekanan kadar garam. Tabel 5 juga memperlihatkan senyawa triterpenoid terdapat pada bunga dengan jumlah cukup banyak. Pada bunga terpenoid juga bertindak sebagai pertahanan, penyembuhan luka, pengatur suhu tanaman pada saat penyerbukan benih tanaman, memberikan aroma pada buah

serta memberikan keharuman pada bunga (Lu-E Shi *et al.*, 2011). Menurut Sastrohamidjojo (2007), senyawa terpenoid pada bunga memiliki volatilitas sehingga berbau harum.

Hasil analisa fitokimia juga menunjukkan adanya senyawa steroid pada bagian akar, kulit, daun, bunga dan buah. Namun, senyawa steroid ini tidak terdapat pada bagian batang. Umumnya steroid tumbuhan berasal dari sikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat. Beberapa senyawa golongan steroid mempunyai aktifitas seperti sterol (α -spinasterol) sebagai anti inflamasi (Saleh, 2009).

Hasil analisa fitokimia juga menunjukkan adanya glikosida pada semua bagian *S. caseolaris* dan paling banyak terdapat pada bagian daun. Menurut Mustakim (2008), glikosida berperan dalam tumbuhan terlibat dalam fungsi pengaturan-pengaturan, perlindungan dan kesehatan. Glikosida berperan untuk manusia digunakan dalam bidang pengobatan, misalnya sebagai obat jantung (kardionotika), contohnya glikosida digitalis. Secara sederhana glikosida merupakan gula eter. Bentuk alfa dan beta mungkin saja ada, namun di alam atau di dalam tanaman hanya bentuk beta (β) yang ada.

Berdasarkan Tabel 5 maka dapat disimpulkan kandungan senyawa fitokimia yang paling kompleks terdapat pada bagian kulit, karena kulit merupakan bagian terluar dari tumbuhan dan berada hampir diseluruh bagian tanaman, sehingga kulit memiliki fungsi lebih dominan untuk melindungi tanaman tersebut dari kerusakan yang diakibatkan oleh bakteri, virus ataupun dari tanaman yang lain. Senyawa bioaktif pada kandungan fitokimia yang terdapat kulit tidak selalu dihasilkan dari kulit. Tetapi juga dihasilkan dibagian yang lain yang ditransferkan kebagian kulit untuk digunakan sebagai pertahanan. Pada kulit terdapat jaringan epidermis. Epidermis merupakan jaringan paling luar yang menutupi permukaan organ tumbuhan. Fungsi utama jaringan epidermis adalah

sebagai pelindung jaringan yang ada di bagian sebelah dalam. Bentuk, ukuran, dan susunan, serta fungsi sel epidermis berbeda-beda pada berbagai jenis organ tumbuhan. Ciri khas sel epidermis adalah sel-selnya rapat satu sama lain membentuk bangunan padat tanpa ruang antar sel. Dinding sel epidermis ada yang tipis, ada yang mengalami penebalan di bagian yang menghadap ke permukaan tubuh, dan ada yang semua sisinya berdinding tebal dan mengandung lignin (Crayonpedia, 2008). Selain itu, jumlah kandungan metabolit sekunder pada tanaman juga dipengaruhi oleh beberapa faktor luar seperti replikasi pertumbuhan, pembungaan, musim, suhu, habitat dan panjangnya siang hari (Sastrohamidjoyo, 1996).

Berdasarkan hasil pengujian fitokimia maka *S. caseolaris* dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung berbagai senyawa bioaktif yang bisa menghambat dan membunuh bakteri. Senyawa-senyawa bioaktif seperti terpenoid, alkaloid, tanin, steroid, fenolik, glikosida, saponin dan flavonoid terdapat disemua bagian tanaman *S. caseolaris* dengan kadar yang berbeda-beda. Hal ini dipengaruhi oleh fungsi dari masing-masing bagian tanaman seperti akar, batang, kulit, daun, bunga dan buah yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif.

4.2 Ekstraksi dan Uji Antibakteri Ekstrak *S. caseolaris*

Pada penelitian ini digunakan empat macam pelarut yang berbeda-beda kepolarannya untuk mendapatkan pelarut terbaik yang dapat melarutkan senyawa bioaktif pada *S. caseolaris*. Hasil ekstraksi dengan pelarut metanol, kloroform, etil asetat dan heksan secara umum dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Hasil Ekstraksi Dalam Pelarut : (a) Metanol, (b) Kloroform, (c) Etil Asetat dan (d) Heksan

Hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol memiliki warna paling pekat dibanding dengan pelarut kloroform, etil asetat dan heksan. Tingkat kepekatan hasil ekstraksi dipengaruhi oleh kemampuan pelarut untuk menarik senyawa fitokimia. Pelarut metanol memiliki indeks polaritas paling tinggi dibanding pelarut yang lain, sehingga senyawa fitokimia yang terkandung pada *S. caseolaris* terekstrak paling banyak. Menurut Watson (2010) semakin polar suatu pelarut atau campuran pelarut, semakin jauh pelarut tersebut akan menggerakkan senyawa polar. Namun, hasil ekstraksi dengan pelarut heksan memiliki warna paling cerah. Pelarut heksan merupakan pelarut non polar yang memiliki indeks polaritas 0 (Watson, 2010), sehingga kemampuannya dalam melarutkan senyawa fitokimia yang terkandung dalam *S. caseolaris* terekstrak sedikit. Hal ini dikarenakan senyawa fitokimia pada *S. caseolaris* kebanyakan merupakan senyawa polar.

Hasil ekstraksi pada bagian batang, kulit, daun dan bunga *S. caseolaris* dengan menggunakan pelarut metanol memiliki warna lebih pekat dari pada hasil ekstraksi pada bagian akar dan buah. Berdasarkan hasil uji fitokimia, pada bagian batang, kulit, daun dan bunga memiliki kandungan senyawa fitokimia alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, triterpenoid dan glikosida dalam jumlah yang sangat banyak. Semua senyawa fitokimia tersebut bersifat polar. Sehingga pada proses ekstraksi semua senyawa tersebut larut dalam pelarut metanol. Pada bagian akar dan buah senyawa polar yang terkandung antara lain alkaloid, tanin,

saponin, triterpenoid dan glikosida dalam jumlah sedikit. Sehingga senyawa fitokimia yang terlarut dalam pelarut metanol juga sangat sedikit. Menurut Cowan (1999) senyawa bioaktif yang terlarut dalam pelarut polar antara lain antosianin, terpenoid, saponin, tanin, xanthosilin, totarol, quassinoid, lakton, flavon, phenone dan polifenol, sedangkan senyawa yang larut dalam pelarut non polar adalah steroid dan flavonol.

Pelarut yang bersifat polar, mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuat kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amini dan glikosida. Pelarut non polar merupakan salah satu yang dikenal efektif terhadap alkaloid dalam bentuk basa dan terpenoid dari bahan. Pelarut non polar juga dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lemak dan minyak yang mudah menguap. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. (Harborne, 1987). Metanol sebagai senyawa polar dapat disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar, dapat juga mengekstrak komponen non polar seperti lilin dan lemak (Ayuningrat, 2009).

Hasil dari proses maserasi dilakukan perhitungan rendemen ekstrak. Hasil perhitungan rendemen ekstrak *S. caseolaris* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Perhitungan Rendemen Hasil Ekstraksi (Rata-Rata $\pm$ SE)

No	Bagian	Rendemen			
		Metanol (%)	Klorofom (%)	Etil Asetat (%)	Heksan (%)
1.	Akar	7,70 $\pm$ 0,52	0,53 $\pm$ 0,33	0,17 $\pm$ 0,07	0,10 $\pm$ 0,00
2.	Batang	4,90 $\pm$ 0,42	0,15 $\pm$ 0,08	0,17 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,13
3.	Kulit	5,83 $\pm$ 2,32	0,45 $\pm$ 0,33	0,23 $\pm$ 0,07	0,10 $\pm$ 0,00
4.	Daun	1,57 $\pm$ 0,27	1,50 $\pm$ 0,06	1,30 $\pm$ 0,10	1,70 $\pm$ 0,31
5.	Bunga	6,97 $\pm$ 0,44	0,50 $\pm$ 0,31	0,15 $\pm$ 0,05	0,50 $\pm$ 0,06
6.	Buah	5,43 $\pm$ 1,76	1,13 $\pm$ 0,75	1,97 $\pm$ 0,77	1,77 $\pm$ 1,20

Tabel 6 memperlihatkan bahwa rendemen ekstrak tertinggi terdapat pada akar dengan pelarut metanol sebesar 7,70 $\pm$ 0,5%. Bagian akar *S. caseolaris*

memiliki senyawa fitokimia alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid dan glikosida yang dapat diekstrak oleh pelarut metanol. Menurut Pratiwi (2010), secara umum pelarut metanol paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder. Hasil rendemen ekstrak terendah terdapat pada bagian akar dan kulit dengan pelarut heksan sebesar $0,10 \pm 0,00\%$. Hal ini dikarenakan, kandungan fitokimia pada akar dan kulit paling banyak merupakan senyawa polar, sehingga senyawa fitokimia yang terekstrak oleh pelarut heksan sangat sedikit. Selain itu, sifat heksan yang mudah menguap menyebabkan rendemen ekstrak sangat sedikit. Menurut Munawaroh dan Handayani (2010) pelarut heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap dan selektif dalam melarutkan zat, mengekstraksi sejumlah kecil lilin. Menurut Fadhilla (2010) menyatakan bahwa dalam proses ekstraksi komposisi, warna, aroma dan rendemen yang dihasilkan akan dipengaruhi oleh jenis, ukuran dan tingkat kematangan bahan baku, jenis pelarut, suhu dan waktu serta metode ekstraksi.

