

repository.ub.ac.id

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli EKSTRAK DARI DAUN MANGROVE
*Rhizophora mucronata***

**SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
ANI SAPTIANI
NIM. 0610830011



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**



repository.ub.ac.id

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli EKSTRAK DARI DAUN MANGROVE
*Rhizophora mucronata***

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

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana

Oleh:

**ANI SAPTIANI
NIM. 0610830011**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli EKSTRAK DARI DAUN MANGROVE
*Rhizophora mucronata***

**SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh:
ANI SAPTIANI
NIM. 0610830011

dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 14 Januari 2011 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Hardoko, MS
NIP. 19620108 198802 1 001
Tanggal: _____

Dosen Penguji II

Ir. Bambang Budi Sasmito, MS
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal: _____

Dosen Pembimbing I

Prof.Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS
NIP. 19591005 198503 1 004
Tanggal: _____

Dosen Pembimbing II

Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP
NIP. 19581231 198601 2 002
Tanggal: _____

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal: _____



RINGKASAN

ANI SAPTIANI. Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak dari daun mangrove *Rhizophora mucronata* (Dibawah bimbingan **Prof.Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS** dan **Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP**)

Mangrove adalah salah satu tumbuhan yang mempunyai banyak sekali manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia, mulai dari manfaat ekologi sampai dengan sebagai sumber pangan dan obat. Mangrove kaya akan senyawa steroid, saponin, flavonoid dan tanin. Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Salah satu jenis mangrove yang telah diteliti sebelumnya oleh Sutjihati, *et al.*, 1995 yaitu *Rhizophora mucronata* diidentifikasi memiliki senyawa flavonoid serta tanin. Di masa depan, senyawa bioaktif *R.mucronata* diharapkan dapat menjadi bakterisida baku di bidang perikanan dan dapat diterapkan penggunaannya bidang kesehatan. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai potensi bioaktif antibakteri yang ada pada *R.mucronata*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada, Yogyakarta Pada bulan April 2010- Agustus 2010.

Tahap pertama penelitian ini digunakan metode eksperimen. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak *R.mucronata* terhadap *S.aureus* dan *E.coli* dan untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada *R.mucronata*. Rancangan penelitian dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Metode analisa data menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA). Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat dari hasil uji cakram. Tahap kedua penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Tujuan penelitian tahap dua adalah untuk mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam *R.mucronata* dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS).

Dari hasil penelitian, ekstrak *R.mucronata* dengan konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambatan paling tinggi terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dari pada menggunakan konsentrasi lain. Rata-rata diameter zona hambat *S.aureus* 15,99 mm dan *E.coli* 11,49 mm. Hasil analisis GC-MS, diidentifikasi 23 senyawa sekunder yang terdapat pada ekstrak daun *R.mucronata*, yang paling dominan menghambat bakteri yaitu propenoic acid yang memiliki rumus $C_7H_{12}O_2$ dengan berat molekul 128 dan similar indeks 76 yang memiliki luas area 0,69%, hydroquinone yang memiliki rumus $C_7H_8O_3$ dengan berat molekul 140 dan similar indeks 90 yang memiliki luas area 0,2%, dan myristic acid yang memiliki rumus $C_{14}H_{28}O_2$ dengan berat molekul 228 dan similar index 82 yang memiliki luas area sebesar 7,63%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah swt atas segala rahmat serta hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “uji aktivitas antibakteri *S.aureus* dan *E.coli* ekstrak dari daun mangrove *R.mucronata*”, untuk memperoleh gelar sarjana stara 1 pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Skripsi ini diarahkan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *Rhizophora mucronata* sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Pokok bahasan dalam penelitian ini meliputi: pengaruh konsentrasi yang berbeda terhadap diameter zona penghambatan, konsentrasi terbaik terhadap diameter zona penghambatan serta analisis senyawa bioaktif antibakteri dari daun mangrove *Rhizophora mucronata* dengan metode GCMS.

Segala kekurangan dan dan kealpaan dalam penyusunan skripsi ini adalah semata-mata karena kekhilafan penulis dan kelebihan yang ada hanya dari-Nya. Terima kasih untuk semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini dengan baik, antara lain:

1. Prof.Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS selaku dosen pembimbing pertama atas bimbingan dan kesempatan yang diberikan.
2. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP selaku dosen pembimbing kedua atas arahan yang diberikan.
3. Dr. Ir. Hardoko, MS sebagai dosen penguji pertama atas saran dan masukan yang diberikan.
4. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS sebagai dosen penguji kedua atas saran dan masukan yang diberikan.

5. Sahabat seperjuangan di program studi Teknologi Hasil Perikanan, khususnya angkatan 2006 serta Mbak Yunita Eka Puspitasari, S.Pi, MP yang telah memberikan banyak kontribusi serta masukan dalam penyusunan laporan ini.
6. Semua pihak yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian laporan ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Keterbatasan pengetahuan dan kemampuan dari penulis, menjadikan ketidaksempurnaan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun guna perbaikan dalam skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pribadi maupun bagi pembaca.

Malang, Januari 2011



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Kegunaan Penelitian	6
1.6 Tempat dan Waktu	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Mangrove	7
2.2 Senyawa Aktif Antibakteri dari Mangrove	9
2.2.1 Flavonoid	9
2.2.2 Tanin	11
2.2.3 Saponin	12
2.3 <i>Rhizophora mucronata</i>	12
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.5 <i>Escherichia coli</i>	17
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	18
2.6.1 Uji Cakram.....	19
2.6.2 Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	20
2.7 Mekanisme Kerja Antibakteri	21
2.8 Uji Senyawa Antibakteri.....	23
2.8.1 Prinsip Kromatografi Gas.....	25



2.8.2 Prinsip Spektometri Massa	29
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	31
3.1 Materi Penelitian	31
3.1.1 Bahan Penelitian	31
3.1.2 Alat Penelitian	31
3.2 Metode Penelitian	32
3.2.1 Metode Eksperimen	32
3.2.2 Metode Deskriptif	32
3.3 Variabel Penelitian	33
3.4 Rancangan Penelitian	33
3.5 Prosedur Penelitian	35
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	35
3.5.2 Ekstraksi <i>Rhizophora mucronata</i>	36
3.5.3 Uji Fitokimia (Uji Kualitatif)	37
3.5.3.1 Uji Saponin	37
3.5.3.2 Uji Flavonoid	37
3.5.3.3 Uji Tanin	37
3.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri	37
3.5.4.1 Pengkayaan Bakteri	37
3.5.4.2 Pengujian Antibakteri	38
3.5.5 Analisis Senyawa Bioaktif Metode (GCMS)	40
3.5.6 Pembuatan Media	40
3.5.6.1 Media NA (Nutrient Agar)	40
3.5.6.2 Media NB (Nutrient Broth)	41
3.6 Skema Kerja Penelitian	42
3.7 Parameter Uji	43
3.8 Analisis Data	43
4. PEMBAHASAN	45
4.1 Hasil Pengamatan	45
4.2 Pembahasan	47
4.2.1 Ekstrasi Daun Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i>	47
4.2.2 Aktivitas Antibakteri	48
4.2.2.1 Aktivitas Antibakteri Metode Cakram	48
4.2.2.1.1 Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>S.aureus</i>	49



4.2.2.1.2	Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>E.coli</i>	51
4.2.2.2	Aktivitas Antibakteri Metode MIC.....	53
4.2.2.2.1	Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>S.aureus</i>	53
4.2.2.2.2	Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>E.coli</i>	53
4.2.2.3	Perbandingan Penghambatan Ekstrak Daun <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Ampisillin.....	57
4.2.3	Analisis Fitokimia Ekstrak Daun <i>Rhizophora mucronata</i>	57
4.2.4	Analisis Kandungan Aktif Metode GCMS.....	59
5.	PENUTUP	65
5.1	Kesimpulan.....	65
5.2	Saran.....	65
	DAFTAR PUSTAKA	67
	LAMPIRAN	72



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Senyawa Flavonoid atau 1,3-diarilpropana	9
2. <i>Rhizophora mucronata</i>	13
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
4. <i>Escherichia coli</i>	17
5. Kromatografi Gas	26
6. Denah Percobaan	34
7. Proses Ekstraksi Daun <i>R.mucronata</i>	42
8. Proses Uji Fotokimia, Uji Cakram, Uji MIC dan Uji GC-MS	42
9. Hasil Analisis Uji GCMS	47
10. Zona Hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	49
11. Zona Hambat bakteri <i>E.coli</i> (mm)	51
12. Daya hambat ekstrak daun <i>Rhizophora mucronata</i> pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	54
13. Daya hambat ekstrak daun <i>Rhizophora mucronata</i> pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	55
14. Daya Hambat Perbandingan Ampisillin dan Ekstrak <i>R.mucronata</i>	57
15. Luas Area Puncak uji GC-MS	61
16. Rumus Struktur Propenoic Acid	63
17. Rumus Struktur 1,4 Benzenediol	63
18. Rumus Struktur Fenol	63
19. Rumus Struktur Myristic Acid	63

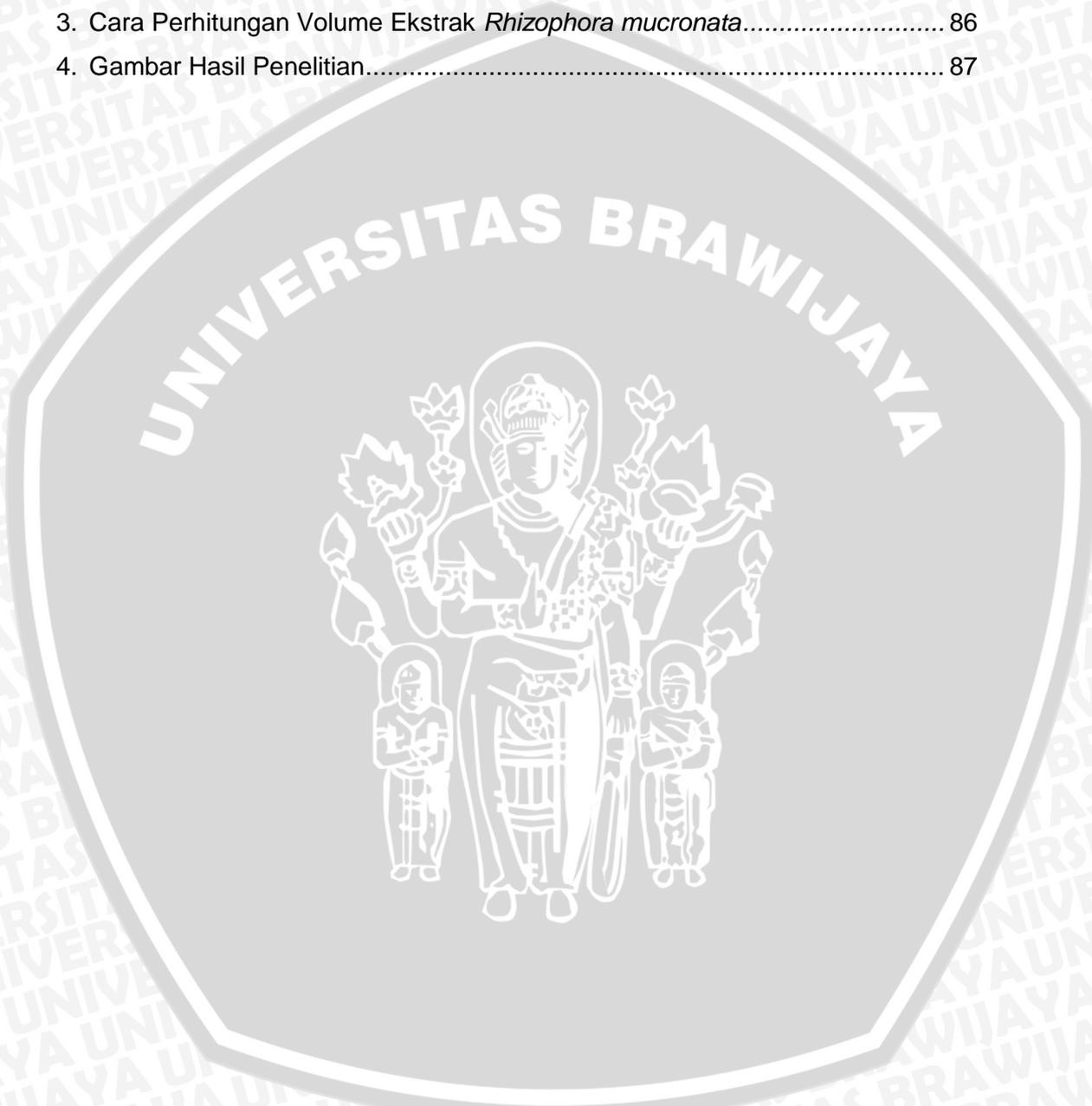
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun <i>R. mucronata</i>	45
2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	45
3. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	46
4. Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>) Ekstrak Daun Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	46
5. Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>) Ekstrak Daun Mangrove <i>Rhizophora mucronata</i> Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	46
6. Uji BNT 5% Uji Cakram terhadap <i>Stphlylococcus aureus</i>	49
7. Uji BNT 5% Uji Cakram terhadap <i>Escherichia coli</i>	51
8. Beberapa ciri bakteri Gram positif dan Gram negatif.....	56
9. Preparasi ekstrak <i>R.mucronata</i> pada uji GCMS.....	60
10. Kandungan Bioaktif dalam daun <i>Rhizophora mucronata</i>	60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pengujian Bioaktif dengan Metode GC-MS	72
2. Analisis Data dengan SPSS 11.5	77
3. Cara Perhitungan Volume Ekstrak <i>Rhizophora mucronata</i>	86
4. Gambar Hasil Penelitian.....	87



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan makanan, selain merupakan sumber gizi bagi manusia, juga merupakan sumber makanan bagi mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan dapat menyebabkan perubahan yang menguntungkan seperti perbaikan bahan pangan secara gizi, daya cerna ataupun daya simpannya. Selain itu pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan juga dapat mengakibatkan perubahan fisik atau kimia yang tidak diinginkan, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak dikonsumsi. Kejadian ini biasanya terjadi pada pembusukan bahan pangan (Siagian, 2002).