Hasil ekstraksi *S. caseolaris* dilakukan uji antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil penghambatan ekstrak *S. caseolaris* pada bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Data Hasil Penghambatan Ekstrak Mangrove *S. caseolaris* (Akar, Batang, Kulit, Daun, Bunga, Buah) Terhadap Bakteri *S. aureus*

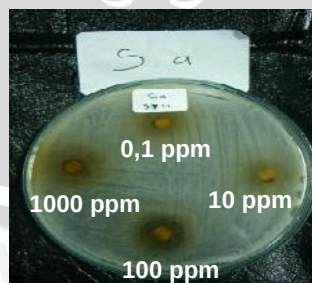
Sampel	Pelarut	<i>Staphylococcus aureus</i>			
		0,1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Akar	Metanol	-	6,95 mm	6,15 mm	-
	Klorofom	-	8,15 mm	7,65 mm	-
	Etil asetat	6,85 mm	7,65 mm	6,25 mm	6,15 mm
	Heksan	6,15 mm	-	7,15 mm	-
Batang	Metanol	7,45 mm	-	8,15 mm	8,75 mm
	Klorofom	-	8,15 mm	7,65 mm	8,75 mm
	Etil asetat	-	7,35 mm	6,65 mm	-
	Heksan	-	-	-	-
Kulit	Metanol	8,25 mm	7,4 mm	-	8,7 mm
	Klorofom	8,65 mm	9,15 mm	6,15 mm	-
	Etil asetat	8,6 mm	8,45 mm	-	7,15 mm
	Heksan	-	7,45 mm	7,25 mm	6,15 mm
Daun	Metanol	7,95 mm	6,65 mm	8,75 mm	7,55 mm
	Klorofom	8,45 mm	-	8,15 mm	7,25 mm
	Etil asetat	7,8 mm	9,35 mm	7,55 mm	7,65 mm
	Heksan	-	7,75 mm	8,35 mm	-
Bunga	Metanol	-	7,15 mm	7,65 mm	15,95 mm
	Klorofom	8,65 mm	9,15 mm	7,15 mm	7,55 mm
	Etil asetat	9,35 mm	8,75 mm	7,25 mm	9,25 mm
	Heksan	-	-	6,35 mm	6,15 mm
Buah	Metanol	6,5 mm	7,5 mm	-	6,6 mm
	Klorofom	6,8 mm	-	7 mm	6,5 mm
	Etil asetat	-	6,5 mm	-	-
	Heksan	-	7,5 mm	-	-

Tabel 7 memperlihatkan bahwa semua bagian *S. caseolaris* memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *S. aureus*. Hal ini dikarenakan, hasil dari uji fitokimia menunjukkan bahwa di semua bagian *S. caseolaris* mengandung senyawa fitokimia yang beberapa diantaranya mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Naiborhu (2002) *S. caseolaris* merupakan jenis tumbuhan mangrove yang dapat membunuh serta menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa bioaktif yang terdapat pada *S. caseolaris* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, steroid, fenol hidrokuinol dan tanin.

Tabel 7 menunjukkan bahwa kisaran diameter zona penghambatan pada konsentrasi 1000 ppm adalah 6,15 mm sampai 15,95 mm. Diameter zona penghambatan terkecil didapati pada bagian kulit dan bunga dengan pelarut

heksan. Hasil uji fitokimia pada bagian kulit dan bunga menunjukkan adanya senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Pelarut heksan hanya mampu melarutkan senyawa non polar seperti steroid. Namun, jumlah steroid pada bagian kulit dan bunga sangat sedikit, sehingga aktivitas antibakteri *S. aureus* kecil.

Tabel 7 juga menunjukkan bahwa diameter zona penghambatan *S. aureus* terbesar terdapat pada bagian bunga dengan pelarut metanol sebesar 15,95 mm. Dari hasil uji fitokimia diketahui bahwa bunga mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Semua senyawa tersebut larut dalam pelarut metanol. Menurut Agoramoothy *et al.*, (2008) berdasarkan hasil penelitian pada tanaman mangrove disebutkan bahwa selain mengandung tanin sebagai metabolit sekunder utama, juga mengandung steroid, triterpen, steroid, saponin, flavonoid dan alkaloid yang larut dalam pelarut metanol. Menurut Sari (2008) ekstrak mangrove dengan pelarut metanol memberikan hambatan terhadap bakteri *S. aureus*. Banyaknya senyawa fitokimia yang terlarut dalam pelarut metanol, juga adanya sinergi antara senyawa bioaktif tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri menyebabkan diameter zona penghambatan pada bagian bunga sangat besar. Hasil penghambatan terbaik ekstrak bunga dengan pelarut metanol dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Zona Penghambatan Terbaik Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Pada *S. aureus*

Data hasil penghambatan ekstrak *S. caseolaris* pada bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 8.

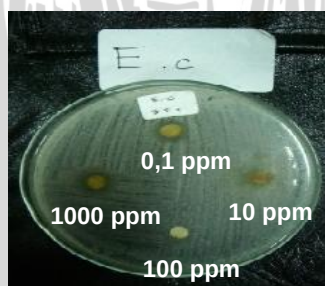
Tabel 8. Data Hasil Penghambatan Ekstrak Mangrove *S. caseolaris* (Akar, Batang, Kulit, Daun, Bunga, Buah) Terhadap Bakteri *E. coli*

Sampel	Pelarut	<i>Escherichia coli</i>			
		0,1 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Akar	Metanol	6,35 mm	9,55 mm	7,5 mm	8,35 mm
	Kloroform	6,15 mm	-	-	7,65 mm
	Etil asetat	7,15 mm	- -	-	-
	Heksan	7,65 mm	6,15 mm	-	8,75 mm
Batang	Metanol	-	7,95 mm	-	-
	Kloroform	-	7,25 mm	7,65 mm	12,05 mm
	Etil asetat	7,15 mm	7,45 mm	-	11,25 mm
	Heksan	7,65 mm	-	6,15 mm	8,85 mm
Kulit	Metanol	7,75 mm	9,45 mm	8,35 mm	11,25 mm
	Kloroform	-	6,85 mm	7,65 mm	11,5 mm
	Etil asetat	7,85 mm	7,7 mm	10,45 mm	10,15 mm
	Heksan	-	7,35 mm	-	7,35 mm,
Daun	Metanol	7,1 mm	8,35 mm	10 mm	7,45 mm
	Kloroform	8,75 mm	5,15 mm	7,25 mm	7,9 mm
	Etil asetat	8,35 mm	7,05 mm	8,75 mm	7,7 mm
	Heksan	8,15 mm	7,15 mm	7,75 mm	6,15 mm
Bunga	Metanol	-	8,35 mm	9,25 mm	11,25 mm
	Kloroform	-	7,25 mm	8,35 mm	11,5 mm
	Etil asetat	7,85 mm	8,15 mm	6,15 mm	12,65 mm
	Heksan	-	-	-	-
Buah	Metanol	6,5 mm	6,8 mm	-	6,8 mm
	Kloroform	-	6,2 mm	6,5 mm	-
	Etil asetat	6,4 mm	6,1 mm	6,8 mm	6,6 mm
	Heksan	-	-	-	-

Tabel 8 menunjukkan bahwa kisaran diameter zona penghambatan *E. coli* pada konsentrasi 1000 ppm adalah 6,15 mm sampai 12,65 mm. Diameter zona penghambatan terkecil didapati pada bagian daun dengan pelarut heksan. Sedangkan diameter zona penghambatan *E. coli* terbesar didapati pada bagian bunga dengan pelarut etil asetat. Dari hasil uji fitokimia diketahui bahwa bunga mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Menurut Harborne (1987) senyawa bioaktif yang larut dalam pelarut etil asetat antara lain fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Menurut

Naufalin (2005) ekstrak etil asetat sebelum di fraksinasi bersifat sinergis, sehingga meningkatkan daya antibakteri keseluruhan didalam ekstrak asal.

Ekstrak bunga dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi 100 ppm mengalami penurunan diameter penghambatan. Hal ini disebabkan oleh adanya interaksi antara senyawa bioaktif yang bersifat polar dan non polar yang bersifat antagonis pada konsentrasi tersebut. Pelarut etil asetat diketahui merupakan pelarut semi polar sehingga baik senyawa polar dan non polar ikut larut dalam pelarut tersebut meski dalam jumlah kecil. Dari hasil uji fitokimia bunga *S. caseolaris* diketahui senyawa bioaktif yang larut dalam pelarut etil asetat adalah flavonoid, triterpenoid dan steroid. Senyawa triterpenoid dan steroid merupakan senyawa semi polar sedangkan senyawa flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga pada konsentrasi 100 ppm senyawa polar atau senyawa flavonoid lebih bersifat antagonis dan tidak sinergi dalam menghambat *E. coli*. sedangkan pada konsentrasi 1000 ppm maka kelarutan senyawa polar pada pelarut semi polar jauh lebih sedikit sehingga senyawa semi polar yaitu triterpenoid dan steroid lebih kuat ikatan sinerginya dalam menghambat *E. coli*. Hasil penghambatan terbaik ekstrak bunga dengan pelarut etil asetat dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Zona Penghambatan Terbaik Ekstrak Bunga Pelarut Etil Asetat Pada *E. coli*

4.3 Fraksinasi dan Uji Antibakteri Fraksi Ekstrak Bunga dengan Pelarut Metanol Dan Etil Asetat

Dari Hasil Uji antibakteri diketahui bunga *S. caseolaris* merupakan bagian yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. Coli* secara optimal. Namun, berdasarkan hasil analisa fitokimia diketahui bahwa pada bagian kulit memiliki kandungan senyawa bioaktif yang lebih kompleks dibandingkan kandungan bioaktif pada bunga. Walaupun kandungan senyawa bioaktif dalam bunga lebih sedikit tapi kemampuan daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* lebih optimal dari pada kulit. Menurut Lasembiz (2010), hal ini dipengaruhi oleh jaringan kelopak bunga memiliki aktivitas antibakteri sebagai sistem perlindungan alami untuk reproduksi dan pelestarian lebih lanjut melalui pembentukan biji. Jadi beberapa varietas tanaman telah dipelajari untuk potensi diferensial kegiatan di tingkat genotipik dan ditemukan untuk menjadi aktif terhadap spektrum bakteri gram positif dan gram-negatif dengan perbedaan profil kegiatan.