Ada beberapa jenis mikroba dalam bahan pangan antara lain mikroba pembusuk dan mikroba patogen. Mikroba pembusuk adalah mikroba yang dapat menguraikan bahan sehingga menjadi busuk, misalnya busuknya bahan pangan sedangkan mikroba patogen adalah mikroba yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia seperti tbc, tifus, disentri, kolera dan sebagainya. Bakteri-bakteri tertentu dapat juga menghasilkan racun yang jika termakan akan menimbulkan bahaya kesehatan bagi manusia (Anonymous, 2009^a).

Jenis bakteri pembusuk pada makanan yang juga sebagai bakteri patogen pada manusia yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *S.aureus* adalah patogen utama pada manusia, *S.aureus* bersifat koagulasi positif akan menggumpalkan plasma sehingga bersifat patogen, yang membedakannya dari spesies lain. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi *S.aureus* selama hidupnya, dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan (Jawetz *et al.*, 2001).

E.coli terdapat secara normal dalam alat-alat pencernaan manusia dan hewan. Beberapa lainnya juga sebagai penyebab diare pada orang dewasa. Organisme ini masuk ke makanan yang telah dimasak melalui tangan, permukaan alat-alat, tempat-tempat masakan dan peralatan lain. Masa inkubasi adalah 1-3 hari dengan gejala menyerupai gejala keracunan bahan pangan yang tercemar oleh *Salmonella* atau disentri (Buckle, *et al.*, 2007). Oleh karena itu perlu adanya suatu alternatif pembasmian bakteri yang dapat meminimalisir adanya keracunan pada makanan yang disebabkan oleh bakteri, salah satu alternatif yaitu dengan penggunaan antibakteri yang dapat menghambat serta membasmi bakteri tersebut.

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia (Jawetz *et al.*, 2001). Kadar minimal yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Setyawan, 2009). Ditambahkan oleh Pelczar dan Chan (2005), Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germisid, bakterisid, bakteriostatik, antiseptik, desinfektan.

Ekastrak dan bahan mentah dari mangrove telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk keperluan obat-obatan alamiah. Sejumlah tumbuhan mangrove digunakan pula sebagai bahan tradisional insektisida dan pestisida Purnobasuki (2004).

Kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan ternyata tidak mampu begitu saja menghilangkan arti pengobatan tradisional. Apalagi keadaan perekonomian Indonesia saat ini yang mengakibatkan harga obat-obatan modern menjadi mahal. Oleh karena itu salah satu pengobatan alternatif yang dilakukan adalah

meningkatkan penggunaan tumbuhan berkhasiat obat dikalangan masyarakat. Agar peranan obat tradisional dalam pelayanan kesehatan masyarakat dapat ditingkatkan, perlu dilakukan upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan obat (Yuharmen, *et al.*, 2002). Menurut Purnobasuki (2004), Beberapa tumbuhan obat yang digunakan sebagai obat tradisional yaitu Lengkuas, herba meniran, daun teh, daun beluntas, bawang putih dan mangrove.

Mangrove adalah salah satu tumbuhan yang mempunyai banyak sekali manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia, mulai dari manfaat ekologi sampai dengan sebagai sumber pangan dan obat. Mangrove kaya akan senyawa steroid, saponin, flavonoid dan tanin. (Purnobasuki, 2004).

Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Anonymous, 2008^a).

Fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan yang umumnya ditemukan di dalam vakuola sel. Salah satu golongan terbesar fenol adalah flavonoid dan tanin. Dalam dunia kedokteran, senyawa fenol telah lama dikenal sebagai zat antiseptik. Penggunaannya dipercaya dapat membunuh sejumlah bakteri (bakterisidal) (Yuningsih, 2007).

Setelah dilakukan penelitian senyawa fenolik pada daun tumbuhan mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk., Rhizophoraceae) dengan ekstraksi cair terhadap etanol dapat dipisahkan beberapa senyawa flavonoid, asam fenolat dan tanin. Dapat diidentifikasi tiga asam fenolat yaitu asam kafeat, asam vanilat, dan asam p-hidroksibenzoat (Sutjihah, *et al.*, 1995).

Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi,

mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Penelitian mutakhir telah mengungkap bahwa flavonoid tidak saja berguna untuk pencegahan, tetapi juga untuk pengobatan kanker. Sebagai anti virus, fungsi flavonoid telah banyak dipublikasikan, termasuk untuk melemahkan virus HIV /AIDS dan virus herpes. Selain itu, beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa flavonoid dilaporkan berperan dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit lain, seperti asma, katarak, diabetes, rematik, migren, wasir, dan perionditis (radang, jaringan ikat penyangga akar gigi) (Miha, 2010).

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki struktur dasar flavan atau flavon. Salah satu turunan flavonoid yaitu katekin, yang ditemukan pada apel, anggur, pear dan teh, sifat antimikroba flavonoid disebabkan karena kemampuannya membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta protein ekstraseluler (Budi, 2008).

Menurut Arsyi (2008), uji Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun arbenan mengandung senyawa tannin, flavonoid dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* pada KBM (Konsentrasi Bunuh Maksimum) 0,625% dan terhadap *E.coli* pada KBM 2,50%. Daun mangrove jenis *R.mucronata* memiliki senyawa aktif yang sama seperti daun arbenan yaitu tannin, flavonoid serta saponin. Berdasarkan hal tersebut maka tumbuhan *R.mucronata* mempunyai aktivitas antibakteri. Oleh karena itu penelitian ini dimaksudkan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *R.mucronata* terhadap bakteri *S.aureus* yang mewakili bakteri Gram positif dan *E.coli* yang mewakili bakteri Gram negatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak daun mangrove *R.mucronata* dengan konsentrasi yang berbeda memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*?
2. Berapakah konsentrasi terbaik dari ekstrak daun *R.mucronata* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*?
3. Senyawa apa yang terkandung dalam ekstrak daun mangrove *R.mucronata* yang memiliki aktivitas antibakteri?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.
2. Mengetahui konsentrasi terbaik dari ekstrak daun *R.mucronata* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.
3. Mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *R.mucronata* yang memiliki aktivitas antibakteri.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

1. Diduga penggunaan ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap diameter zona hambatan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

2. Diduga konsentrasi 100% merupakan konsentrasi terbaik dari ekstrak daun *R.mucronata* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*
3. Diduga ekstrak daun *R.mucronata* mengandung senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, dan institusi lain mengenai manfaat bioaktif yang ada pada *R.mucronata* .
2. Masyarakat dapat memanfaatkan *R.mucronata* sebagai alternatif antibakteri alami yang sangat potensial.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada, Yogyakarta Pada bulan Mei-Agustus 2010.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mangrove

Tumbuhan mangrove di Indonesia merupakan yang terbanyak di dunia, baik dari segi kuantitas area ($\pm 42.550 \text{ km}^2$) maupun jumlah species (± 45 species). Mangrove mempunyai banyak sekali manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia di daratan, mulai dari manfaat ekologi sampai dengan sebagai sumber pangan dan obat (Purnobasuki, 2004).

Senyawa metabolit yang ditemukan dari tumbuhan mangrove dan tumbuhan asosiasinya adalah gugus substansi dari getah dan perekat sampai senyawa alkaloid dan saponin dan beberapa senyawa lainnya yang terkait dengan industri obat-obatan, seperti halnya derivat benzoquinone, naphthoquinone, naphthofurans, flavonoid, polyfenol, rotenone, flavoglican, sesquiterpene, di- dan triterpene, limonoid, minyak esensial, sterols, karbohidrat, o-metil inositol, gula, iridoid glikosida, alkaloid dan asam amino bebas, feromon, gibberellin, forbol ester, keterosiklik oksigen, senyawa sulfur, lemak dan hidrokarbon, alcohol alipatik rantai panjang dan lemak jenuh, asam lemak bebas termasuk PUFA (asam lemak tak jenuh ganda) . Selain itu mangrove kaya akan senyawa steroid, saponin, flavonoid dan tannin (Purnobasuki, 2004).

Mangrove adalah tanaman pepohonan atau komunitas tanaman yang hidup di antara laut dan daratan yang dipengaruhi oleh pasang surut. Habitat mangrove seringkali ditemukan di tempat pertemuan antara muara sungai dan air laut yang kemudian menjadi pelindung daratan dari gelombang laut yang besar, Pohon mangrove dikelilingi oleh air garam atau air payau. Hutan mangrove tumbuh subur dan luas di daerah delta dan aliran sungai yang besar dengan muara yang lebar (Anonymous, 2009^b).

Manfaat yang lain dari tumbuhan mangrove adalah sebagai sumber bahan obat-obatan. Beberapa jenis mangrove mengandung bahan aktif yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Namun demikian, tanaman obat tradisional tersebut belum mendapat dukungan penelitian dan percobaan secara ilmiah. Padahal, apabila dengan dukungan penelitian tersebut, pengumpulan beberapa jenis pohon mangrove yang memiliki nilai pengobatan akan memberikan suatu sumber pendapatan tambahan yang bermanfaat bagi penduduk di sekitar hutan mangrove (Ichwan, 2008).

Kandungan bioaktif tumbuhan mangrove banyak digunakan sebagai bahan obat, yang mencakup anti-helmintik, anti mikrobia, anti virus, anti jamur; kanker, tumor, diare, pendarahan, analgesik, inflamasi, disinfektan, serta anti oksidan dan astringen. Di samping itu digunakan pula sebagai racun yang mencakup moluskisida, insektisida, racun ikan, dan spermisida (Dwi dan Wonarno, 2006).

Eksplorasi kandungan kimia tumbuhan mangrove sangat diperlukan untuk menemukan agen-agen terapi baru dan informasi ini sangatlah penting bagi masyarakat. Ada dua alasan penting perlunya studi kandungan kimia tumbuhan mangrove. Pertama, mangrove merupakan salah satu hutan tropis yang mudah berkembang dan belum banyak dimanfaatkan. Kedua, aspek kimia tumbuhan mangrove sangat penting karena potensinya untuk mengembangkan agrokimia dan senyawa bernilai medis (Purnobasuki, 2004).

Mangrove mempunyai potensial besar untuk obat beberapa macam penyakit seperti sakit gigi, radang tenggorokan, sembelit, infeksi saluran pencernaan, pendarahan, demam, batu ginjal, encok, disentri, dan malaria. Selain itu mangrove mengandung zat beracun yang dimanfaatkan sebagai antijamur, antibakteri dan pestisida. (Anonymous, 2009^o).

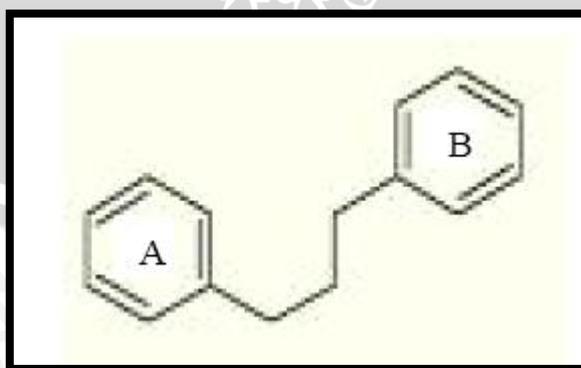
2.2 Senyawa Aktif Antibakteri dari Mangrove

Mangrove kaya akan senyawa steroid, saponin, flavonoid dan tannin (Purnobasuki, 2004). Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Anonymous, 2008^a).

Telah diperiksa senyawa fenolik daun suatu tumbuhan mangrove (*R. mucronata* Lamk., Rhizophoraceae). Setelah dilakukan ekstraksi cair terhadap ekstrak etanol, beberapa senyawa flavonoid, asam fenolat dan tanin dapat dipisahkan. Telah diidentifikasi tiga asam fenolat yaitu asam kafeat, asam vanilat, dan asam p-hidroksibenzoat (Sutjihati, *et al.*, 1995).

2.2.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan stuktur senyawa flavonoid ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Senyawa Flavonoid atau 1,3-diarilpropana (Lenny, 2006)

Istilah flavonoid diberikan untuk senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlah dalam tumbuhan, berikut adalah beberapa senyawa flavonoid (Lenny, 2006).

Cincin A – COCH ₂ CH ₂ – Cincin B	—————	Hidrokalon
Cincin A – COCH ₂ CHOH – Cincin B	—————	Flavanon, kalkan
Cincin A – COCH ₂ CO – Cincin B	—————	Flavon
Cincin A – CH ₂ COCO – Cincin B	—————	Antosianin
Cincin A – COCOCH ₂ – Cincin B	—————	Hidrokalon

Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Penelitian-penelitian mutakhir telah mengungkap bahwa flavonoid tidak saja berguna untuk pencegahan, tetapi juga untuk pengobatan kanker. Dan sebagai anti virus, fungsi flavonoid telah banyak dipublikasikan, termasuk untuk melemahkan virus HIV /AIDS dan virus herpes. Selain itu, beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa flavonoid dilaporkan berperan dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit lain, seperti asma, katarak, diabetes, rematik, migren, wasir, dan periodontitis (radang, jaringan ikat penyangga akar gigi) (Miha, 2010).

Satu turunan flavonoid yaitu katekin, yang ditemukan pada apel, anggur, pear dan teh, sifat antimikroba flavonoid disebabkan karena kemampuannya membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta protein ekstraseluler (Budi, 2008).

Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya. Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan, menghambat protein kinase dan DNA polimerase. Flavonoid merupakan

senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi baik secara enzim maupun non enzim (Auris, 2008).

Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Anonymous, 2008^a). Ditambahkan oleh Juliantina, *et al.*, (2009), Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri, flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein.

3.2.2 Tanin

Tanin merupakan salah satu dari senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman dan salah satu dari jenis kandungan polifenol (Yuningsih, 2007).

Polifenol alami merupakan metabolit sekunder tanaman tertentu, termasuk dalam atau menyusun golongan tanin, merupakan senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*) (Pambayun, *et al.*, 2007).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut : toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya

permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Juliantina, *et al.*, 2009).

3.2.3 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol telah terdeteksi lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa, menghemolisis sel darah (Fathiyawati, 2008).

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan spesies tanaman yang berbeda, terutama tanaman dikotil dan berperan sebagai bagian dari sistem pertahanan tanaman dan termasuk kedalam kelompok besar molekul pelindung tanaman yang disebut phytoanticipins atau phytoprotectans. Saponin diketahui mempunyai efek sebagai antimikroba, menghambat jamur dan melindungi tanaman dari serangan serangga. Saponin dapat menghambat kerja enzim proteolitik yang menyebabkan penurunan pencernaan dan penggunaan protein (Suparjo, 2008).

2.3 *R.mucronata*

R.mucronata merupakan salah satu jenis mangrove dari famili Rhizophoraceae yang tergolong ke dalam genus rhizophora. Nama lain dari *Rhizophora mucronata* adalah bakau betul atau bakau hitam. Pada umumnya tumbuh dalam kelompok, dekat atau pada pematang sungai pasang surut dan di muara sungai, jarang sekali tumbuh pada daerah yang jauh dari air pasang surut

klasifikasi ilmiahnya adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Rosidae
Ordo : Myrtales
Famili : Rhizophoraaceae
Genus : Rhizophoraa
Spesies : *R.mucronata* Lamk. (Anonymous, 2009^d).

Tumbuhan *R.mucronata* ini memiliki ciri-ciri yang menyolok berupa akar tunjang yang besar dan berkayu, pucuk yang tertutup daun penumpu yang meruncing, serta buah yang berkecambah serta berakar ketika masih di pohon (*vivipar*) (Anonymous, 2009^e).

Untuk lebih jelasnya *R.mucronata* dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. *R.mucronata*
(Sumber: <http://oryzss.files.wordpress.com>)

Menurut Agoramoorthy *et al.*, (2008), di dalam daun *R.mucronata* mengandung polifenol sebesar 157,4. Ditambahkan oleh Puspita (2010) Salah

satu dari senyawa polifenol yang terkandung dalam *R.mucronata* adalah flavonoid.

Flavonoid telah dikenalkan sebagai anti karsinogenik, anti alergi, menghambat pertumbuhan tumor, antimikrobia, dan sering digunakan untuk pengobatan tradisional. Untuk mendapatkan senyawa flavonoid dilakukan proses ekstraksi, pada pemisahan yang diinginkan dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat yaitu larutnya antara bagian-bagian campuran dari suatu campuran zat pada bahan pelarut. Banyak senyawa dari golongan flavonoid mudah larut dalam air, terutama glikosidanya, dan oleh karena itu senyawa tersebut ditemukan dalam ekstrak air tumbuhan. Bahkan senyawa yang banyak larut dalam air, kepolarannya memadai untuk diekstraksi oleh metanol, etanol atau aseton, dan beberapa macam pelarut ini sering digunakan untuk ekstraksi flavonoid. (Melati, *et al.*, 2007).

2.4 *S.aureus*

Sistem klasifikasinya sebagai berikut: (Rachdie, 2005).

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>S.aureus</i>

Untuk lebih jelasnya *S.aureus* dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. *S.aureus*
(Sumber: Belqis, 2008)

S.aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologi dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik, tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C , paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4 koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat, halus menonjol dan berkilau-kilau membentuk pigmen (Jawetz *et al.*,2001).

S.aureus merupakan bakteri Gram Positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus* (Belqis, 2008). Ditambahkan oleh Dinda (2008), *S.aureus* Merupakan salah satu bakteri yang cukup kebal diantara mikroorganisme yang tidak berspora tahan panas pada suhu 60°C selama 30 menit, tahan terhadap fenol selama 15 menit.

S.aureus adalah bakteri aerob dan anaerob fakultatif yang mampu memfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hyalurodinase, fosfatase, protease dan lipase. *S.aureus* mengandung lysostaphin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *S.aureus*

adalah haemolysin alfa, beta, gamma, delta dan epsilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Enterotoksin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksfoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar (Belqis, 2008).

S.aureus berbentuk sferis, bila menggerombol dalam susunannya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8- 1,0 mikron. Susunan gerombolan tidak teratur ditemukan pada sediaan yang dibuat dari pembedahan padat, sedangkan dari pembedahan kaldu biasanya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *S.aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan dan pembentukan abses. *S.aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit (Jawetz *et al.*, 2001).

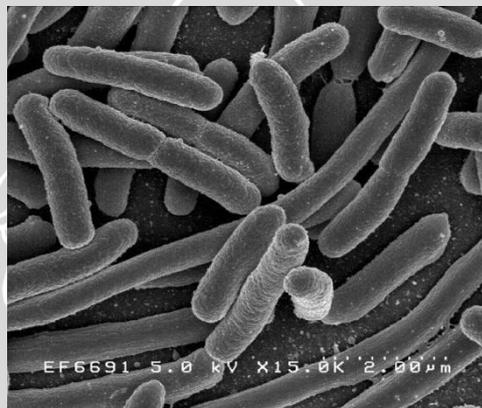
Suhu optimum untuk pertumbuhan *S.aureus* adalah 35^o – 37^o C dengan suhu minimum 6,7^o C dan suhu maksimum 45,4^o C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5. Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya. Bakteri ini membutuhkan asam nikotinat untuk tumbuh dan akan distimulir pertumbuhannya dengan adanya thiamin. Pada keadaan anaerobik, bakteri ini juga membutuhkan urasil. Untuk pertumbuhan optimum diperlukan sebelas asam amino, yaitu valin, leusin, threonin, phenilalanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin dan arginin. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein (Belqis, 2008).

2.5 *Escherichia coli*

Klasifikasi *E.coli* adalah sebagai berikut: (Anonumous, 2010).

Kingdom	: Procaryota
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Entobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Untuk lebih jelasnya *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4. *E.coli*

(Sumber: <http://yalun.files.wordpress.com>)

E.coli adalah salah satu group koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 40°C, bersifat indol positif tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37°C, bersifat merah metil (methyl red) positif, voges-proskauer (VP) negatif.16,17 Pada biakan *E.coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan tumbuh pada pembenihan biasa, misalnya pada biakan cair, agar gizi pembenihan Mac Conkey dan agar darah. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37° C16 (Susanty, 2009).

E.coli merupakan contoh jenis bakteri koliform yang berbentuk batang, gram negatif, fakultatif anaerob, dan tidak mampu untuk membentuk spora. Bakteri *E.coli* merupakan organisme yang normal terdapat dalam usus manusia sehingga keberadaannya bukan merupakan masalah. Namun beberapa strain tertentu dari bakteri ini dapat menimbulkan penyakit seperti diare dan muntaber. Hal ini berkaitan dengan kemampuan strain ini dalam membentuk toksin yang berperan dalam pengeluaran cairan dan elektrolit. Terlebih *E.coli* yang terinfeksi oleh bakteriofage dapat memproduksi sejenis verotoksin yang mirip dengan shigotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Shigella sp.* (Anonymous, 2007).

E.coli memproduksi lebih banyak asam di dalam medium glukosa memproduksi indol tetapi tidak memproduksi aseton, bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1:1 dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sebaliknya *Enterobacter aerogenes* memproduksi asam lebih sedikit daripada aseton, tetapi tidak membentuk indol. Bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1: 2 dan dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Fardiaz, 1992).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji kepekaan bakteri terhadap obat secara invitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap antimikroba pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara yaitu metode difusi cakram dan metode dilusi atau biasa disebut dengan metode penentuan KHM (kadar hambat minimum) (Dzen, *et al.*, 2003)

2.6.1 Uji Cakram

Beberapa bahan antimikroba tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antimikroba bersifat menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu cara untuk menguji bahan antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram. Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).

Menurut Setiaji (2009), salah satu pengujian terhadap aktifitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi, Metode ini paling sering digunakan, karena penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standarisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik.

Sebelum zat antimikroba digunakan untuk keperluan pengobatan, maka perlu diuji terlebih dahulu efeknya terhadap spesies bakteri tertentu. Aktivitas jasad renik diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan potensi suatu zat anti

jasad renik dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan badan dan jaringan serta kepekaan suatu jasad renik terhadap konsentrasi obat-obatan yang diberikan (Edberg, 1986).

Menurut Winarsih, *et al.*, (2003), efektivitas antimikroba terhadap spesies bakteri berbeda antara yang satu dengan yang lain. Sensitivitas setiap bakteri patogen terhadap suatu antimikroba harus diuji dengan berbagai konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan bakteri tersebut terhambat atau mati.

Lebar daerah hambatan ini tergantung pada konsentrasi obat yang digunakan. Cakram ini bisa untuk menggolongkan pengaruh obat antimikroba yaitu sensitif (S) dan resisten (R), intermediate (I). Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikitpun dan pengukuran diameter daerah hambatan dalam milimeter (Bonang dan Koeswardono, 1982). Adapun cara peletakan kertas cakram dengan petridis minimal 15 mm dan jika jumlah cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram minimal 24 mm (Lay, 1994).

2.6.2 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) dari obat antibakteri. Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media cair (Nutrient Broth) dilakukan untuk mengetahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC), yaitu konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding. Dalam hal ini yang digunakan sebagai kontrol adalah media cair (Nutrient Broth) yang tidak mengandung bakteri (Bonang dan Koeswardono, 1982).

2.7 Mekanisme Kerja Antibakteri

Senyawa antibakteri didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Antibakteri adalah jenis bahan tambahan makanan yang digunakan dengan tujuan untuk mencegah kebusukan atau keracunan oleh mikroorganisme pada bahan pangan. Beberapa jenis senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah sodium benzoat, senyawa fenol, asam-asam organik, asam lemak rantai medium dan esternya, sorbat, sulfur dioksida dan sulfit, nitrit, senyawa kolagen dan surfaktan, dimetil karbonat dan metil askorbat. Antibakteri alami baik dari produk hewani, tanaman maupun mikroorganisme misalnya bakteriosin (Kastanya, 2009).

Zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteri statik (menghambat pertumbuhan bakteri), dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri). Kemampuan suatu zat antimikrobia dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya: 1) konsentrasi zat pengawet, 2) jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikrobia, 3) suhu, 4) waktu, dan 5) sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen didalamnya (Kastanya, 2009).

Menurut Yuningsih (2007), mekanisme kerja antibakteri dibedakan dalam lima kelompok, yaitu antibakteri yang menghambat metabolisme sel, menghambat sintesis dinding sel, mengganggu membran sel, menghambat sintesis protein dan menghambat sintesis asam nukleat.

a. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel mikroba

Asam folat yang disintesis dari asam paraaminobenzoat (PABA) sangat dibutuhkan oleh bakteri untuk kelangsungan hidupnya. Penghambatan metabolisme sel untuk menghasilkan asam folat terjadi dengan dua cara: 1) antibakteri menang bersaing dengan PABA, maka akan terbentuk asam folat yang bersifat nonfungsional, 2) antibakteri menghambat enzim dihidrofolat

reduktase sehingga asam dehidrofolat tidak dapat direduksi menjadi asam tertradehidrofolat (THFA) yang merupakan bentuk aktif dari asam folat.

b. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, safolosporin, vonkomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel, diikuti oleh antibakteri yang menghambat reaksi terakhir dalam rangkaian reaksi tersebut.

c. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik. Antibakteri merusak dinding sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sehingga jumlah fosfor menurun. Hal ini mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Kerusakan membran menyebabkan keluarnya komponen dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain.

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Protein dibutuhkan untuk kehidupan mikroba. Sintesis protein berlangsung di ribosom sub unit 30S dan 50S dengan bantuan mRNA dan tRNA. Kedua subunit tersebut harus bersatu agar dapat berfungsi untuk mensintesis protein. Penghambatan bakteri dengan dua cara yaitu:

Antibakteri berikatan dengan ribosom 30S menyebabkan kode pada mRNA salah baca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya terbentuk protein yang abnormal dan unfungsiional. Antibakteri berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru.

5. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat

Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah rifampisilin, dan golongan kuinolon. Antibakteri berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut.

Suatu zat antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif. Istilah ini berarti bahwa suatu obat berbahaya bagi parasit tetapi tidak membahayakan inang. Seringkali, toksisitas selektif lebih bersifat relatif dan bukan absolut, ini berarti bahwa suatu obat yang pada konsentrasi tertentu dapat ditoleransi oleh inang, dapat merusak parasit. Antimikroba yang ideal sebagai obat harus memenuhi syarat-syarat berikut (Dinda, 2008):

- Mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas.
- Tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen
- Tidak menimbulkan pengaruh samping yang buruk pada host, seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya

2.8 Uji Senyawa Aktif Antibakteri

Uji senyawa aktif antibakteri daun *R.mucronata* dengan metode GC-MS (Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa). Kromatografi merupakan metode pemisahan. Dibandingkan dengan metode pemisahan klasik seperti destilasi, kristalisasi, pengendapan ekstraksi, dan lain-lain, mempunyai kelebihan dalam pelaksanaan yang lebih sederhana. Penggunaan waktu yang singkat dan terutama mempunyai kepekaan serta kemampuan memisahkan serta kemampuan pemisahan yang tinggi. Prosedur kromatografi dapat digunakan jika metode klasik tidak dapat dilakukan karena jumlah cuplikan rendah, kompleksitas campuran yang hendak dipisahkan atau sifat kekerabatan zat yang hendak

dipisah. Kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi gas dapat dilakukan dalam laboratorium dan sangat sesuai dengan identifikasi dan pemeriksaan kemurnian senyawa obat dan campuran senyawa obat. Prosedur kromatografi tunggal dapat dibedakan menurut jenis pemisahan zat atau menurut materi pemisahan yang digunakan. Seringkali berbagai prinsip pemisahan dijadikan satu. Untuk karakterisasi hasil pemisahan dikenal dengan parameter pengenal (Roth dan Blaschke, 1985).

Metode GC-MS merupakan gabungan dari metode kromatografi gas dan spektrometri massa. Kromatografi gas merupakan salah satu metode pemisahan yang berdasarkan partisi cuplikan antara fase gerak yang berupa gas pembawa dan fase diam yang menahan cuplikan secara selektif. Metode spektrometri massa didasarkan pada perubahan molekul netral menjadi ion-ion bermuatan positif dan memisahkannya berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan elektron. Keuntungan dari metode GC-MS adalah waktu identifikasi yang cepat, sensitivitas tinggi, alat dapat dipakai dalam waktu lama dan pemisahan yang baik (Restasari, *et al.*, 2009).

Kromatografi gas pada partisi zat yang hendak dianalisis antara dua fase yang saling kontak tetapi tidak bercampur. Partisi tercapat melalui adsorpsi atau absorpsi atau proses keduanya. Sebagai fase bergerak digunakan gas pembawa. Tergantung dari keadaan agregat fase diam dapat dibedakan kromatografi gas cair dan kromatografi gas padat. Keuntungan utama kromatografi yaitu waktu analisis yang singkat dan ketajaman pemisahan yang besar (Roth dan Blaschke, 1985).