Berdasarkan hasil antimikroba dengan zona penghambatan terbaik, maka dilakukan partisi untuk memisahkan senyawa polar dan non polar dari masing-masing pelarut. Untuk ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat di partisi dengan menggunakan pelarut metanol:klorofom dengan perbandingan 6 : 4. Hal ini bertujuan untuk memisahkan senyawa polar dan non polar yang masih terkandung dalam ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat. Zat polar hanya larut dalam pelarut polar, sedangkan zat nonpolar hanya larut dalam pelarut non polar. Setelah masing-masing ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* lalu dipisahkan senyawa polar dan nonpolar kemudian diujikan antimikroba terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

4.3.1 Fraksi Polar Terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Hasil pengujian antimikroba untuk ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat yang telah dipartisi fraksi polar diperoleh zona penghambatan pada ekstrak metanol fraksi polar pada bakteri *S. aureus* sebesar 28,3 mm dan bakteri *E. coli* sebesar 25,3 mm, sedangkan pada ekstrak etil asetat zona penghambatan terhadap *S. aureus* sebesar 6,1 mm dan bakteri *E. coli* sebesar 8,9 mm. Hasil fitokimia pada bunga *S. caseolaris* menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif bersifat polar yang sangat banyak. Semua senyawa tersebut terlarut lebih banyak dengan pelarut metanol dari pada etil asetat. Sehingga kemampuan daya penghambatan antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* lebih banyak pada pelarut metanol dari fraksi polar. Menurut Naufalin (2005) diameter penghambatan bakteri uji dari semua fraksi ekstrak etil asetat lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etil asetat sebelum difraksinasi, yang berarti bahwa senyawa antibakteri utama didalam ekstrak etil asetat bersifat sinergis, sehingga meningkatkan daya antibakteri keseluruhan di dalam ekstrak asal. Zona penghambatan pada ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat fraksi polar dapat dilihat pada Gambar 25.



Gambar 25. a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol fraksi polar Pada *S. aureus* dan *E. coli*
b) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Etil Asetat fraksi polar pada *S. aureus* dan *E. coli*

Berdasarkan data diatas maka diperoleh hasil zona penghambatan terbaik terdapat pada ekstrak bunga dengan pelarut metanol pada fraksi polar. Menurut Kanazawa *et al.*,(1995), suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba maksimum, Karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik (HLB: *hydrophilic lipophilic balance*). Polaritas senyawa merupakan sifat fisik senyawa antimikroba yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba, tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik sehingga senyawa antibakteri memerlukan keseimbangan hidrofilik-lipofilik untuk mencapai aktifitas yang optimal (Branen dan Davidson, 1993).

4.3.2 Fraksi Non Polar Terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Hasil pengujian antimikroba untuk ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat yang telah dipartisi fraksi non polar diperoleh zona penghambatan pada ekstrak metanol fraksi non polar pada bakteri *S. aureus* sebesar 7,9 mm dan bakteri *E. coli* sebesar 8,5 mm, sedangkan pada ekstrak etil asetat zona penghambatan terhadap *S. aureus* sebesar 12,9 mm dan bakteri *E. coli* sebesar 12,8 mm. Zona penghambatan pada ekstrak bunga dengan pelarut metanol dan etil asetat fraksi non polar dapat dilihat pada Gambar 26.

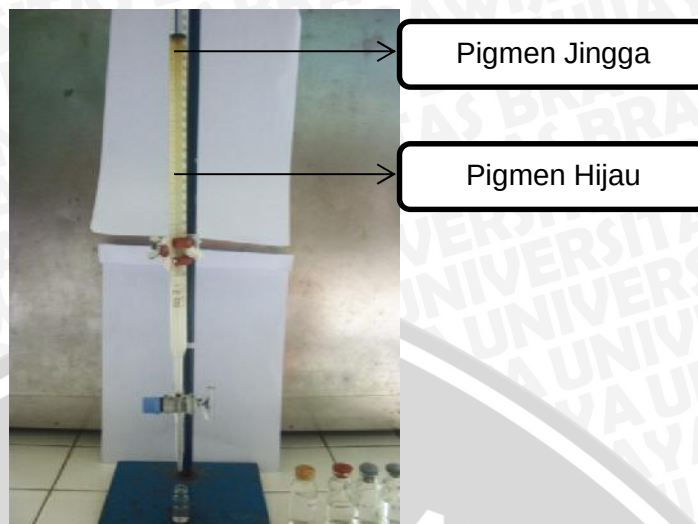


Gambar 26. a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Non Polar Pada *S. aureus* dan *E.coli*
b) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Etil Asetat Fraksi Non Polar Pada *S. aureus* dan *E. coli*

Bagian bunga *S. caseolaris* mengandung senyawa fitokimia alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, flavonoid dan glikosida. Senyawa bioaktif tersebut bersifat polar, sehingga ketika proses partisi polar dan non polar senyawa tersebut larut dalam fraksi polar. Senyawa bioaktif yang bersifat non polar terlarut sangat sedikit. Hal ini menyebabkan kemampuan antibakteri dari pelarut metanol dan etil asetat dari fraksi non polar memiliki daya hambat yang kurang potensial.

4.4 Isolasi Senyawa Antibakteri

Isolasi senyawa bioaktif dari ekstrak bunga pelarut metanol fraksi polar ini menggunakan berbagai macam perbandingan metanol, kloroform, aquadest dan heksan sehingga diperoleh perbandingan terbaik yang mampu menurunkan senyawa bioaktif adalah perbandingan metanol:kloroform (6:4) dan metanol:aquadest (5:5). Hasil kromatografi kolom untuk memisahkan senyawa pada ekstrak bunga dengan pelarut metanol dari fraksi polar dapat dilihat pada Gambar 27.



Gambar 27. Kromatografi Kolom Ekstrak Bunga dengan Pelarut metanol Fraksi Polar Membentuk Pigmen Warna Jingga dan Hijau

Dari gambar diatas dapat dilihat terbentuk nya pita-pita pigmen berdasarkan warna dan tingkat kepolarannya masing-masing. Warna yang terbentuk adalah warna jingga dan hijau. Dari hasil isolasi senyawa bioaktif diatas, kemudian ditampung dalam botol vial. Untuk perbandingan metanol:kloroform (6:4) diperoleh subfraksi sebanyak 4 buah botol vial yang berwarna hijau. Sedangkan untuk perbandingan metanol:aquadest (5:5) jumlah subfraksi yang ditampung sebanyak 10 botol vial dengan warna jingga hingga kuning. Hasil isolasi kromatografi kolom dapat dilihat pada Gambar 28.



(a)



(b)

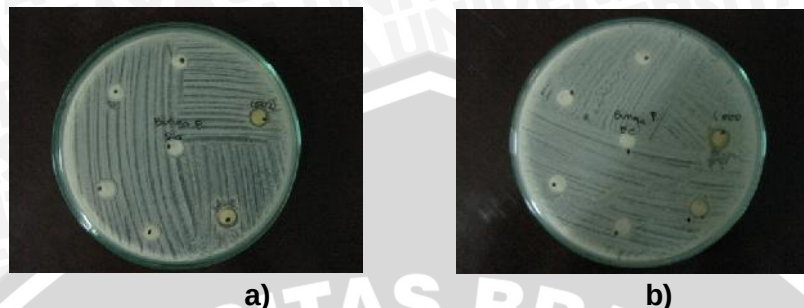
**Gambar 28. (a) Hasil Isolasi Kromatografi Kolom Ekstrak Bunga dengan Pelarut Metanol Fraksi Polar dengan Perbandingan Metanol : Kloroform (6:4)
(b) Hasil Isolasi Kromatografi Kolom Ekstrak Bunga dengan Pelarut Metanol Fraksi Polar dengan Perbandingan Metanol : Aquadest (5:5)**

Hasil kromatografi kolom menunjukkan adanya warna jingga pada pelarut metanol:aquadest (5:5) karena senyawa bioaktif yang terdapat pada bagian bunga merupakan senyawa yang bersifat polar. Menurut Watson (2010) semakin polar suatu pelarut atau campuran pelarut, semakin jauh pelarut tersebut akan menggerakkan senyawa polar. Senyawa semi polar dan non polar yang masih terkandung dalam ekstrak bunga dengan pelarut metanol fraksi polar, dalam pelarut metanol:kloroform (6:4) dan muncul warna lebih cerah (hijau) dengan jumlah senyawa bioaktif sangat sedikit.

Hasil isolasi dengan kromatografi kolom, kemudian dilakukan kembali uji aktivitas antimikroba dari kedua subfraksi tersebut. Hasil uji antimikroba subfraksi dengan perbandingan metanol:kloroform (6:4) pada konsentrasi 1000 ppm rata-rata zona penghambatan bakteri *S. aureus* adalah sebesar 7,9 mm, sedangkan untuk bakteri *E. coli* zona penghambatan rata-rata sebesar 7,7 mm. Pada subfraksi dengan perbandingan metanol : aquadest (5:5) rata-rata zona penghambatan bakteri *S. aureus* adalah sebesar 8,4 mm, sedangkan untuk bakteri *E. coli* zona penghambatan rata-rata sebesar 8,8 mm.

Berdasarkan data diatas maka dapat diketahui bahwa hasil pengujian antibakteri dengan zona terbaik terdapat pada subfraksi dari ekstrak bunga dengan pelarut metanol dari fraksi polar dengan perbandingan metanol:aquadest (5:5). Senyawa bioaktif yang terlarut diduga memiliki sifat polar dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Zona penghambatan terbaik yang terbentuk dari aktifitas senyawa bioaktif pada hasil subfraksi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tergolong *intermediate* atau adanya penghambatan antara 8 mm – 9 mm dengan menggunakan konsentrasi 1000 ppm sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga dengan pelarut metanol dari fraksi polar dengan perbandingan metanol:aquadest (5:5) dapat digunakan sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Zona penghambatan pada ekstrak bunga *S. caseolaris*

menggunakan pelarut metanol fraksi polar dari hasil kromatografi kolom dengan perbandingan metanol:aquades (5:5) dapat dilihat pada Gambar 29.



Gambar 29. a) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Polar Hasil Kromatografi Kolom Pada *S. aureus*
b) Zona Penghambatan Ekstrak Bunga Pelarut Metanol Fraksi Polar Hasil Kromatografi Kolom Pada *E. coli*

4.5 Identifikasi Senyawa Aktif

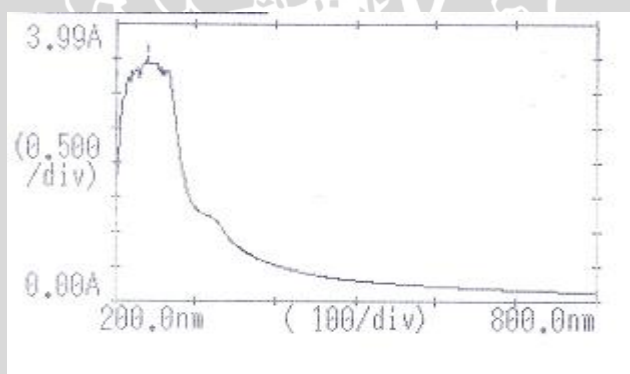
Pada pemurnian dengan KLT digunakan silika gel G-60 F₂₅₄ yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit. Pada penelitian ini pemurnian dilakukan pada senyawa terbaik yaitu senyawa yang dihasilkan dari ekstrak bunga dengan pelarut metanol dari fraksi polar yang sudah di isolasi dengan kromatografi kolom dengan perbandingan metanol : aquades (5:5). Ekstrak ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan mikropipet kemudian dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak metanol:aquades (5:5), kemudian ditunggu hingga garis batas. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV-Vis. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak bunga *S. caseolaris* dapat dilihat pada Gambar 30.



Noda Tunggal

Gambar 30. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Bunga *S. caseolaris* Dengan Noda Tunggal

Hasil analisa isolat subfraksi dengan perbandingan metanol:aquadest (5:5) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam metanol dengan panjang gelombang 200 nm – 800 nm memberikan satu serapan landai yaitu pada panjang gelombang 241 nm. Hasil identifikasi spektrofotometri UV-Vis senyawa bioaktif dari ekstrak bunga *S. caseolaris* dapat dilihat pada Gambar 31.



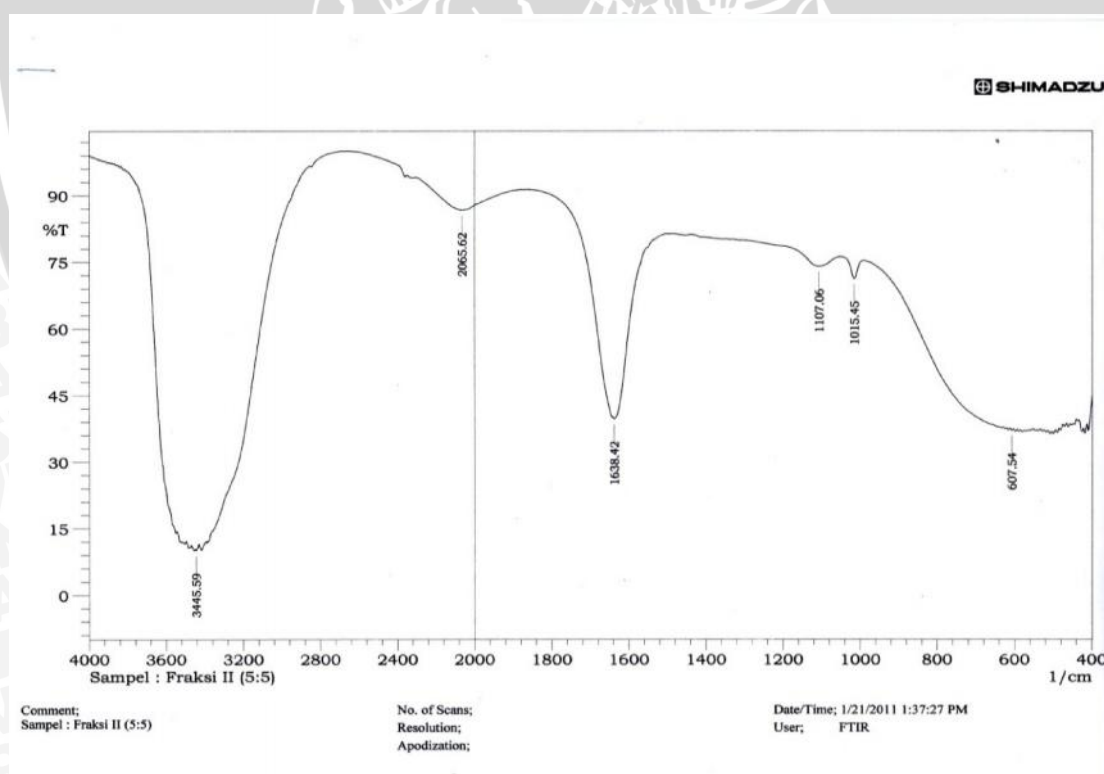
Gambar 31. Spektrofotometri UV-Vis Senyawa Bioaktif Ekstrak Bunga *S. caseolaris*

Dari hasil UV-Vis tersebut diduga sampel ekstrak bunga dengan pelarut metanol fraksi polar dengan hasil subfraksi perbandingan metanol:aquadest (5:5) adalah golongan terpenoid. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Prihatiningtyas *et al.*, (2010) pada serapan panjang gelombang 241 nm menunjukkan panjang gelombang dari golongan terpenoid. Ditambahkan pula

oleh Asih *et al.*, (2010) menunjukkan satu pita serapan landai pada panjang gelombang 265 nm yang merupakan golongan terpenoid.

Serapan yang dihasilkan oleh senyawa triterpenoid terdapat pada rentang panjang gelombang ultraviolet yaitu 180-380 nm karena senyawa triterpenoid merupakan senyawa yang tidak berwarna (Harborne, 1987). Dalam molekul yang memiliki ikatan rangkap tak terkonjugasi, mengakibatkan penyerapan sinar UV-Vis terjadi pada panjang gelombang yang lebih pendek dari pada yang dialami sistem terkonjugasi. Makin banyak ikatan rangkap tak terkonjugasi, maka makin besar energi yang diperlukan untuk mengalami transisi, sehingga absorpsi akan semakin bergeser kepanjang gelombang yang lebih kecil (Fessenden dan Fessenden, 1999).

Pola spektra inframerah senyawa bioaktif ekstrak bunga *S. caseolaris* dapat dilihat pada Gambar 32.



Gambar 32. Pola spektra inframerah senyawa bioaktif ekstrak bunga *S. caseolaris*

Spektra infra merah fraksi polar ekstrak metanol bunga *S. caseolaris* menunjukkan serapan-serapan yang spesifik dengan pembacaan sebagai berikut : puncak serapan (peak) pada bilangan gelombang $3445,59\text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah gugus fungsi OH (hidroksil) dan pada daerah serapan $2065,62\text{ cm}^{-1}$ merupakan gugus Allena, keten, isosianat dan isotiosianat. Pada bilangan gelombang $1638,42\text{ cm}^{-1}$ ini menunjukkan vibrasi N-H (amida). Selanjutnya serapan $1107,06\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus C-H (amina). Pada bilangan gelombang $1015,45\text{ m}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-X (Florida), sedangkan pada panjang gelombang $607,54\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus klorida.

Hasil pembacaan FTIR hasil isolasi kolom diatas dapat disimpulkan bahwa sampel ekstrak bunga *S. caseolaris* pelarut metanol fraksi polar yang di pisahkan dengan kromatografi kolom sehingga diperoleh sub fraksi dari perbandingan metanol:aquadest (5:5) merupakan golongan terpenoid, hal ini terlihat dari adanya gugus hidroksil OH, gugus karbonil (eter), NH (amida) dan CH (amina) . Untuk peak-peak lain yang muncul, dapat diasumsikan merupakan suatu pengotor yang terkandung dalam sampel yang dimungkinkan karena kemurnian pelarut yang digunakan pada saat isolasi dan ketepatan alat yang berbeda antara satu tempat dengan tempat lainnya.