Teknik analisis GC-MS merupakan gabungan dari teknik kromatografi gas dan teknik spektrometri massa. Pada GC-MS, kromatografi gas berfungsi sebagai pemisah senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel yang dianalisis dengan resolusi tinggi, sedangkan bagian spektrometri massa berfungsi

mengidentifikasi senyawa-senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas (Putra, 2007).

2.8.1 Prinsip Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang mana solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke dedektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Ada dua jenis kromatografi gas:

1. Kromatografi gas-cair (KGC)

Pada KGC ini, fase diam yang digunakan adalah fase cairan yang dikaitkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut pada fase diam.

Mekanisme *sorpsi*-nya adalah partisi.

2. Kromatografi Gas-Padat (KGP)

Pada KGP ini, digunakan fase diam padatan (kadang-kadang polimerik).

Mekanisme *sorpsi*-nya adalah adsorpsi.

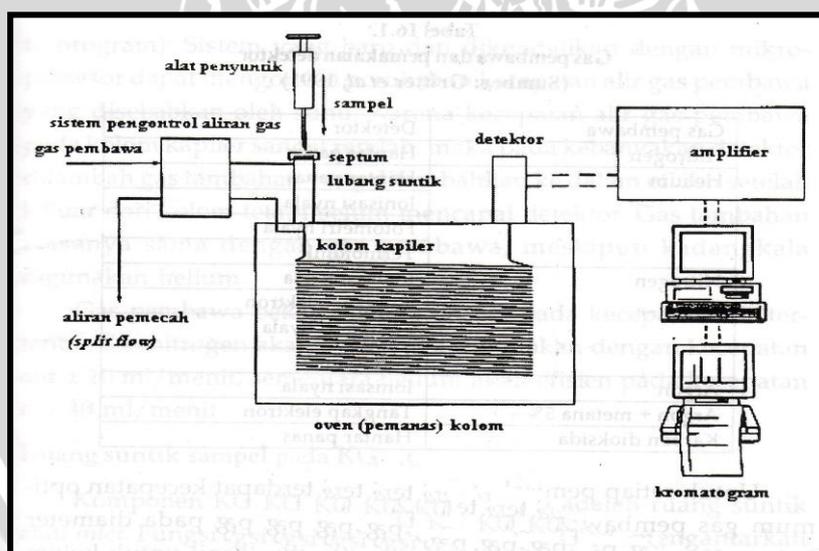
Penyelesaian kuantitatif kromatogram gas didasarkan atas pengukuran luas puncak yang umumnya adalah proporsional dan konsentrasi senyawa dalam

gas pembawa. Perhitungan luas pada kromatogram gas dapat dengan menggunting dan menimbang puncak, dengan planimetri atau perhitungan luas segitiga yang hampir mendekati dengan mengalikan tinggi puncak (h) dengan lebar puncak pada setengah tinggi (Roth dan Blaschke, 1985).

a. Sistem Peralatan KG

Diagram skematik peralalan KG ditunjukkan oleh gambar di bawah ini, dengan komponen utama adalah: kontrol dan penyedia gas pembawa, ruang suntik sampel, kolom yang diletakkan dalam oven yang dikontrol secara termostatik; sistem deteksi dan pencatat (detektor dan *recorder*); serta komputer yang dilengkapi dengan perangkat pengolah data (Gandjar dan Rohman, 2007).

Untuk lebih jelasnya alur kromatografi gas dapat dilihat pada Gambar 5



Gambar 5. Kromatografi Gas

b. Fase Gerak pada KG

Fase gerak pada KG juga disebut gas pembawa karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solut ke kolom, karenanya gas pembawa tidak berpengaruh pada selektifitas. Syarat gas pembawa adalah: tidak reaktif, murni/

kering karena kalau tidak murni akan berpengaruh pada detektor; dan dapat disimpan pada tangki yang bertekanan tinggi (biasanya merah untuk hidrogen, dan abu2 untuk nitrogen). Helium merupakan tipe gas pembawa yang sering digunakan karena memberikan efisiensi kromatografi yang lebih baik (mengurangi pelebaran pita). Pada dasarnya kecepatan aliran gas pembawa berbanding lurus dengan penampang kolom. Kecepatan aliran gas kira-kira 50-70 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 6 mm, 25-30 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 3 mm. Kolom kapiler memakai kecepatan gas yang rendah, yakni antara 0,2-2 ml/ menit (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Ruang Suntik Sampel pada KG

Komponen KG yang utama selanjutnya adalah ruang suntik atau *inlet*. Fungsi dari ruang suntik adalah untuk mengantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa. Ruang suntik harus dipanaskan terlebih dahulu (terpisah dari kolom) dan biasanya 10^o-15^oC lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikkan.

Pada kolom kapiler, sampel yang diperlukan sangat sedikit, bahkan sampai 0,01 µl. Karena pengukuran secara akurat sulit dilakukan jika sampel yang disuntikkan terlalu kecil, maka ditempuh suatu cara untuk memperkecil ukuran sampel setelah penyuntikan. Salah satu cara yang dilakukan adalah dengan menggunakan teknik pemecah suntikan (*split injection*). Sampel yang ideal dalam kromatografi gas adalah sampel yang hanya mengandung senyawa yang akan dipisahkan dalam kolom, dan dalam banyak hal juga pelarut yang mudah menguap yang melarutkan sampel tersebut. Konsentrasi sampel biasanya berkisar antara 1-10% (Gandjar dan Rohman, 2007).

d. Kolom pada KG

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Oleh karena itu, kolom merupakan komponen sentral pada KG. Ada dua jenis kolom pada KG yaitu:

- Kolom Kemas

Jenis kolom ini terbuat dari gelas atau logam yang tahan karat atau dari tembaga dan aluminium. Panjang kolom jenis ini adalah 1-5 meter dengan diameter dalam 1-4 mm. Efisiensi kolom akan meningkat dengan semakin bertambah halusanya partikel fase diam ini. Ukuran partikel fase diam biasanya berkisar antara 60-80 mesh (250-170 μm).

- Kolom Kapiler

Kolom kapiler memiliki rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa (tube). Fase diam melekat mengelilingi dinding dalam kolom. Fase diam yang dipakai di kolom kapiler dapat bersifat polar, semi polar maupun non polar.

Banyak bahan kimia yang digunakan sebagai fase diam anyara lain: squalen, DEGS (Dietilglikogen suksinat), OV-17 (*phenil methyl silicone oil*). Semakin tipis lapisan yang menyalut sebagai fase diam, maka semakin tinggi suhu operasionalnya. Untuk lapisan salut $< 1\mu\text{m}$, suhu operasional dapat mencapai 460°C , sementara itu suhu minimalnya dapat mencapai -60°C (Gandjar dan Rohman, 2007).

e. Detektor pada KG

Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi

mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik.

Pada garis besarnya detektor pada KG termasuk detektor deferensial, dalam arti respon yang keluar dari detektor memberikan relasi yang linier dengan kadar atau laju aliran massa komponen yang teresolusi. Kromatogram yang merupakan hasil pemisahan fisik komponen-komponen oleh Kdisajikan oleh detektor sebagai deretan luas puncak terhadap waktu. Waktu tambat tertentu dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif, sedangkan luas puncak dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif yang keduanya telah dikonfirmasi dengan senyawa baku (Gandjar dan Rohman, 2007).

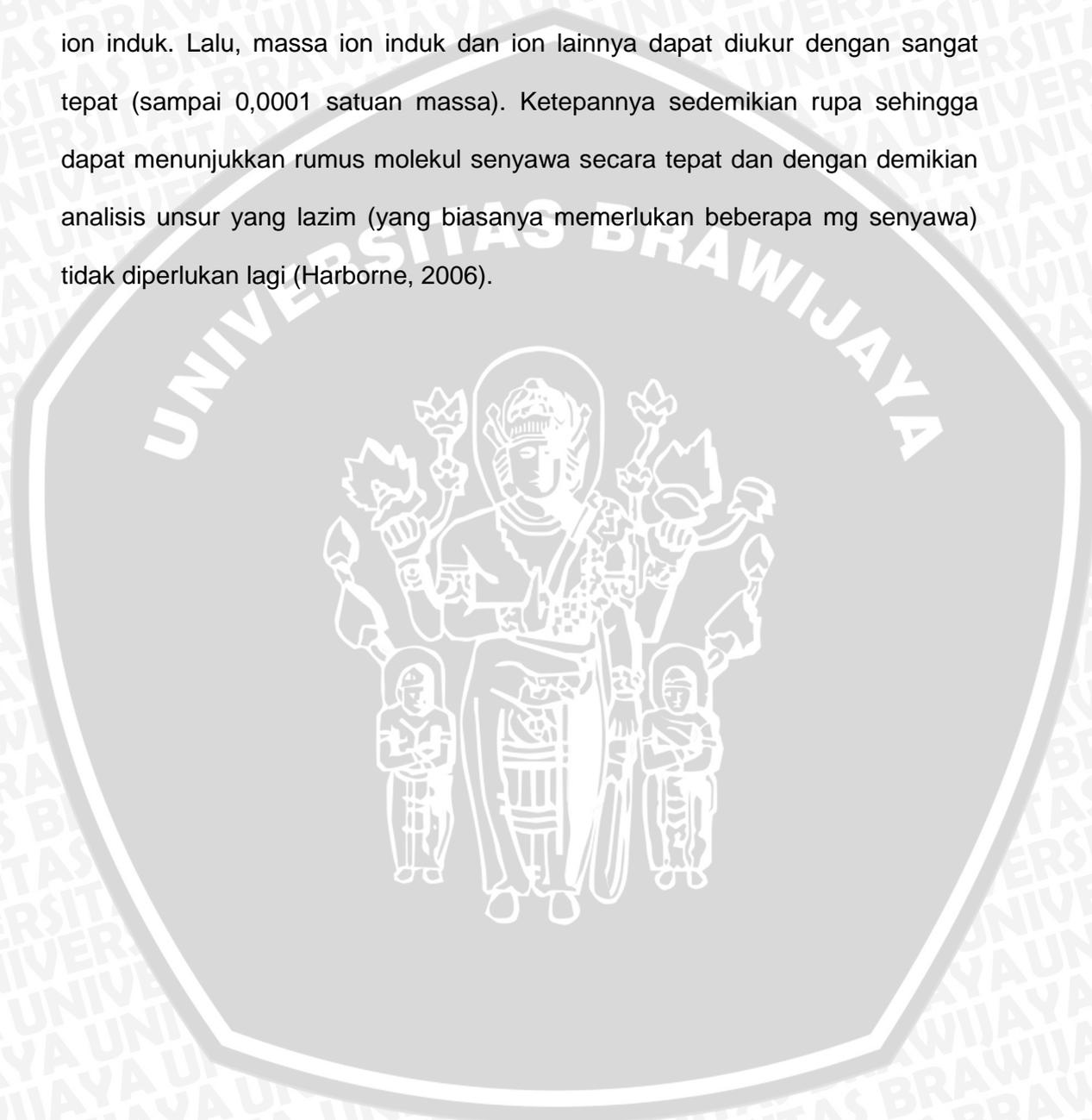
2.8.2 Prinsip Spektrometri Massa (SM)

Spektrometri massa sejak penampilannya yang baru (kira-kira 1960), telah merevolusikan penelitian biokimia mengenai bahan alam dan telah meringankan beban fitokimiawan dalam banyak hal. Nilai cara ini terletak pada kecilnya bahan yang diperlukan (skala mikro gram), kemampuannya menentukan bobot molekul dengan tepat, kemampuannya menghasilkan pola fragmentasi rumit yang sering khas bagi senyawa yang bersangkutan sehingga dapat diidentifikasi.

Pada dasarnya spektrometri massa adalah penguraian senyawa organik dan perekaman pola fragmentasi menurut massanya. Uap cuplikan berdifusi ke dalam system spectrometer massa yang bertekanan rendah, lalu diionkan dengan energi yang cukup untuk memutuskan ikatan kimia. Ion bermuatan positif yang terbentuk dipercepat dalam medan magnet yang menyebarkan ion tersebut dan memungkinkan pengukuran kelimpahan nisbi ion yang mempunyai nisbah massa terhadap muatan tertentu. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa

merupakan grafik spectrum massa yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan.

Pada kebanyakan senyawa, sebagian kecil dari senyawa induk tahan terhadap proses penguapan dan akan direkam sebagai puncak ion molekul atau ion induk. Lalu, massa ion induk dan ion lainnya dapat diukur dengan sangat tepat (sampai 0,0001 satuan massa). Ketepatannya sedemikian rupa sehingga dapat menunjukkan rumus molekul senyawa secara tepat dan dengan demikian analisis unsur yang lazim (yang biasanya memerlukan beberapa mg senyawa) tidak diperlukan lagi (Harborne, 2006).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama dan bahan kimia serta isolat bakteri. Bahan utama yang digunakan adalah daun muda *R.mucronata* diperoleh dari Probolinggo Jawa Timur, yang di keringkan di sinar matahari tidak langsung selama 3 minggu (daun yang terletak pada pucuk daun dan 2-3 helai ddi bawah daun dari pucuk sampai sebelum mengalami bintik-bintik hitam kecil di bagian bawah daun yang menunjukkan daun sudah tua) (scribd, 2010). Bahan lain yang digunakan adalah biakan murni bakteri *S.aureus* dan *E.coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bahan untuk ekstraksi *R.mucronata* yaitu larutan metanol 96%, aquades, kertas saring, serbet, label, aluminium foil, tissue, untuk uji antibakteri diperlukan aquades, *Nutrient Agar* (NA) , *Nutrient Broth* (NB), kertas cakram (*paper disc*). Kemudian untuk uji kandungan fitokimia, digunakan akuades, asam klorida pekat, serbuk Mg dan amil alkohol, NaCl dan FeCl₃.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *rotary vacuum evaporator* , oven, timbangan analitik, blender, untuk uji kandungan fitokimia, digunakan peralatan gelas standart, tabung reaksi, corong, labu takar, kurs porselin, untuk uji antibakteri diperlukan cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi autoklaf, inkubator, penggaris, pH meter, micro pipet, jarum ose, bunsen, water

pump, pinset, dan triangle, untuk uji senyawa aktif menggunakan uji GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry).