Menurut Prihatiningtyas *et al.*, (2010), hasil spektra IR menunjukan bahwa isolat bioaktif menunjukan adanya puncak serapan karakteristik pada 3348, 2970, 2916, 1743, 1685, 1373 dan 1230 cm^{-1} . Puncak serapan pada 3348 cm^{-1} adalah puncak serapan gugus OH, puncak serapan 2916 cm^{-1} dan 2970 cm^{-1} merupakan puncak serapan gugus C-H. Adanya gugus C=O , CH_3 dan gugus C–O–C menunjukan adanya golongan terpenoid. Ditambahkan Asih *et al.*, (2010), berdasarkan hasil uji isolat dengan FTIR golongan terpenoid sejati bersifat antiradikal bebas, dengan gugus fungsi OH, CH alifatik, C=O dan C-O alkohol.

Hasil identifikasi UV-Vis dan IR diperoleh bahwa diduga senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* secara optimal yang terdapat pada bagian bunga adalah golongan terpenoid. Menurut Mingqing *et al.*, (2009), *S. caseolaris* mengandung komponen kimia antara lain triterpenoid, flavonoid dan 4 turunan benzenekarboxylic. Hal ini diperkuat dengan hasil analisa fitokimia dari *S. caseolaris*. Berdasarkan hasil fitokimia tersebut, pada bunga *S. caseolaris* diketahui mengandung senyawa terpenoid cukup banyak dan potensial digunakan sebagai antibakteri.

Pada penelitian ini hasil ekstraksi terbaik adalah bunga dengan pelarut metanol, hal ini dikarenakan metanol merupakan pelarut polar yang memiliki tingkat kelarutan terhadap senyawa bioaktif yang tinggi. Menurut Cowan (1999), senyawa- senyawa yang larut dalam pelarut metanol antara lain antosianin, terpenoid, saponin, tanin, xanthosilin, totarol, quassinoid, lakton, flavon, phenon dan polifenol. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan untuk mengekstrak bunga adalah metanol, sehingga memperkuat dugaan bahwa golongan senyawa yang diidentifikasi adalah senyawa terpenoid. Selain itu adanya pigmen warna jingga pada hasil kromatografi kolom memperkuat dugaan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid. Menurut Simes (1995) pada analisa senyawa terpenoid, sampel halus yang dididihkan dengan etanol dan diuapkan, kemudian ditambahkan kloroform dan pereaksi Liebermann-Burchard sehingga terbentuk warna merah yang menandakan adanya terpenoid.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktifitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid, linalool, diterpenoid (-), *harwicklic acid*, *phytol*, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida (Gunawan *et al.*, 2008). Mekanisme antibakteri karena sifat senyawa triterpenoid cenderung lipofilik (Cowan, 1999). Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antibakteri bereaksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan melarutkan

konsituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya. Membran sel bakteri terdiri dari fosfolipid dan molekul protein. Akibat peningkatan permeabilitas, senyawa antibakteri dapat masuk kedalam sel. Ketika didalam sel, senyawa tersebut dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel bakteri tersebut (Banwart, 1999).

Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk kedalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Kusmiati dan Agustini, 2006).

Menurut Buck (2001), menyatakan dalam penelitiannya bahwa awal-awal terjadinya interaksi mekanisme antimikroba pada bakteri gram negatif umumnya senyawa antimikroba akan dihambat oleh membran luar berupa lipopolisakarida. Kemudian terjadi akumulasi yang kemudian mengganggu ikatan-ikatan hidrofilik membran luar. Secara selektif sebagian senyawa anti mikroba dengan ukuran molekul kecil masuk melalui protein porin hingga menuju sitoplasma.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dari *S. caseolaris* diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- *S. caseolais* memiliki kandungan fitokimia alkaloid, tanin, saponin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida. Namun, senyawa saponin tidak ditemukan pada bagian batang, senyawa fenolik tidak ditemukan pada bagian akar, daun dan bunga, senyawa triterpenoid tidak ditemukan pada bagian buah dan senyawa steroid tidak ditemukan pada bagian batang.
- Hasil antibakteri terbaik terdapat pada bagian bunga *S. caseolaris* pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm memiliki zona penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 8,4 mm dan zona penghambatan pada bakteri *E. coli* 8,8 mm. Hasil identifikasi UV-Vis dan FT-IR menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang paling berpotensi digunakan sebagai antibakteri adalah golongan terpenoid.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada senyawa antibakteri ekstrak bunga *S. caseolaris* menggunakan metode identifikasi GC-MS dan NMR untuk mengetahui golongan senyawa terpenoid yang paling berpotensi sebagai antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abianti R., Utami S.T., dan Sumentri M. 2010. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Daging Buah *Dillenia indica* Dalam Pelarut Polar Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. Jurusan teknik Gas dan Petrokimia. Universitas Indonesia. Jakarta. Halaman 1 – 8.
- Agoramoorthy , G., Fu-An Chen, V. Venkatesalu, Daih-Huang Kuo and Po-Chuen Shea. 2008. *Evaluation of Antioxidant Polyphenols from selected Mangrove Plants of India*, *Asian Journal of Chemistry* (20) 2 : 1311-1322
- Arisandi. P. 2001. Mangrove Jawa Timur, Hutan Pantai Yang Terlupakan. Lembaga Kajian Ekologi dan Konservasi Lahan Basah. www.ecoton.or.id. Diakses Tanggal 12 April 2011
- Asih Astiti I. A. R., Gunawan. I. W. G., dan Ariani desi N. M., 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak *n*-Heksana Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Serta Uji Aktivitas Antiradikal bebas. *Jurnal Kimia* 4 (2), Juli 2010 : 135 – 140
- Augustin Jm., Vera K., sven B.A and saren B. 2011. *Molecular Activities, Biosynthesis and Evolution of Triterpenoid Saponins*. J.M. Augustin et al/Phytochemistry (2011). Article in Press. Journal Homepage: www.Elsevier.Com/located/phytochem. Diakses Tanggal 20 April 2011
- Ayuningrat E. 2009. Penapisan Awal Komponen Bioaktif Dari Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) Sebagai Senyawa Antioksidan. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Halaman 23.
- Bandaranayake, W. M. 2002. *Bioactivities, Bioactive Compound And Chemical Constituents Of Mangrove Plants*. *Wetlands Ecology And Management* 10 : 421-452, 2002
- Banwart, G.J. (1999). *Plants Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology review*, 12 (4), 564-582.
- Basyuni M., Hirosuke O., Shigeyuki B., kensaku T and hironori I. 2007. *Isoprenoids of Okinawan mangroves as Lipid Input into Estuarine Ecosystem*. *Journal of Oceanography*, Vol. 63, pp. 601 to 608, 2007.
- _____. 2009. *Expression of terpenoid Synthase mRNA and terpenoid Content in Salt Stressed Mangrove*. *Physol* (2009), doi: 10.1016/j.jplph.2009.05.008. Diakses Tanggal 12 April 2011
- Breland A.E. 2008. *A Supervised Strain Classifier*. University Of Nevada. Reno. Page 1 - 65

- Buck KM. 2001. *Cleaning and Desinfecting: The Effects of Germicides on Microorganism*. <http://www.infectioncontrolday.com>. Diakses Tanggal 20 April 2011
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet and M. Wooton. 2007. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia-Press. Jakarta. Halaman 1 - 365
- Branen A.L. and Davidson P.M. 1993. *Antimicrobial in Food*. Marcel Dekker. Nerw York. Page 1 - 528
- Bremer P.J, G C Fletcher & C Osborne. 2004. *Staphylococcus aureus*. New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited. New Zealand. Page 1 – 6
- Cahyono. 2010. Ekstraksi Minyak Kemiri. [http:// www. Dokterkimia .com /2010/06/ekstraksi-minyak-kemiri-secara.html](http://www.Dokterkimia.com/2010/06/ekstraksi-minyak-kemiri-secara.html). Diakses 1 April 2011
- Channel, R.J.P. 1998. *Natural product Isolation*. Humana Press. New Jersey. Page 1 – 465
- Cheeke P.R.. 1999. *Actual and Potential Applications of Yucca schidigera and Quillaja saponaria Saponins in Human and Nutrition*. Proceedings of the American Society of Animal Science. Page 1 – 10
- Chemichal. 2010. Saponin. [http :// www. Chemical book.com/ Chemical ProductProperty_EN_ CB9393639.htm](http://www.Chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB9393639.htm). Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Chemistry. 2007. Kromatografi Kolom. [http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/instrumen_analisis / kromatografi1/ kromatografi_kolom/](http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/instrumen_analisis/kromatografi1/kromatografi_kolom/). Diakses Tanggal 21 April 2011
- Coffey J.F. 2011. *Medicinal Plants : What Makes Them Different From Other Plants*. [http ://factoidz. com/ medicinal- plant s-what –makes -them-different-from –other -plants/](http://factoidz.com/medicinal-plant-s-what-makes-them-different-from-other-plants/). Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Cowan, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology. Reviews. 12 (4) : 564 -582.
- Crayonpedia. 2008. Struktur Dan Fungsi Jaringan Tumbuhan. [http://www.crayonpedia.org/mw/1._Struktur_dan_Fungsi_Jaringan_ Tumbuhan_11.1](http://www.crayonpedia.org/mw/1._Struktur_dan_Fungsi_Jaringan_Tumbuhan_11.1). Diakses tanggal 17 Juni 2011
- Cruz S. 2007. *Pristimerin: sc-281138*. <http://www.scbt.com/datasheet-281138-pristimerin.html>. Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Culvenor, C.C.J and J.S. Fitzgerald. 1963. *A Field method for Alkaloid Screening of Plants*. J. Pharm. Sci., 52, 1963, 303-304.
- Dewanti Hariyadi, R & Nuraida, L. 2001. Keamanan Pangan Fungsional dan Suplemen Berbasis Pangan Tradisional. Prosiding Seminar Nasional Pangan Tradisional: Basis bagi Industri Pangan Fungsional dan Suplemen, 54-63