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode Eksperimen

Tahap pertama penelitian ini digunakan metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki (Suryasubrata, 1989). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988). Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak daun mangrove *R.mucronata* terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

3.2.2 Metode Deskriptif

Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan menginterpretasi objek sesuai dengan apa adanya. Penelitian deskriptif pada umumnya dilakukan dengan tujuan utama, yaitu menggambarkan secara sistematis fakta dan karakteristik objek dan subjek yang diteliti secara tepat (Hartoto, 2009).

Tujuan penelitian tahap dua adalah untuk mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun mangrove *R.mucronata* dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS).

3.3 Variabel Penelitian

Menurut Surachmad (1994), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun *R.mucronata* yang digunakan. Sedangkan sebagai variabel terikat adalah daya hambat pertumbuhan pada uji MIC dan diameter daerah hambatan yang terlihat di sekitar kertas cakram (mm).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}; \quad i = 1, 2, \dots, t; \quad j = 1, 2, \dots, r$$

dimana :

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

μ = Nilai rata-rata

α_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

Penelitian terdiri dari 8 perlakuan, 3 kali ulangan dan 2 kontrol. Sebagai perlakuan adalah pemberian ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi yang berbeda. Adapun perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- A = Konsentrasi 50 %
- B = Konsentrasi 60 %
- C = Konsentrasi 70 %
- D = Konsentrasi 80 %
- E = Konsentrasi 90 %
- F = Konsentrasi 100 %
- K = Kontrol -(tanpa perlakuan)
- K = Kontrol + (Ampicillin)

Denah percobaan:

Jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 24. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah percobaan seperti pada Gambar 5.

A1	D2	B3	E2	C1	F1
F3	B1	C2	D1	E3	A2
C3	F2	E1	A3	B2	D3
K(-)1	K(-)2	K(-)3	K(+1)	K(+2)	K(+3)

Gambar 6 . Denah Percobaan

Keterangan:

A,B,C,D,E,F : Perlakuan

1,2,3 : Ulangan

K(-) : Kontrol Negatif

K(+) : Kontrol Positif (Ampicillin)

3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan adanya kemampuan antibakteri dari ekstrak *R.mucronata* terhadap bakteri standar laboratorium, bakteri yang digunakan yaitu *S.aureus* dan *E.coli* dan memperoleh konsentrasi ekstrak *R.mucronata* yang optimal dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Penelitian dimulai dengan mengekstrak daun *R.mucronata*. Melakukan uji fitokimia (kualitatif) yang terdiri dari uji flavonoid, uji saponin dan uji tanin, kemudian dilanjutkan dengan uji cakram 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% dan 0% untuk kontrol negatif dan menggunakan antibiotik ampisillin 10 µg untuk kontrol positif, selanjutnya uji MIC dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% untuk bakteri *S.aureus* dan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% untuk bakteri *E.coli*. Selanjutnya dilakukan uji senyawa bioaktif metode GC-MS.

3.5.1 Sterilisasi alat dan Bahan

- Alat-alat disterilisasi kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, lalu alat yang telah dibungkus dimasukkan dan ditutup rapat
- Kompor pemanas dinyalakan
- Ditunggu sampai suhu 121°C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.

- Kompor dimatikan. Ditunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian dibuka kran uap lalu dibuka penutup *autoclave* dengan cara zig-zag.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.5.2 Ekstraksi *R.mucronata* Metode Maserasi (Puspitasari, 2010)

Prosedur Ekstrak *R.mucronata*:

- Daun *R.mucronata* muda (2-3 daun di bawah kuncup) dikeringkan
- Daun *R.mucronata* yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 200 g
- Dimaserasi 3 x 24 jam, dengan penambahan MeOH 1500 ml hingga terjadi pemisahan 2 lapisan
- Diambil lapisan atas sebagai hasil ekstrak MeOH
- Dievaporasi dengan Rotavapor 40°C
- Dihasilkan ekstrak kasar dari *R.mucronata*
- Disimpan pada suhu 4°C

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. 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. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana. Sedang kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak (Arsy, 2008). Ditambahkan oleh Auries (2008), dengan

metode maserasi cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif tersebut akan larut.

3.5.3 Uji Fitokimia (Uji Kualitatif) Metode Mustikaningtyas, *et al.*, 2009

3.5.3.1 Uji Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak *R.mucronata* ditambahkan 5 ml aquades panas kemudian dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil sekitar 10 menit dan tidak hilang pada penambahan setetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

3.5.3.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak *R.mucronata* kemudian ditetesi metanol, ditambah serbuk Mg dan ditetesi dengan HCl pekat. Terjadinya perubahan warna diamati. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, kuning atau jingga.

3.5.3.3 Uji Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak *R.mucronata*, kemudian ditambah NaCl 5 tetes. Selanjutnya ditambah FeCl₃ 3 tetes. Warna hijau biru atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.

Sebanyak 1 ml ekstrak *R.mucronata*, kemudian ditambah NaCl 5 tetes. Selanjutnya ditambah FeCl₃ 3 tetes, selanjutnya ditambahkan gelatin 0,01 ml dan NaCl 0,1 ml. Jika terjadi endapan menunjukkan adanya tanin.

3.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.4.1 Pengkayaan Bakteri

Sebelum dipakai dalam uji antibakteri, bakteri yang akan dipakai setiap kali harus diregenerasi terlebih dahulu. Langkah pertama yang dilakukan adalah membuat biakan agar miring yaitu menggoreskan biakan dari stok bakteri ke

media *Nutrient Agar* (NA) miring yang masih baru. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Mustikaningtyas, *et al.*, 2009). Dari biakan tersebut diambil empat sampai lima koloni, biakan diambil dengan ose steril dan ditanam dalam 4 ml media cair *Nutrient Broth* (NB) steril. Selanjutnya tabung tersebut diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C, maka terbentuklah kekeruhan yang setara dengan standart Mc Farland 3×10^8 /ml (Hermawan. 2007).

3.5.4.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri

➤ Uji Cakram Metode Harmita dan Radji (2008)

Uji cakram merupakan pengujian untuk antimikrobal dengan mengukur daerah hambat yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antimikrobal sesuai dengan dosis perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986). 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 (Harmita dan Radji, 2008). Dengan demikian dapat diketahui aktivitas atau pengaruh perlakuan terhadap diameter daerah hambatan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Adapun tahapan-tahapan dalam pelaksanaan uji cakram adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan media steril dan permukaannya bening
2. Menyiapkan konsentrasi uji cakram 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%
3. Diberi 2 tetes bakteri dari media cair secara merata pada seluruh permukaan media dalam cawan petri dengan menggunakan triangle

4. Setelah 15-30 menit kertas cakram yang telah mengandung ekstrak *R.mucronata*, diletakkan pada media dan ditekan agar ekstrak *R.mucronata* meresap pada media agar dengan baik
5. Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dengan cara mengukur diameter daerah hambatan di sekitar kertas cakram dengan menggunakan kertas milimeter dan penggaris
6. Inkubasi dapat dilakukan sampai 48 jam untuk mengetahui sifat dari ekstrak *R.mucronata*, jika daerah hambatan tetap bening selama 48 jam maka zat tersebut bersifat bakteriosidal dan jika ditumbuhi bakteri bersifat bakteriostatik.

➤ **Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Metode (Bonang dan Koeswardono (1982) dan Warsa (1991))**

Penentuan MIC dilakukan sebagai berikut:

1. Disediakan 24 tabung reaksi yg telah diberi label konsentrasi
2. Dibuat konsentrasi ekstrak *R.mucronata* 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% masing-masing 1 ml
3. Dimasukkan 1 ml suspensi bakteri 10⁶ CFU/ml kedalam masing-masing tabung reaksi
4. Divortek hingga homogen
5. Semua tabung reaksi diinkubasi 37°C selama 24 jam
6. Setelah 24 jam, diperhatikan dan dicatat derajat kekeruhan pada semua tabung, selain itu catat nilai KHM yang merupakan konsentrasi terendah dari tabung yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan
7. Untuk mengetahui nilai KBM, maka dilakukan penanaman dimedium Nutrient agar, setelah itu diinkubasi 37°C selama 24 jam

8. Dihitung koloni yang tumbuh dengan colony counter.
9. Dari hasil perhitungan koloni dapat ditentukan KHM sekaligus KBM dari bahan antimikroba tersebut.

3.4.5 Analisis Senyawa Bioaktif Metode GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan terhadap hasil ekstrak yang positif menunjukkan daya antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Analisis GC-MS dilakukan berdasarkan metode Putra (2007). Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injektor 320°C, suhu awal oven 70°C. laju kenaikan suhu 10°C/menit, dan suhu akhir oven 310°C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC.

3.4.6 Pembuatan Media

3.4.6.1 Media NA (Nutrient Agar) Metode Fardiaz (1993)

Komposisi media NA

- Ekstrak sapi : 3 g
- Pepton : 5 g
- Agar : 15 g
- Akuades : 1000 ml

Prosedur Pembuatan media NA menurut Joko (2009):

1. Ditimbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitik untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi.
2. Akuades sebanyak 100 ml dibagi menjadi dua, satu bagian untuk melarutkan ekstrak sapi dan pepton dan sebagian lagi untuk melarutkan agar. Larutkan

agar pada sebagian air tersebut dengan mengaduk secara konstan dan diberi panas. Dapat menggunakan kompor gas atau *hot plate stirrer*.

3. Sementara itu sebagian akuades digunakan untuk melarutkan pepton dan ekstrak sapi, cukup dengan pengadukan.
4. Setelah keduanya larut, larutan dituangkan ke larutan agar dan diaduk sampai homogen. Kemudian pH media diukur dengan mencelupkan kertas pH indikator. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
5. Setelah itu media dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan disterilisasi dengan autoklaf.
6. Dituang media steril ke cawan petri steril secara aseptis. Jika diinginkan media tegak atau miring pada point ke 5, media langsung dituang ke tabung kemudian disterilisasi.

3.4.6.2 Media NB (Nutrient Broth) Metode Fardiaz (1993)

Komposisi media NB :

- Nutrient Broth : 1,3 gram.
- KCl : 0,075 gram.
- MgSO₄ : 0,694 gram.
- NaCl : 1,34 gram.
- Aquades : 100 ml.

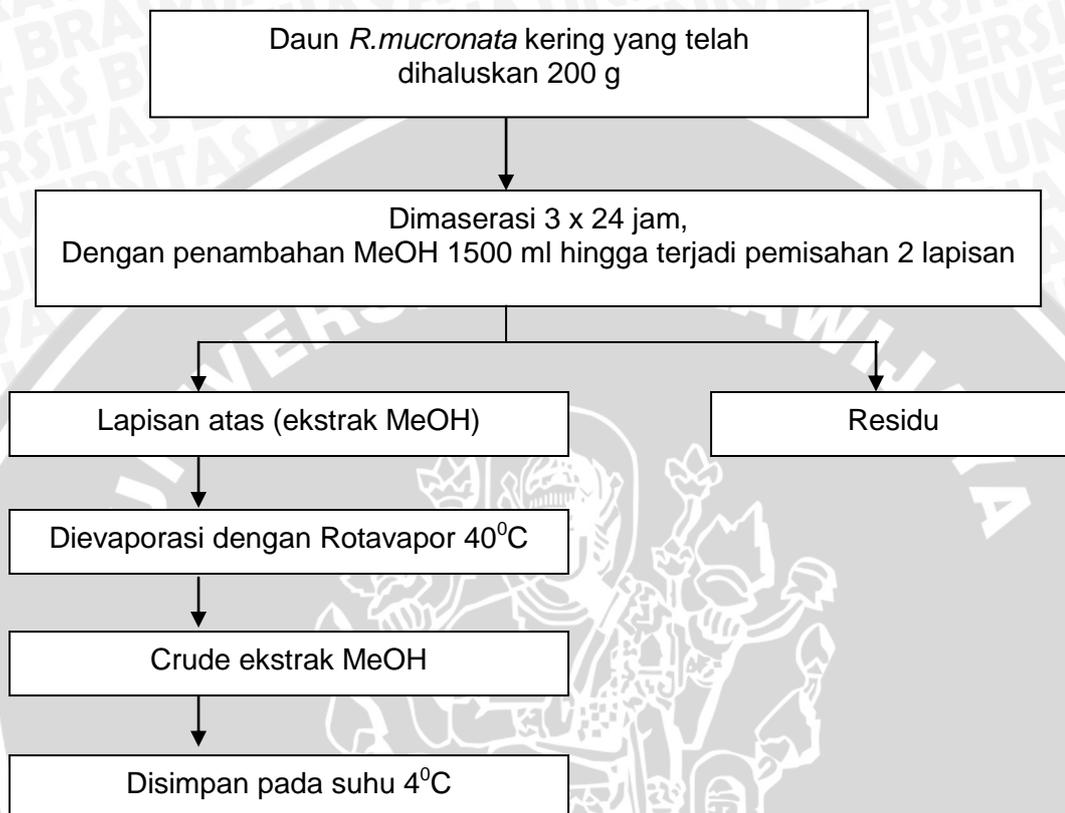
Prosedur Pembuatan media NB menurut Joko (2009):

Dilarutkan semua bahan-bahan, kemudian panaskan sampai mendidih.