- Dewi F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Halaman 1 - 38
- Dinas Kelautan dan Perikanan Sulawesi Selatan. 2004. Buku Saku Mangrove. Makasar. Halaman 1 – 107
- Dinda. 2008. Alkaloid. <http://medicafarma.blogspot.com/2008/08/alkaloid.html>. Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Druglead. 2009. *Serpentine (Alkaloid)*. <http://www.druglead.com/cds/serpentine-alkaloid.html>. Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Elela G.M.A., El-Sersy A.N., El-Shenawy M.A., Elnabi H.A and Ibrahim H.A.H. 2009. *Bio-Control of Vibrio fluvialis in Aquaculture by Mangrove (Avicennia marina) Seeds Extracts*. Research Journal of Microbiology 4 (1) : 38-48, 2009
- Fadhilla. R. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia paleacea*) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makanan. Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 1 - 104
- Fessenden, R.J and J.S Fessenden. 1999. *Organis Chemistry*, 3rd Ed. California : Wadsworth. Page 1 – 56
- Firmansyah B. 2010. Prinsip Ekstraksi (*Maceration*). <http://cacingbusuk.blogspot.com/2010/03/prinsip-ekstraksi-maceration.html>. Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Freeman and Gwyn A. B. 2008. *An Overview of Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores*. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0226-01. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/OverviewOfPlantDiseases.aspx>. Diakses Tanggal 21 April 2011
- Gunawan I. W. G., Bawa Gede I.G., Sutrisnayanti N. L., 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). Jurnal Kimia 2 91), januari 2008 : 31-39
- Harborne J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun cara Moderen Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh : Padmawinata, K dan I, Soediro. Penerbit ITB. Bandung. Halaman 1 - 354
- _____. 2006. Metode Fitokimia Penuntun cara Moderen Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh : Padmawinata, K dan I, Soediro. Penerbit ITB. Bandung. Halaman 1 – 354
- Hariyati, M.N. 2006. Ekstraksi Dan karakterisasi Pektin Dari Limbah Proses Pengolahan Jeruk Pontianak. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 39

- Hartono T. 2009. Bahan Alam Fitokimia Saponin. Farmasi. Dikti. Net. <http://farmasi.dikti.net/saponin/>. Diakses tanggal 17 Maret 2011.
- Hawley R., 2003. *Enterotoxigenic Escherichia coli*. <http://vm.cfsan.fda.gov/mov/chap14.html>. Diakses pada tanggal 24 September 2010.
- Hayani E. 2007. Pemisahan Komponen Rimpang Temu Kunci Secara Kromatografi Kolom. Buletin Teknik Pertanian Vol. 12 No.1, 2007, Halaman 35 – 37
- Horvart. 1981. *Tannins : Definition*. 2001. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/definition.html>. animal science webmaster. Cornert Univercity. Diakses pada Tanggal 21 April 2011
- Hoyle, B. 2010. *Escherichia coli*. <http://science.jrank.org>. Diakses pada tanggal 24 September 2010
- Irwan. 2010. Ekstraksi Menggunakan Proses Infudasi, Maserasi dan Pekolasi. <http://irwanfarmasi.blogspot.com/2010/04/ekstraksi-menggunakan-proses-infudasi.html>. Diakses tanggal 1 April 2011
- IUPAC. 2011. Steroid. <http://steroidpedia.com/anastrozole-arimidex>. Diakses Tanggal 10 Juni 2011
- Kanazawa AT, Ikeda T, endo. 1995. *A Novel Approach to Mode of Action of Cationic Biocides Morphological Effect on Antibacterial Activity*. J Appl. Bacterial 55-60
- Kurnia. R. 2010. Antibakteri Tanaman Rempah. <http://lordbroken.wordpress.com/2010/05/24/antibakteri-tanaman-rempah/>. Diakses tanggal 23 Maret 2011
- Kusmiati dan Agustini N.W.S. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong 16911. Biodiversitas. Volume 8, Nomor 1 Halaman: 48-53.
- Lakitan B. 2010. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Lasembiz. 2010. Menggempur Bakteri *E. coli* Dengan Sari Mawar. <http://www.physorg.com/news/2010-10-roses-beautiful.html>. Diakses pada tanggal 20 Mei 2011
- Lattanzio V., Veronica M.T.L., Angela C. 2006. *Role Of Phenolics in The Resistance Mechanisms Of Plants Aights Fungal Pathogens and Insect*. Phytochemistry: Advances in Research, 2006 : 23 – 67 ISBN : 81-308-0034-9
- Latha R., and Sudip Mitra. 1998. *Mangrove Fungi In India*. The Energy and Resources Institute, Darbari Seth Block, Habitat Place, Lodhi Road, New Delhi 110 003, India. Current Science, Vol. 86, No. 12, 13-26

Lu-E Shi, Zhi-Liang Zhang, Liang-Ying Shing, Dan-Dan Yang, Yu-Peng Guo, Xia-Feng Guo, Li-Ming Zhao and Zhen-Xing Tang. 2011. *Antioxidants Extraction By Supercritical CO₂*. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(3). Pp. 300-308

Metacyc. 2011. *Compound : 2-phenylchromen-4-one*. http://biocyc.org/META/NEW_MAGE?type=COMPOUND&object=CPD-8485. Diakses Tanggal 10 Juni 2011

Michalak A. 2007. *Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing Under Heavy Metal Stress*. Polish J. Of Environ. Stud. Vol. 15, No 4 92006), 523-530

Miles H. D., Kokpol U., Chittawong V., Tip-Pyang S., Tunsuwan and nguyen C. 1999. *Mangrove Forest-The Importance of Conservation as a Bioresource for Ecosystem Diversity and Utilization as a Source of Chemical Constituents With Potential Medicinal and Agricultural Value*. URL:<http://www.iupac.org/symposia/proceedings/phuket97/miles.html>. IUPAC. Diakses Tanggal 21 April 2011

Minqing T., Dai H., Li X., Wang B. 2009. *Chemical Constituents Of Marine Medicinal Mangrove Plant Sonneratia caseolaris*. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. Vol 27. No. 2, P. 288-296

Moghadam M S., Maleki S, Darabpour E., Motamedi H., Nejad S.M.S. 2010. *Antibacterial Activity Of Eight Iranian Plant Extracts Against Methicillin And Cefixime Resistant Staphylococcus Aureus Strains*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine (2010)262-265.

Munawaroh S. dan Handayani P.A. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. Jurnal Kompetisi teknik Vol.2, No.1. 73-78.

Mutaqqin M.I. 2010. Metode Deskriptif. <http://blog.uin-malang.ac.id/muttaqqin/2010/11/28/10/>. Diakses Tanggal 21 April 2010

Mustakim H. 2008. Tugas Terstruktur Kimia Bahan Alam Glikosida Antrakinon. Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan. Universitas Jenderal Sudirman. Purwokerto. Halaman 1 - 18

Naiborhu E. P. 2002. Ekstraksi dan Manfaat Ekstrak Mangrove (*Sonneratia alba* dan *Sonneratia caseolaris*) Sebagai Bahan Alami Antibakterial : Pada Patogen Udang Windu, *Vibrio harveyi*. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Halaman 1 – 11

Najib A. 2010. Tanin. www.nadjeeb.wordpress.com. Diakses pada tanggal 20 Mei 2011

Nangude T.D. 2007. Salt Formation Is An Acid – Base Reaction Involving Either A Proton- Transfer Or Neutralization Reaction And Is Therefore Controlled By Factors Influencing Such Reactions. <http://www.lookchem.com/cas-140/1401-55-4.html>. Diakses Tanggal 10 Juni 2011

- Naufalin, R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap Berbagai Mikroba Patogen Dan Perusak Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 97
- Ncube N.S., Afolayan. A.J. and Okoh A.I. 2008. *Assessment Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compound of Plant Origin : Current Methods and Future Trends*. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (12), pp. 1797-1806, 17 june, 2008
- Padli. 2010. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Metanol Benalu The (*Scurulla atropurpurea* (Bl) Dans.) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Serta Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Halaman 11 – 12
- Pambayun R., Gardjito M., Sudarmaji S., Rahayu K., Kuswanto., 2009. *Phenolic Content and Antibacterial Properties of Various Extracts of Gambir (Uncaria gambir Roxb)*. Majalah Farmasi Indonesia, 18 93), 141-146, 2007.
- Patra K.U., Mohapatra A.D., Rath S.K., Dhal N.K., Thatoi H. 2009. *Screening of Antioxidant and Antifilarial Activity of Leaf Extracts of Excoecaria agallocha L.* International Journal of Integrative Biology. ISSN 0973-8363, Vol 7 No. 1 , 1 – 7
- Pract C.J. 2006. *Flavonoid-Rich Grapeseed Extracts: for Cardiovascular Patients: Flavonoids*. Blackwell Publishing; 60(11):1484-1492
- Pratiwi T.R. 2010. Prarancangan Pabrik Dimetil Eter Dari Metanol Kapasitas 31.000 Ton Per Tahun. Juusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Halaman 1 - 10
- Pelczar, M. J dan Chan E.C.S. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2. Alih Bahasa R.S. Hadioetomo, T. Imas. S.S Tjitrosomo dan S.L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. Halaman 809 - 812
- Prihaningtias W., Widyastuti S.M, Wahyuono S. 2010. Aktivitas Antibakteri Fungi Endofit *Thievalia polygonoperda*, Isolat Dari Tumbuhan Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta. Halaman 1 - 7
- Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, diterjemahkan Oleh Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. Halaman 191 – 213
- Rowe, J.W., 1989. *Natural Product of Woody Plant I-II*. Chemicals Extraneous to Lignocellulosic Cell Wall. Springer Series in Wood Science. Springer Verlag. Berlin Heidenberg. 1243 pp.
- Sa'ad M. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Isolat A dan B Fraksi IV Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dengan Metode DPPH. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Halaman 1 – 17