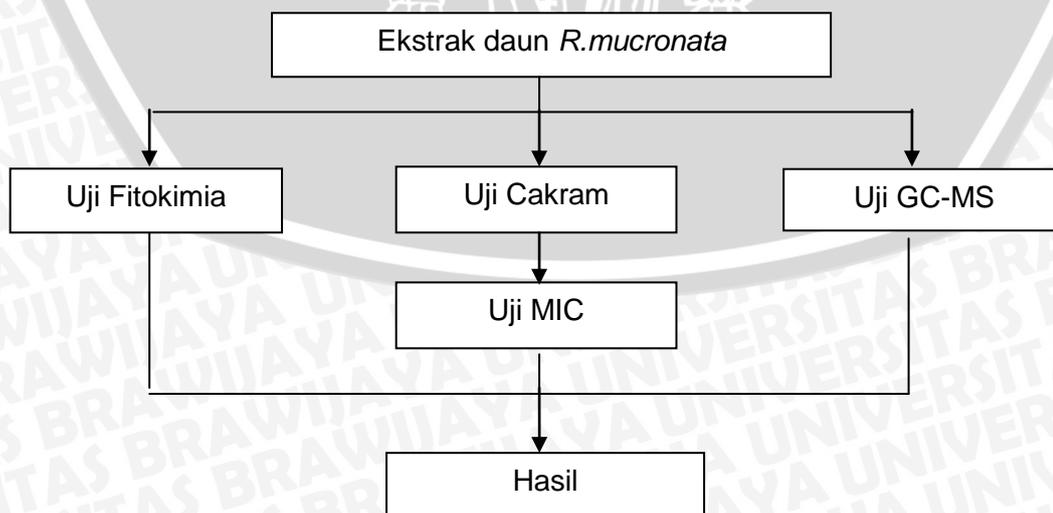
Tuang ke dalam tabung reaksi. Disterilkan dalam *autoclave*. Setelah dingin bisa dipakai. Adapun skema kerja penelitian dapat dilihat pada Gambar

3.5 Skema kerja Penelitian

Gambar 7. Proses Ekstraksi Daun *R.mucronata*



Gambar 8. Proses Uji Fotokimia, Uji Cakram, Uji MIC dan Uji GC-MS



3.6 Parameter Uji

Parameter yang dilakukan adalah parameter kualitatif, yaitu data yang diperoleh dari daya hambat pengukuran diameter daerah hambatan yang terlihat di sekitar kertas cakram (mm) pada uji cakram, kemudian dilakukan uji minimum konsentrasi hambatan pada uji MIC dan uji GC-MS.

3.7 Analisis Data

Hasil dari uji antibakteri penentuan zona hambat dengan menggunakan metode cakram. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of variance*) pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf α 0.05. Uji lanjut digunakan adalah BNT 5%. Semua data dianalisis dengan program SPSS 11.5.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengamatan

Hasil pengamatan dari penelitian yang berjudul “uji aktivitas antibakteri *S.aureus* dan *E.coli* ekstrak daun mangrove *R.mucronata*” adalah seperti yang tertera pada Tabel di bawah ini. Adapun analisa yang dilakukan adalah uji fitokimia yang terdiri dari uji saponin, flavonoid, tanin dan tanin gelatin, uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), untuk mengetahui kadar hambat minimum terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, perhitungan diameter zona hambat terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* menggunakan metode uji cakram dan analisis kandungan senyawa bioaktif dominan melalui uji GC-MS.

Tabel 1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun *R.mucronata*

Uji	Ekstrak kasar
Saponin	+
Flavonoid	+
Tanin	+

Tabel 2. Diametr zona hambatan ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *S.aureus*

No	Konsentrasi Ekstrak daun <i>R.mucronata</i>	Zona Hambat (mm)			Rerata (mm)	Akhir (mm)
		I	II	III		
1	Kontrol (-)	6.02	6.02	6.02	6.02	6.02
2	Kontrol (+) Ampicillin	6.34	6.35	6.35	6.346667	6.35
3	50%	7.24	7.21	7.23	7.226667	7.23
4	60%	7.47	7.36	7.35	7.393333	7.39
5	70%	10.24	10.08	10.12	10.14667	10.15
6	80%	11.18	10.52	10.48	10.72667	11.73
7	90%	13.11	12.94	12.93	12.99333	12.99
8	100%	16.23	15.86	15.89	15.99333	15.99

Tabel 3. Diametr zona hambatan ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *E.coli*

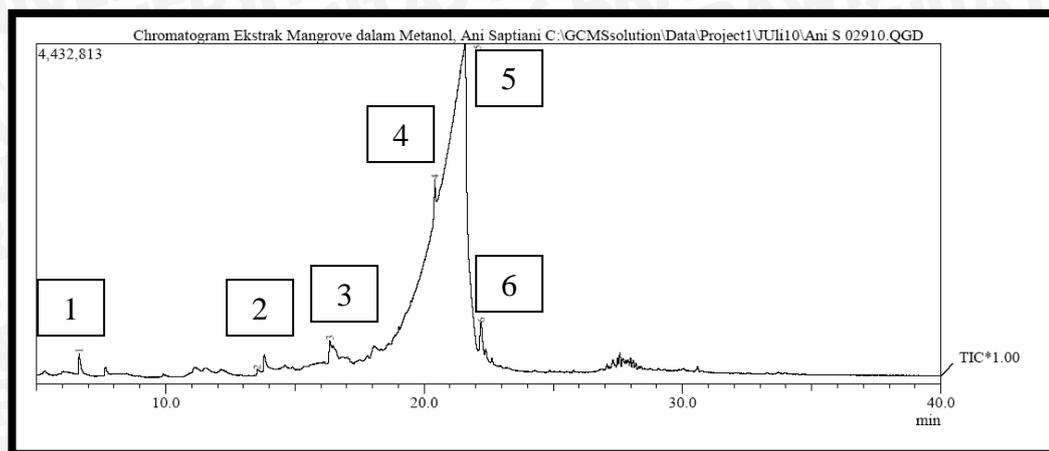
No	Konsentrasi Ekstrak daun <i>R.mucronata</i>	Zona Hambat (mm)			Rerata (mm)	Akhir (mm)
		I	II	III		
1	Kontrol (-)	6.01	6.02	6.01	6.013333	6.01
2	Kontrol (+) Ampicillin	6.19	6.19	6.17	6.183333	6.18
3	50%	6.55	6.57	6.58	6.566667	6.57
4	60%	7.16	7.16	7.17	7.163333	7.16
5	70%	7.48	7.48	7.52	7.493333	7.49
6	80%	8.67	8.62	8.68	8.656667	8.66
7	90%	9.11	9.23	9.13	9.156667	9.16
8	100%	11.41	11.56	11.49	11.48667	11.49

Tabel 4. Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *S.aureus*

Konsentrasi Ekstrak Daun <i>R.mucronata</i>	Hasil MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)			Rerata	CFU/ml
	I	II	III		
20%	302.103	297.103	299.103	299.4363	$3,0 \cdot 10^6$
30%	297.102	288.102	292.102	292.4353	$0,29 \cdot 10^6$
40%	183.101	189.101	155.101	175.7677	$0,017 \cdot 10^6$
50%	149	143	164	152	$0,0015 \cdot 10^6$
60%	57	81	41	59.66667	$0,00060 \cdot 10^6$
70%	0	0	0	0	0
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

Tabel 5. Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *E.coli*

Konsentrasi Ekstrak Daun <i>R.mucronata</i>	Hasil MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)			Rerata	CFU/ml
	I	II	III		
50%	293.103	267.103	252.103	270.7697	$0,27 \cdot 10^6$
60%	235.103	261.103	275.103	257.103	$0,026 \cdot 10^6$
70%	126.101	139.101	154.101	139.7677	$0,0014 \cdot 10^6$
80%	77.101	86.101	85.101	82.76767	$0,00083 \cdot 10^6$
90%	29	45	37	37	$0,000037 \cdot 10^6$
100%	0	0	0	0	0
0%(Kontrol Negatif)	0	0	0	0	0



Gambar 9. Hasil Analisis Uji GC-MS

4.2 Pembahasan

4.2.1 Ekstraksi daun mangrove *R.mucronata*

Sebelum ekstraksi dilakukan perlu dilakukan beberapa perlakuan khusus. Daun *R.mucronata* yang baru dipetik dikeringkan terlebih dahulu di bawah sinar matahari tidak langsung.

Ekstraksi daun *R.mucronata* menggunakan teknik maserasi. Maserasi digunakan untuk mengekstrak sampel yang tidak tahan panas. Teknik ini digunakan karna relatif sederhana tetapi menghasilkan produk yang baik (Meloan, 1999). Maserasi ini dilakukan dengan merendam serbuk daun dengan pelarut selama 3x24 jam.

Pelarut yang digunakan untuk maserasi pada penelitian ini adalah metanol 96%. Pemilihan pelarut berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Puspita (2010) yang telah menggunakan ekstrak daun *R.mucronata* yang digunakan sebagai antidiare, selain itu metanol merupakan senyawa polar yang diasumsikan di dalam ekstrak daun *R.mucronata* terdapat senyawa fenol yang bersifat polar sehingga pelarut yang digunakan sesuai dengan sifat senyawa fenol tersebut.

Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan, pemekatan dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dibawah titik didih metanol yaitu 65°C, bertujuan untuk mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen yang terkandung dalam ekstrak. Menurut Yuningsih (2007), suhu yang digunakan untuk pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* adalah 40°C karena pada suhu tersebut mencegah terjadinya kerusakan komponen yang terkandung dalam ekstrak.

4.2.2 Aktivitas Antibakteri

4.2.2.1 Aktivitas Antibakteri Metode Cakram

Ekstrak daun *R.mucronata* yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik akan digunakan untuk uji selanjutnya yaitu uji cakram. Uji cakram dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terbaik terhadap aktivitas antibakteri yang diduga terdapat pada ekstrak daun *R.mucronata*. Bakteri ujinya digunakan *S.aureus* dan *E.coli* karena kedua bakteri ini sama-sama bersifat patogen. *S.aureus* merupakan penyebab berbagai infeksi bernanah dan toksik pada manusia dan hewan sedangkan *E.coli* merupakan penyebab penyakit diare pada manusia.

Aktivitas antibakteri diamati sebagai diameter zona hambatan (mm) yang disebabkan oleh ekstrak daun *R.mucronata*. Dari hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak daun *R.mucronata* memiliki aktivitas anti bakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Hal ini dapat diamati dari timbulnya zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening di sekitar kertas cakram menandakan bahwa tidak adanya bakteri yang mampu tumbuh setelah diinkubasi dikarenakan adanya senyawa antibakteri pada daerah tersebut.

4.2.2.1.1 Aktivitas Antibakteri Terhadap *S.aureus*

Uji cakram terhadap bakteri *S.aureus* dapat dilihat pada Tabel 6

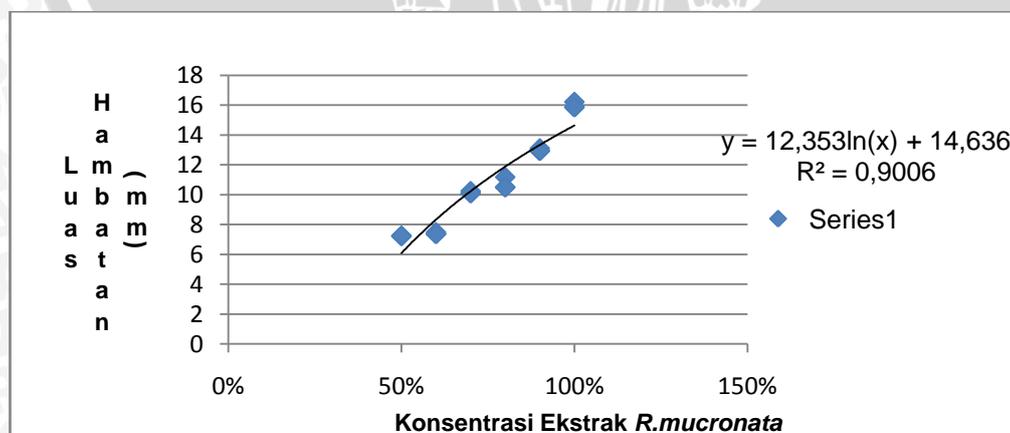
Tabel 6. Uji Cakram terhadap *S.aureus*

Konsentrasi Ekstrak Daun <i>R.mucronata</i> (%)	Zona Hambat (mm) (rata-rata ± standar deviasi (n= 3))
K-	6.0200 ± 0.00000 (a)*
K +	6.3467 ± 0.00577 (a)*
50	7.2267 ± 0.01528 (b)*
60	7.3933 ± 0.06658 (c)*
70	10.1467 ± 0.08327 (d)*
80	10.7267 ± 0.39311 (e)*
90	12.9933 ± 0.10116 (f)*
100	15.9933 ± 0.20551 (g)*

Keterangan:

*) Notasi varian menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT 5%

Zona hambat antibakteri ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *S.aureus* pada penelitian ini berkisar antara 6,02 mm-15,99 mm. pemberian ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan peningkatan zona hambat. Peningkatan zona hambat tersebut pada statistika menunjukkan beda nyata, hal ini tampak pada notasi varian yang ditampilkan pada Tabel 6. Hubungan antara pemberian konsentrasi ekstrak daun *R.mucronata* dengan zona hambat disajikan dalam Gambar 10.



Gambar 10. Zona hambat bakteri *S. aureus*

Gambar 10 menunjukkan bahwa diameter zona hambat paling tinggi adalah konsentrasi 100%. Berdasarkan data dari Tabel 6. Menunjukkan bahwa diameter zona hambatan ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri uji *S.aureus* berkisar antara 7,23 mm hingga 15,99 mm.

Dari hasil penelitian, ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambatan paling tinggi terhadap bakteri *S.aureus* dari pada hasil ekstrak daun *R.mucronata* dengan menggunakan konsentrasi yang lain. Rata-rata diameter zona penghambat tertinggi adalah 15,99 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi 100% memiliki daya anti bakteri paling tinggi terhadap bakteri *S.aureus*. Konsentrasi 100% adalah konsentrasi murni dari ekstrak daun *R.mucronata* yang tidak diencerkan dengan aquades, sehingga kandungan bioaktif yang berfungsi menghambat bakteri lebih besar sehingga efektif terhadap penghambatan bakteri *S.aureus* selain itu ada beberapa standar diameter zona hambat terhadap aktivitas antibakteri, zona hambat pada konsentrasi 100% menunjukkan penghambatan bakteri paling tinggi.

Menurut Wibowo *et al.*, (2008), standart diameter zona hambat yang dapat dikatakan efektif menghambat adalah yang memiliki diameter > 11 mm, dikatakan intermediete jika memiliki diameter zona hambat 9-11 mm dan dikatakan tidak efektif jika memiliki diameter zona hambata < 9 mm. Jika dibandingkan dengan standart tersebut maka ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi 50% dan 60% tidak efektif dalam menghambat bakteri *S.aureus*, ekstrak dengan konsentrasi 70% cukup efektif, sedangkan 80%, 90% dan 100% efektif untuk menghambat bakteri *S.aureus*.

4.2.2.1.2 Aktivitas Antibakteri Terhadap *E.coli*

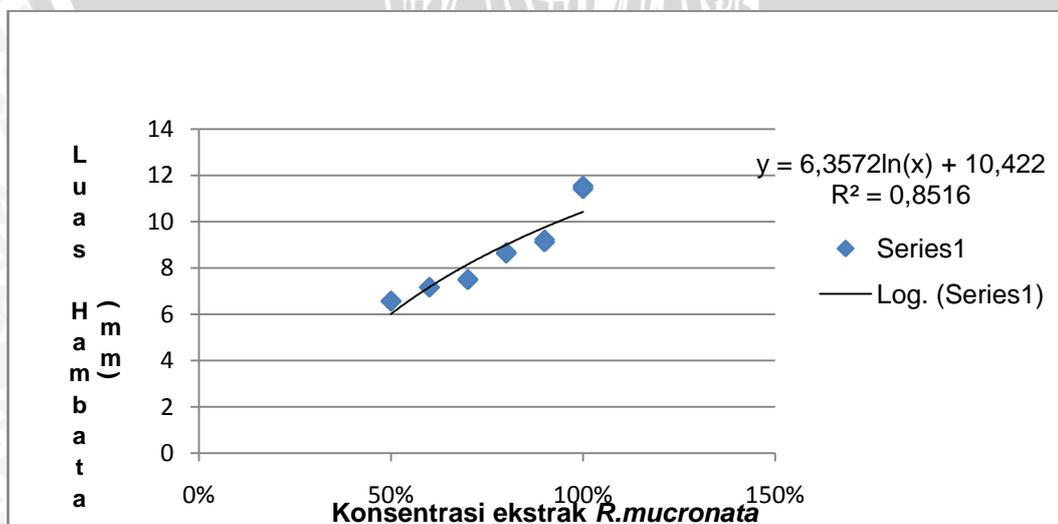
Tabel 7. Uji Cakram terhadap *E.coli*

Konsentrasi Ekstrak Daun <i>R.mucronata</i> (%)	Zona Hambat (mm) (rata-rata ± standar deviasi (n= 3))
K-	6.0133 ± 0. 00577 (a)*
K +	6.1833 ± 0. 01155 (b)*
50	6.5667 ± 0. 01528 (c)*
60	7.1633 ± 0. 00577 (d)*
70	7.4933 ± 0. 02309 (e)*
80	8.6567 ± 0. 03215 (f)*
90	9.1567 ± 0. 06429 (g)*
100	11.4867 ± 0. 07506 (h)*

Keterangan:

*) Notasi varian menunjukkan berbeda nyata pada uji BNT 5%

Zona hambat antibakteri ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *E.coli* pada penelitian ini berkisar antara 6,01 mm-11,48 mm. pemberian ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan peningkatan zona hambat. Peningkatan zona hambat tersebut pada statistika menunjukkan beda nyata, hal ini tampak pada notasi varian yang ditampilkan pada Tabel 7. Hubungan antara pemberian konsentrasi ekstrak daun *R.mucronata* dengan zona hambat disajikan dalam Gambar 11.



Gambar 11. Zona Hambat bakteri *E.coli* (mm)

Grafik di atas menunjukkan bahwa diameter zona hambat paling tinggi adalah ekstrak dengan konsentrasi 100% yaitu 11,49 mm. Berdasarkan data dari Tabel 7, menunjukkan bahwa diameter zona hambatan ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri uji *E.coli* berkisar antara 6,57 mm hingga 11,49 mm.

Berdasarkan standar diameter zona hambat oleh Wibowo *et al.*, (2008), dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *R.mucronata* dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80% tidak efektif dalam menghambat bakteri *E.coli*, struktur penyusun dinding sel bakteri *E.coli* yang merupakan bakteri Gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida sehingga pada konsentrasi tersebut bakteri *E.coli* tidak efektif untuk dihambat, sedangkan ekstrak dengan konsentrasi 90% cukup efektif dan konsentrasi 100% efektif untuk menghambat bakteri *E.coli* yang dikarenakan konsentrasi 90 % dan konsentrasi 100% lebih banyak mengandung senyawa antibakteri sehingga dengan mudah menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Kemampuan antimikroba dalam memberikan penghambatan terhadap mikroorganisme sangat bergantung pada konsentrasi dan kandungan senyawanya. Pada dasarnya mekanisme menghambat mikroorganisme oleh antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: 1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel; 2) peningkatan permeabilitas membran sel; 3) menginaktivasi enzim; dan 4) kerusakan fungsi material genetik (Kurnia, 2010).

Bakteri berdasarkan komposisi dinding selnya dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. Tebalnya peptidoglikan ini menyebabkan bakteri tahan terhadap sifat osmosis yang dapat

memecah sel bakteri itu. Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif lebih tipis tetapi memiliki membran luar yang tebal sehingga bersama-sama dengan peptidoglikan membentuk mantel pelindung yang kuat untuk sel (Yuningsih, 2007).

S.aureus memiliki permeabilitas membran lebih tinggi dari daripada bakteri lain termasuk *E.coli* sehingga memungkinkan dapat dengan mudah meloloskan difusi pasif dari senyawa antibakteri. Sehingga senyawa antibakteri yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah merusak atau mengganggu selektivitas membran sel dan akan mengakibatkan kebocoran atau keluarnya organel dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, bakteri *E.coli* lebih tahan terhadap antibiotik daripada *S.aureus* karena memiliki permeabilitas membran yang lebih rendah (Kurnia, 2010).

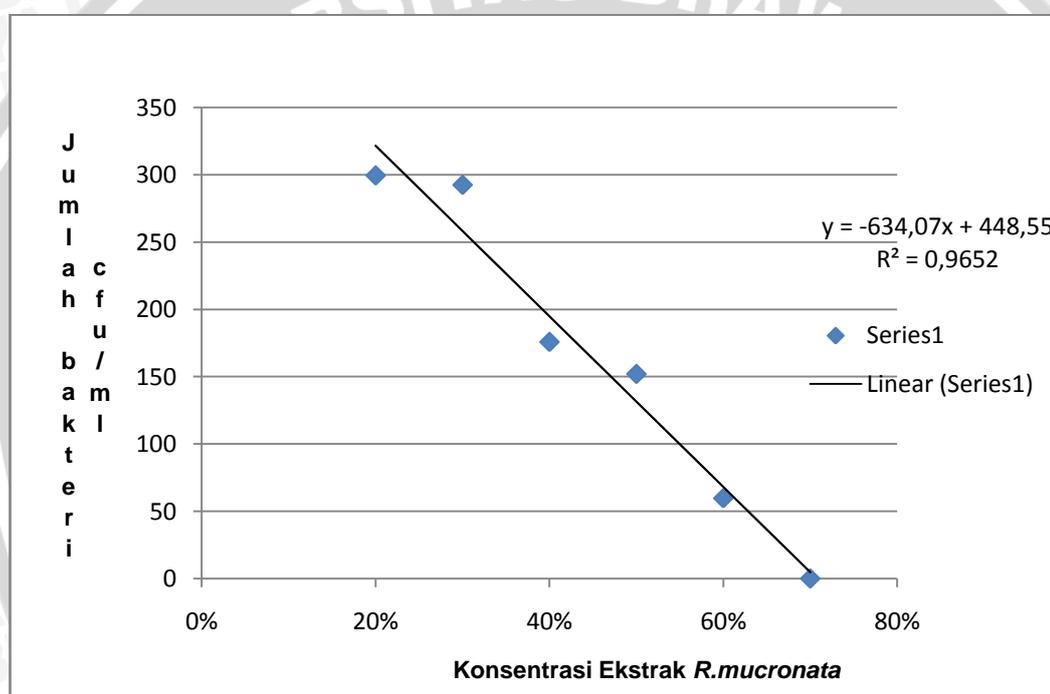
4.2.2.2 Aktivitas Antibakteri Metode MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Penelitian yang dilakukan adalah pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan menggunakan metode MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar hambat minimum pada ekstrak daun *R.mucronata* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil dari uji MIC dapat dilihat pada hasil pengamatan Tabel 4 untuk bakteri *S.aureus* dan Tabel 5 untuk bakteri *E.coli* (Halaman 46).

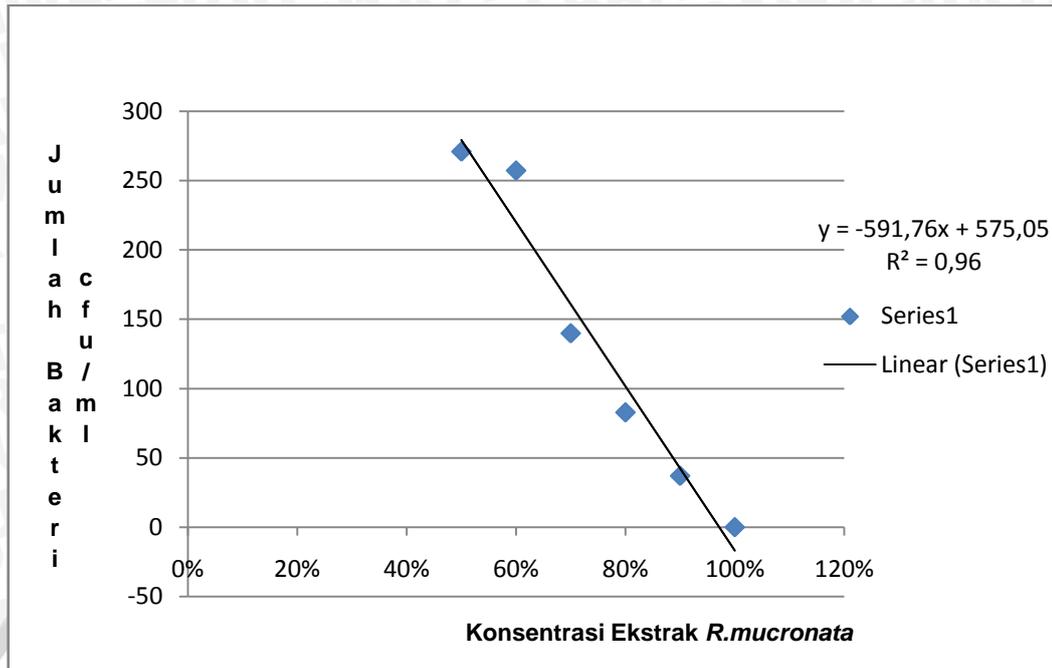
Kadar Hambat Minimum (KHM) pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli* tidak sama. KHM bakteri *S.aureus* pada konsentrasi ekstrak 20% dengan total bakteri cfu/ml $3,0 \cdot 10^6$ sedangkan KHM bakteri *E.coli* pada konsentrasi ekstrak 50% dengan total bakteri cfu/ml $0,27 \cdot 10^6$. Nilai KHM berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM sebuah antibakteri, maka sentivitas dari bakteri akan semakin besar. Menurut Wattimena (1991) suatu

bakteri dikatakan mempunyai aktifitas yang tinggi bila KHM terjadi pada kadar antibakteri yang rendah tetapi mempunyai daya bunuh/daya hambat yang besar.

Konsentrasi yang digunakan untuk uji KHM bervariasi pada setiap bakteri, untuk bakteri *S.aureus* konsentrasi uji ekstrak dimulai dari 20% sampai 70%, sedangkan untuk bakteri *E.coli* dimulai dari 50% sampai 100% dengan interval konsentrasi yaitu 10%. Daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun *R.mucronata* dengan berbagai konsentrasi tersebut dapat dilihat pada Gambar 12 dan Gambar 13.



Gambar 12. Daya hambat ekstrak daun *R.mucronata* pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *S.aureus*



Gambar 13. Daya hambat ekstrak daun *R. mucronata* pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *E. coli*

Konsentrasi yang digunakan menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda terhadap bakteri uji. Bakteri *S. aureus* memiliki KHM pada konsentrasi 20% dengan daya hambat bakteri cfu/ml $3,0 \cdot 10^6$ dan pada konsentrasi 70% bakteri *S. aureus* tidak dapat tumbuh atau bersifat bakterisidal, sedangkan bakteri *E. coli* memiliki KHM pada konsentrasi 50% dengan daya hambat bakteri cfu/ml $0,27 \cdot 10^6$ dan pada konsentrasi 100% bakteri *E. coli* tidak dapat tumbuh atau bersifat bakterisidal.

Dari Gambar 12 dan Gambar 13 menunjukkan bahwa pada kedua bakteri uji terdapat korelasi positif antara konsentrasi ekstrak dengan aktivitas antibakteri, yaitu semakin besar konsentrasi ekstrak yang ditambahkan maka aktivitas antibakteri semakin besar pula yang ditunjukkan semakin sedikitnya total bakteri yang tumbuh pada cawan.

Konsentrasi daya hambat bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Hal ini disebabkan karena *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang lebih tahan terhadap berbagai jenis antibakteri karena struktur

dinding selnya yang lebih kompleks. Menurut Lay dan Hastowo (1992) infeksi oleh bakteri Gram negatif tidak selalu bisa disembuhkan dengan obat. Selain memiliki enzim β -laktamase, bakteri ini juga memiliki berbagai protein pada membran luar yang berperan dalam pertahanan terhadap molekul berbahaya termasuk antibakteri. Beberapa ciri bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat dilihat pada Tabel 8.