- Saleh C. 2009. Senyawa Steroid Dari Tumbuhan Sldawayah (*Woodfordia Floribunda Salisb.*). Jurnal Kimia Mulawarman Volume 6 Nomor 2, Mei 2009. Halaman 1 – 6
- Sanjoyo R. 2005. Klasifikasi Obat Anti Bakteri. Program D III Rekam Medis dan Informasi Kesehatan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. Halaman 1 – 11
- Santoso N, Kusmana C, Sudarma D, Sukmadi R. 2008. Ekologi tumbuhan pidada (*Sonneratia caseolaris* (L) Engler 1987) pada kawasan muara angke propinsi daerah khusus ibu kota jakarta. *Jurnal KKMN*. 5 September 2008 08:54.
- Sari. D.K. 2008. Penapisan Antibakteri Dan Inhibitor Topoisomerase I Dari *Xylocarpus granatum*. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Halaman 15
- Sastrohamidjojo, H. 2001. Kromatografi. Liberty. Yogyakarta. Halaman 1 – 108
- _____, H. 2007. Sintesis Bahan Alam. Gajah mada University Press. Yogyakarta. Halaman 1 - 243
- Setyawan Ahmad Dwi, Susilowati Ari, Sutarno. 2002. Biodiversitas Genetik, Sesies dan Ekosistem Mangrove di Jawa. Jurusan Biologi FMIPA UNS. Surakarta. Halaman 1 - 137
- Sriningsih., Adji W. H., Sumaryono W., Wibowo A. E., Caidir., Firdayani., Kusumaningrum S., kartakusuma P. 2010. Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). Fakultas Farmasi. Universitas Pancasila. Halaman 1 - 4
- Simes, J.J.H., J.G. Tracey, L.J. Webb, and W.J. Dunstan. 1995. *An Australian Phytochemical Survey*. Commonwealth Scientific and Industrial research Organization. Australia. Page 26-28
- Sjahid L.R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Halaman 1 – 23
- Thoennissen N.H., Gabriela B.I., Ngan B.D., Ryoko O., Patricia L., Abbassi., Jee H.S., Dong Y., Melvin T., Wei D.X., Jhonatan W.S and Phillip K. 2009. *Cucurbitacin Apoptosis by Inhibitor of The JAK/STAT Pathway and Potentiates Antiproliferative Effects of Gemcitabine on Pancreatic Cancer Cells*. Cancer Res 2009;69:(14)
- Ummah M. K. 2010. Ekstraksi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada Daun Blimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi* L.). Skripsi. UIN Malang. Halaman 1 – 8
- Wasitaningrum I.D. 2009. Uji Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dari Isolat Susu sapi Segar Terhadap Beberapa Antibiotik. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Halaman 1 – 30

Watson D.G. 2010. Analisis Farmasi Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi Dan Praktisi Kimia Farmasi Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. Halaman 372 – 375.

Wikipedia. 2009. Metanol. <http://wikipedia.mobi/id/metanol?t=1>. Diakses tanggal 9 Juni 2009.

_____. 2010. *Octyl Glucoside*. http://en.wikipedia.org/wiki/Octyl_glucoside. Diakses tanggal 10 Juni 2011

_____. 2011. Phenol. <http://en.wikipedia.org/wiki/Phenol>. Diakses tanggal 10 Juni 2011

_____. 2011. Saponin. <http://en.wikipedia.org/wiki/Saponin>. Diakses tanggal 10 Juni 2011

Wei Chuan O. 2008. *Preparation and Evaluation of mangrove Tannins-Based Adsorbent For The Removal Of Heavy Metal Ions From Aqueous Solution*. Thesis Submitted in fulfillment of The Requirements For The Degree Of Doctor Of Philosophy. Page 1 – 187

Wiro. 2010. Ekstraksi. <http://wiro-pharmacy.blogspot.com/2009/02/kuliah-ekstraksi.html>. Diakses tanggal 1 April 2011



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Ekstraksi Mangrove *S. caseolaris*

No	Bagian Tanaman	Pelarut			
		Metanol	Klorofom	Etil Asetat	Heksan
1.	Akar				
2.	Batang				
3.	Kulit				
4.	Daun				
5.	Bunga				

.6	Buah				
----	------	---	---	---	---



Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Pengeringan

• Tabel Hasil Perhitungan Rendemen Kering

Bagian	Rendemen 1 (%)	Rendemen 2 (%)	Rendemen 3 (%)
Akar	10	20	9,3
Batang	15,4	15	10
Kulit	18	20	8
Daun	7,3	8	6,2
Bunga	12	12	10
Buah	20	14	26,7

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

➤ Rendemen 1

1. Akar
Rendemen = $\frac{50 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 10 %
2. Batang
Rendemen = $\frac{154 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\%$
= 15,4 %
3. Kulit
Rendemen = $\frac{90 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 18 %
4. Daun
Rendemen = $\frac{58,4 \text{ g}}{800 \text{ g}} \times 100\%$
= 7,3 %
5. Bunga
Rendemen = $\frac{60 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 12 %
6. Buah
Rendemen = $\frac{100 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 20 %

➤ Rendemen 2

1. Akar
Rendemen = $\frac{100 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 20 %
2. Batang
Rendemen = $\frac{150 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\%$
= 15 %
3. Kulit
Rendemen = $\frac{100 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 20 %
4. Daun
Rendemen = $\frac{40 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 8 %
5. Bunga
Rendemen = $\frac{30 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\%$
= 12 %
6. Buah
Rendemen = $\frac{70 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$
= 14 %

➤ **Rendemen 3**

1. Akar

$$\text{Rendemen} = \frac{75 \text{ g}}{800 \text{ g}} \times 100\% \\ = 9,3 \%$$

2. Batang

$$\text{Rendemen} = \frac{100 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\% \\ = 10 \%$$

3. Kulit

$$\text{Rendemen} = \frac{40 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ = 8 \%$$

4. Daun

$$\text{Rendemen} = \frac{50 \text{ g}}{800 \text{ g}} \times 100\% \\ = 6,2 \%$$

5. Bunga

$$\text{Rendemen} = \frac{50 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ = 10 \%$$

6. Buah

$$\text{Rendemen} = \frac{80 \text{ g}}{300 \text{ g}} \times 100\% \\ = 6,7 \%$$

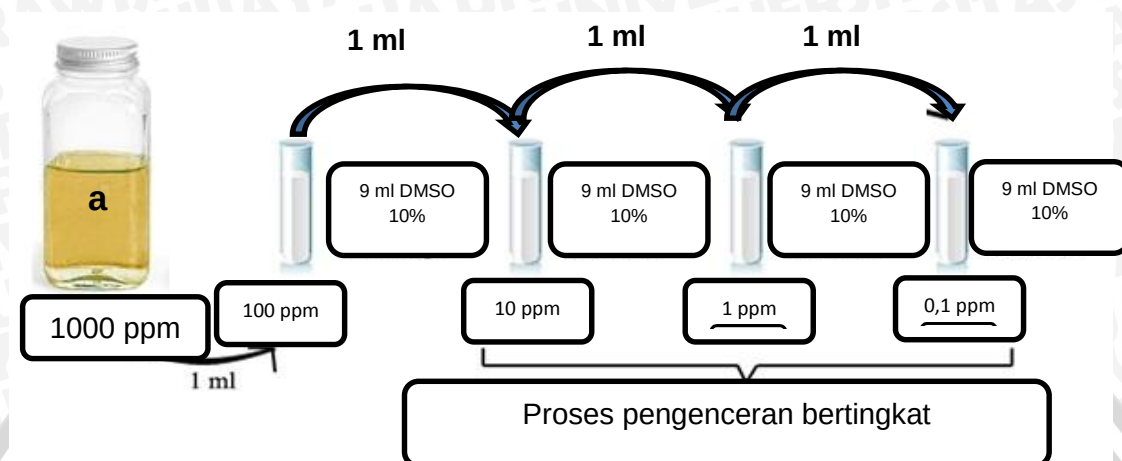


Lampiran 3. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak

No	Bagian	Rendemen 1				Rendemen 2				Rendemen 3			
		Metanol (%)	Klorofom (%)	Etil Asetat (%)	Heksan (%)	Metanol (%)	Klorofom (%)	Etil Asetat (%)	Heksan (%)	Metanol (%)	Klorofom (%)	Etil Asetat (%)	Heksan (%)
1	Akar	7.90	0.20	0.10	0.10	8.5	1.2	0.3	0.1	6.70	0.20	0.10	0.10
2	Batang	5.50	0.04	0.10	0.10	5.1	0.1	0.2	0.1	4.10	0.30	0.20	0.50
3	Kulit	8.10	0.20	0.30	0.10	8.2	1.1	0.3	0.1	1.20	0.04	0.10	0.10
4	Daun	1.40	1.40	1.20	1.90	2.1	1.6	1.5	2.1	1.20	1.50	1.20	1.10
5	Bunga	7.30	0.30	0.3	0.60	7.5	1.1	0.2	0.4	6.10	0.10	0.10	0.50
6	Buah	6.10	0.70	1.30	1.10	2.1	0.1	1.1	0.1	8.10	2.60	3.50	4.10

Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi PPM (Part Per Million)

$$\text{Konsentrasi ppm} = \frac{\mu\text{l}}{\text{ml}}$$



Keterangan :

a = stok 1000 ppm yang telah diencerkan oleh DMSO 10 %

Lampiran 5. Data Penghambatan Ekstrak Bunga *S. caseolaris* dengan Pelarut Metanol dan Etil Asetat

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri				Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri			
		S.a	S.a	E.c	E.c			S.a	S.a	E.c	E.c
Bunga dengan pelarut Metanol	12000	7,1	7,7	7,9	8,2	Bunga dengan pelarut Etil asetat	5000	6,1	7,6	7,6	7,7
	10000	6,1	7,1	7,6	8,1		4166,6	6,1	7,2	7,8	7,3
	9000	7,1	6,1	7,4	7,8		3750	6,7	7,6	7,8	6,1
	7500	7,3	-	6,1	6,5		3125	7,6	8,1	7,9	6,1
	6000	6,1	-	6,1	6,5		2500	7,5	8,1	-	6,4
	3000	6,1	7,1	8,7	7,4		1250	-	6,1	7,1	7,5
	1500	-	6,1	7,8	6,4		625	7,2	6,1	6,6	7,6
	1200	7,1	-	6,1	6,1		500	7,5	6,1	7,7	6,9
	750	6,2	7,9	6,1	7,2		312,5	6,1	7,9	7,1	7,5
	120	6,2	6,1	7,7	7,1		50	7,8	6,5	7,6	7,2
	12	-	6,1	7,1	6,1		5	8,1	6,6	7,1	7,1
	1,2	-	-	6,1	-		0,5	6,1	7,2	7,5	6,4

DMSO 10%

Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c	Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c
Metanol	1,2 – 1500	7,1	6,1	Etil Asetat	0,5 – 625	7,1	6,3
		6,1	6,1			7,1	6,3
	3000 – 12000	6,1	6,1		1250- 5000	7,1	7,7
		7,1	6,1			6,2	6,2

Lampiran 6. Data Penghambatan Ekstrak Bunga *S. caseolaris* Menggunakan Pelarut Metanol dengan Fraksi Polar dan Non Polar

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri				Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri			
		S.a	S.a	E.c	E.c			S.a	S.a	E.c	E.c
Bunga dengan pelarut metanol fraksi Polar	12000	25,5	28,3	15,2	25,3	Bunga dengan plarut metanol fraksi Non polar	5000	7,2	7,9	7,2	8,5
	10000	9,8	7,1	7,5	8,3		4166,6	7,4	7,2	6,9	7,1
	9000	12,4	6,3	8,3	8,7		3750	8,9	6,3	11,7	12,7
	7500	17,7	9,5	9,1	9,6		3125	12,7	12,4	17,9	13,9
	6000	15,1	12,7	11,7	7,1		2500	8,5	7,1	7,9	6,3
	3000	17,9	20,5	16,3	8,1		1250	-	7,6	7,1	-
	1500	7,8	11,8	7,3	7,4		625	8,8	7,4	8,7	6,6
	1200	7,2	6,8	8,5	7,1		500	7,2	7,1	7,5	7,3
	750	10,3	8,3	7,5	7,8		312,5	11,8	7,4	7,9	7,1
	120	-	-	7,2	7,3		50	13,3	9,8	7,6	9,1
	12	6,5	-	7,9	7,9		5	15,3	9,6	7,7	10,3
	1,2	-	-	-	-		0,5	16,8	10,7	7,6	6,7

DMSO 10%

Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c	Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c
POLAR	1,2 – 1500	6,1	8,1	NON POLAR	0,5 – 625	6,1	6,1
		6,1	7,7			6,1	6,1
	3000 – 12000	6,1	7,2		1250- 5000	6,1	6,1
		7,6	6,1			7,6	6,1

Lampiran 7. Data Penghambatan Ekstrak Bunga *S. caseolaris* Menggunakan Pelarut Etil Asetat dengan Fraksi Polar dan Non Polar

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri				Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri			
		S.a	S.a	E.c	E.c			S.a	S.a	E.c	E.c
Bunga dengan pelarut Etil Asetat fraksi Polar	2000	6,2	6,1	8,3	8,9	Bunga dengan pelarut Etil Asetat Fraksi Non Polar	13000	8,7	12,9	12,8	8,1
	1666,6	6,1	6,1	7,5	6,1		10833,3	7,5	12,7	7,1	7,1
	1500	6,1	6,1	7,5	7,6		9750	10,9	8,1	6,1	8,1
	1250	7,6	7,6	7,9	7,6		8125	8,6	10,9	7,7	7,5
	1000	6,1	6,1	6,1	7,1		6500	8,5	6,1	7,2	6,3
	500	7,8	6,2	6,7	6,1		3250	9,7	7,1	9,8	7,2
	250	7,9	6,1	6,1	7,8		1625	7,2	7,1	7,3	7,9
	200	7,2	6,1	7,2	9,6		1300	6,1	6,1	7,2	6,1
	125	6,1	7,2	7,1	7,2		812,5	6,1	8,5	6,1	7,6
	20	7,2	7,6	7,2	7,6		130	6,1	6,1	6,1	7,3
	2	6,4	7,2	7,9	7,7		13	6,1	6,1	7,6	7,2
	0,2	-	6,1	7,7	9,2		1,3	6,1	6,1	7,1	7,2

DMSO 10%

Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c	Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c
POLAR	0,2 – 250	6,1	6,1	NON POLAR	1,3 – 1625	6,1	7,1
		7,2	6,1			7,2	7,2
	500 – 2000	6,1	8,7		3250 - 13000	6,1	7,1
		6,1	6,1			6,1	7,1

Lampiran 8. Data Penghambatan Ekstrak Bunga *S. caseolaris* Menggunakan Pelarut Metanol Fraksi Polar Dari Hasil Kromatografi Kolom

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri				Sampel	Konsentrasi (ppm)	Bakteri			
		S.a	S.a	E.c	E.c			S.a	S.a	E.c	E.c
SUB FRAKSI 1 Metanol : Kloroform (6 :4)	3000	7,4	8,4	7,2	8,2	SUB FRAKSI 2 Metanol : Aquadest (5 :5)	3000	8,7	8,1	8,9	8,7
	2500	7,3	8,1	7,1	7,5		2500	7,8	7,2	8,1	7,2
	2250	7,2	7,7	8,1	8,1		2250	7,6	7,2	7,1	7,1
	1875	7,1	-	8,7	6,2		1875	7,7	7,5	8,3	7,1
	1500	8,1	7,5	7,6	7,6		1500	7,2	7,1	8,7	8,1
	750	8,3	7,8	8,1	7,4		750	8,7	7,5	8,2	7,1
	375	8,2	8,1	8,1	7,1		375	7,4	6,8	8,1	7,1
	300	7,2	8,1	8,1	7,1		300	7,5	6,1	7,6	8,3
	187,5	7,2	7,2	8,1	8,1		187,5	7,4	7,1	8,9	7,1
	30	7,7	7,1	7,1	7,2		30	7,2	7,1	6,8	7,5
	3	8,4	-	8,2	7,2		3	6,1	7,1	9,1	7,1
	0,3	7,2	8,1	8,1	7,2		0,3	7,1	7,1	7,1	7,1

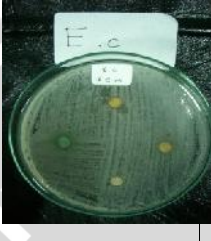
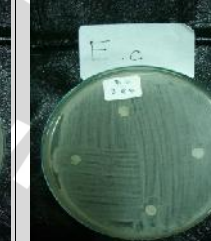
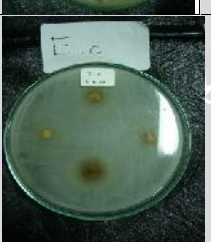
DMSO 10%

Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c	Pelarut	Konsentrasi	S.a	E.c
POLAR	0,3 – 375	7,1	7,1	NON POLAR	0,3 – 375	6,1	7,1
		7,1	7,1			6,1	6,1
	750 - 3000	7,2	6,1		750 - 3000	8,1	7,1
		7,2	6,1			7,1	7,1

Lampiran 9. Zona Penghambatan Bakteri *S. aureus* Ekstrak *S. caseolaris* Dengan Pelarut Metanol, Kloroform, Etil Asetat dan Heksan

No	Bagian	Zona Penghambatan			
		Metanol	Kloroform	Etil asetat	Heksan
1.	Akar				
2.	Batang				
3.	Kulit				
4.	Daun				
5.	Bunga				
6.	Buah				

Lampiran 10. Zona Penghambatan Bakteri *E. coli* Ekstrak *S. caseolaris* dengan pelarut Metanol, Kloroform, Etil Asetat dan Heksan

No	Bagian	Zona Penghambatan			
		Metanol	Kloroform	Etil asetat	Heksan
1.	Akar				
2.	Batang				
3.	Kulit				
4.	Daun				
5.	Bunga				
6.	Buah				

Lampiran 11. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Baurer