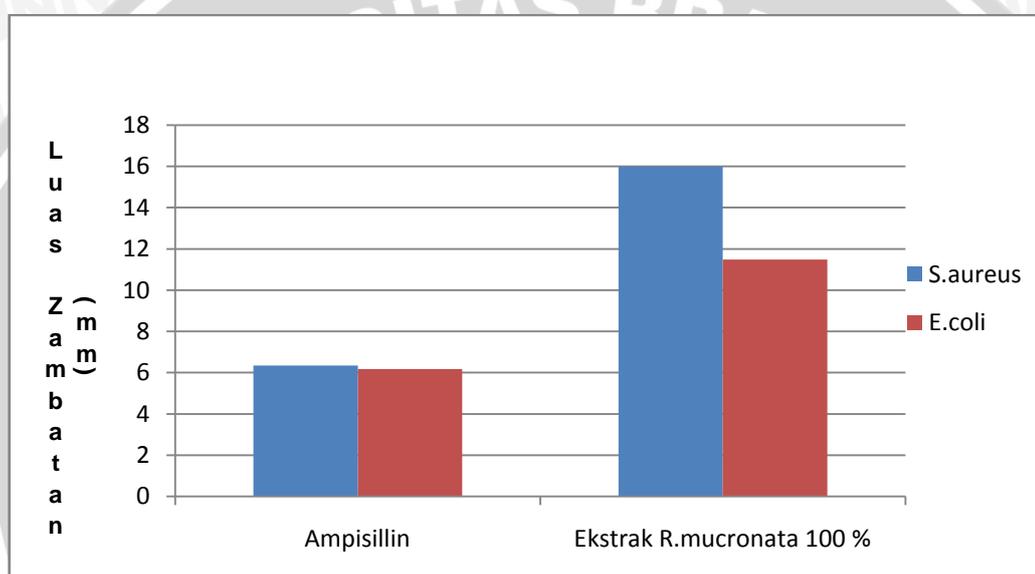
Tabel 8. Beberapa ciri bakteri Gram positif dan Gram negatif

Ciri	Perbedaan	
	Gram positif	Gram negatif
• Struktur dinding sel	• Tebal (12-80 nm) berlapis tunggal (mono)	• Tipis (10-15nm) berlapis tiga (multi)
• Komposisi dinding sel	• Kandungan lipid rendah (1-4%), peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal, komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri, memiliki asam tekoat	• Kandungan lipid tinggi (11-22%), peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam, jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering, tidak ada asam tekoat
• Kerentanan terhadap penisilin	• Lebih rentan	• Kurang rentan
• Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna dasar, misalnya ungu kristal	• Pertumbuhan dihambat dengan nyata	• Pertumbuhan tidak begitu dihambat
• Persyaratan nutrisi	• Relatif rumit pada banyak Spesies	• Relatif sederhana
• Resistensi terhadap gangguan fisik	• Lebih resisten	• Kurang resisten

Sumber: Syahrurachman, *et al* (1993).

4.2.2.3 Perbandingan Penghambatan Bakteri terhadap Ekstrak Daun *R.mucronata* dan Ampisillin

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampisillin 10 µg. Ampisillin digunakan sebagai kontrol positif dalam penentuan aktivitas antibakteri ekstrak daun *R.mucronata* karena ampisillin merupakan turunan dari penisillin yang memiliki spektrum antibakteri yang luas. Perbandingan penghambatan bakteri terhadap ekstrak daun *R.mucronata* dengan ampisillin 10 µg dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Perbandingan Daya Hambat Ampisillin dan Ekstrak *R.mucronata*

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri Gram positif (*S.aureus*) lebih mudah dihambat oleh ampisillin daripada bakteri Gram negatif (*E.coli*) tetapi dari luas zona hambat, zona hambat ekstrak daun *R.mucronata* lebih besar dari pada luas zona hambat ampisillin sebagai kontrol pembandingan dari ekstrak daun *R.mucronata*.

4.2.3 Analisis Fitokimia Ekstrak Daun *R.mucronata* (Uji Kualitatif)

Analisis fitokimia dilakukan pada ekstrak daun *R.mucronata*. Analisis fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit

pada tanaman secara kualitatif. Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit yang diharapkan dapat berperan sebagai antibakteri. Senyawa yang diuji antara lain saponin, flavonoid, tanin dan tanin gelatin.

Hasil analisis fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak daun *R.mucronata* mengandung senyawa Saponin, Flavonoid, tanin dan tanin gelatin. Pada pengujian fitokimia saponin terhadap daun *R.mucronata*, tampak terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil sekitar 10 menit setelah ditambahkan 5 ml aquades panas dan dicokok kuat dan tidak hilang pada penambahan setetes HCl, sehingga tampak adanya senyawa saponin.

Pada pengujian fitokimia flavonoid terhadap daun mangrove *R.mucronata*, tampak perubahan warna jingga setelah ditetesi metanol, ditambahi serbuk Mg dan ditetesi HCl, sehingga menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Pada pengujian fitokimia tanin terhadap daun mangrove *R.mucronata*, tampak perubahan warna ekstrak menjadi hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 , dan kemudian ditambahkan gelatin dan NaCl dan terjadi endapan menunjukkan adanya tanin.

Ketiga senyawa ini diduga sebagai senyawa antibakteri pada ekstrak daun *R.mucronata*. Hasil analisis fitokimia ini sesuai dengan Puspita (2010) yang menyatakan bahwa daun *R.mucronata* mengandung senyawa Flavonoid, saponin dan tanin.

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba. Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membran sel. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsyi, 2008).

Flavonoid dan tanin adalah senyawa fenol, dimana fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan yang umumnya ditemukan di dalam vakuola sel. Dalam dunia kedokteran, senyawa fenol telah lama dikenal sebagai zat antiseptik. Penggunaannya dipercaya dapat membunuh sejumlah bakteri. Pada konsentrasi rendah, fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran isi sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan, dimana lapisan fosfolipid disekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat berpenetrasi dengan mudah dan dapat merusak isi sel (Anonymous, 2008^d).

4.2.4 Analisis Kandungan Aktif metode GC-MS

Dari hasil uji aktivitas antibakteri memberikan daya hambat yang baik, sehingga dilanjutkan ke tahap uji GC-MS. Bahwa bahan aktif antibakteri yang dikatakan kuat dan berpotensi yaitu yang mempunyai daerah hambatan lebih besar dari 10 mm (Yuningsih, 2007). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *R.mucronata* potensial sebagai antibakteri. Hal ini dapat dilihat dari tingginya diameter zona hambat pada uji cakram baik terhadap bakteri *S.aureus* yang mencapai rata-rata 15,99 mm dan bakteri *E.coli* yang mencapai rata-rata 11,49 mm. Oleh karena itu, ekstrak tersebut diteliti lebih lanjut untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya.

Sampel ekstrak *R.mucronata* sebelum diinjeksi ke kolom sebelumnya di encerkan dengan pelarut metanol 0,1 µl, kemudian diambil ekstrak *R.mucronata* sebanyak 1 µl. Preparasi ekstrak *R.mucronata* pada uji GC-MS dan hasil senyawa yang teridentifikasi dapat dilihat pada Tabel 9 dan Tabel 10.

Tabel 9. Preparasi ekstrak *R.mucronata* pada uji GC-MS

Prinsip	Metode
Kolom	Rastek RXi-5MS
Panjang	30 meter
ID	0,25 mm
Gas pembawa	Helium
Suhu kolom oven	80°C
Suhu injeksi	310°C
Cara aliran kendali	Tekanan
Tekanan	16,5 kPa
Total aliran	80,1 ml/menit
Aliran kolom	0,50 ml/menit
Kecepatan linear	26,1 cm/detik
Pembersihan aliran	3,0 ml/menit
Rasio pembelahan	153
Suhu tekanan tinggi	Berhenti
Penghemat gas pembawa	Berhenti
Program suhu oven	Suhu (°C) waktu (menit)
	80 5.00
	305 30.00
Suhu sumber ion	250°C
Suhu permukaan	300°C
Waktu melarutkan	4.8 menit
Waktu mulai	5 menit
Waktu akhir	57 menit
Jarak waktu pembacaan	0.5 detik
Membaca dengan percepatan	1250

Tabel 10. Kandungan bioaktif dalam daun *Rhizophora mucronata*

No. puncak	Rumus molekul	Nama	BM	(%)	SI
1.	<ul style="list-style-type: none"> • C₇ H₁₂ O₂ • C₁₀H₁₈ O₂ • C₉ H₁₆ O₂ • C₇ H₁₂O₂ 	• 2,5-dimethyl-2,3-dihydro-5H-1,4-dioxepin	128	0.69	78
		• Allyl Heptoate	170		76
		• 2-Hexenal Propylene Glycol Acetal	156		76
		• Methacrylic acid, isopropyl ester, Propenoic acid, Isopropyl methacrylate	128		76
2.	C ₇ H ₈ O ₃	• 1,4 Bnezenediol	140	0.20	90
		• 2-Methoxyhydroquinone			90
		• 2-Methoxyresorcinol			89
		• 1,2-Benzenediol, 3-methoxy-			86
3.	<ul style="list-style-type: none"> • C₁₅H₂₆O₉ • C₁₅H₂₈O₇ • C₁₂H₂₀O₈ 	• Methyl 3,6-di-O-acetyl-2,4,7-tri-O-methyl-	350	0.47	68
		• Methyl 6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-ethyl	320		68
		• Methyl 3-O-acetyl-2,4-di-O-	292		67

	<ul style="list-style-type: none"> • C₁₂H₂₂O₇ • C₁₃ H₂₂O₈ 	methyl- alpha.-D-mannopyranoside • Methyl 3-O-acetyl-2,4,6-tri-O-methyl- alpha.-d-glucopyranoside • beta.-D-Mannopyranose, 2,4,6-tri-O-methyl-, diacetate	278		66
			306		66
4.	<ul style="list-style-type: none"> • C₁₆H₃₃N₃ • C₁₁H₂₂O₂ • C₁₄H₂₈O₂ • C₁₇H₃₄O₂ 	<ul style="list-style-type: none"> • Bis(2-hydroxyethyl)lauramide • Undecanoic Acid • Myristic acid • Heptadecanoic acid 	287	7.63	83
			186		82
			228		82
			270		82
5.	<ul style="list-style-type: none"> • C₇ H₁₄O₆ • C₉ H₁₆O₇ 	<ul style="list-style-type: none"> • 3-O-methyl-d-fructose • Methyl(methyl 4-O-methyl- .alpha.-d-mannopyranoside)uronate • D-Glucopyranosiduronic acid, methyl 4-O-methyl-, methyl ester 	194	89.56	82
			236		75
			236		74
6.	<ul style="list-style-type: none"> • C₁₈ H₃₄O • C₁₄ H₂₆O • C₁₈H₃₄O₂ 	<ul style="list-style-type: none"> • 9-Octadecena • 13-Tetradecenal • Heptadecene-(8)-Carbonic Acid-(1) 	266	1.46	93
			210		91
			282		90

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Peak Report Height	TIC Name
1	6.643	6.583	6.833	1356022	0.69	269743	
2	13.533	13.500	13.767	387563	0.20	57754	
3	16.356	16.283	16.433	917216	0.47	193550	
4	20.412	20.008	20.483	15011661	7.63	1279413	
5	21.581	20.483	22.092	176304701	89.56	3697034	
6	22.211	22.117	22.567	2870236	1.46	382766	
				196847399	100.00	5880260	

Tabel 15. Luas area masing-masing puncak

Kromatogram GC-MS dan senyawa-senyawa hasil identifikasi GC-MS ekstrak daun *R. mucronata*, disajikan pada Lampiran 2 Sebanyak 23 senyawa teridentifikasi dengan 6 puncak. Dari ke-23 senyawa yang teridentifikasi, terdapat beberapa senyawa yang diduga sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

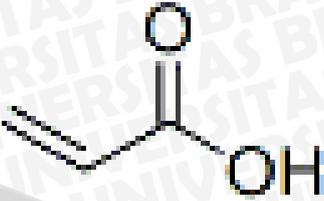
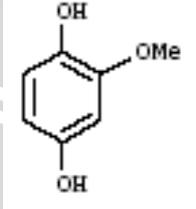
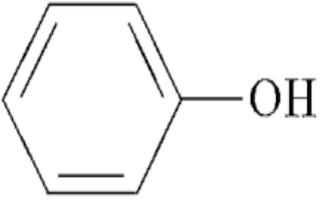
Senyawa yang pertama adalah propenoic acid yang memiliki rumus $C_7H_{12}O_2$ dengan berat molekul 128 dan similar indeks 76 yang memiliki luas area 0,69%, ketiga senyawa tersebut merupakan turunan dari senyawa fenol.

Senyawa kedua adalah 1,4 Benzenediol yang memiliki rumus $C_7H_8O_3$ dengan berat molekul 140 dan similar indeks 90 yang memiliki luas area 0,2%, senyawa ini merupakan turunan dari senyawa fenol yang biasa digunakan sebagai antibakteri.

Benzene-1,4-diol atau kinol, adalah aromatik senyawa organik yang merupakan jenis fenol, memiliki rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$ (Anonymous, 2010^b).

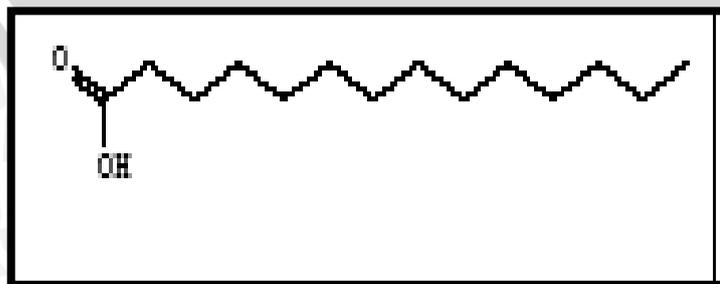
Fenol paling banyak digunakan karena senyawa tersebut tidak hanya terdapat pada antibiotik sintetik, namun pada senyawa alam yang dikenal sebagai polifenol. Apabila digunakan bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dengan mengendapkan protein sel, akan tetapi bila dalam konsentrasi rendah fenol merusak membran sel yang menyebabkan kebocoran metabolit penting dan menginaktifkan bakteri (Yuningsih, 2007). Ditambahkan oleh Kurnia (2010), senyawa fenol diketahui dapat menurunkan tegangan permukaan sel sehingga dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri.

Kehadiran fenol yang merupakan senyawa toksik mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka menjadi struktur acak tanpa adanya kerusakan pada struktur kerangka kovalen. Hal ini menyebabkan protein terdenaturasi. Deret asam amino protein tersebut tetap utuh setelah denaturasi, namun aktivitas biologisnya menjadi rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya (Hasim, 2010). Berikut adalah gambar rumus struktur senyawa Fenol.

Gambar	Rumus Struktur
16. Propenoic Acid	 <p>(Chemicalbook.com)</p>
17. 1,4 Benzenediol	 <p>(Chemicalbook.com)</p>
18. Fenol	 <p>(Chemicalbook.com)</p>

Menurut Solis, G. *et al.*, (2004), Terdapatnya gugus OH menyebabkan ketidakstabilan membran plasma dari bakteri dan merusak membran tersebut hingga terjadi kematian.

Senyawa ketiga adalah myristic acid sebesar 7,63% yang memiliki rumus $C_{14}H_{28}O_2$ dengan berat molekul 228 dan similar index 82.

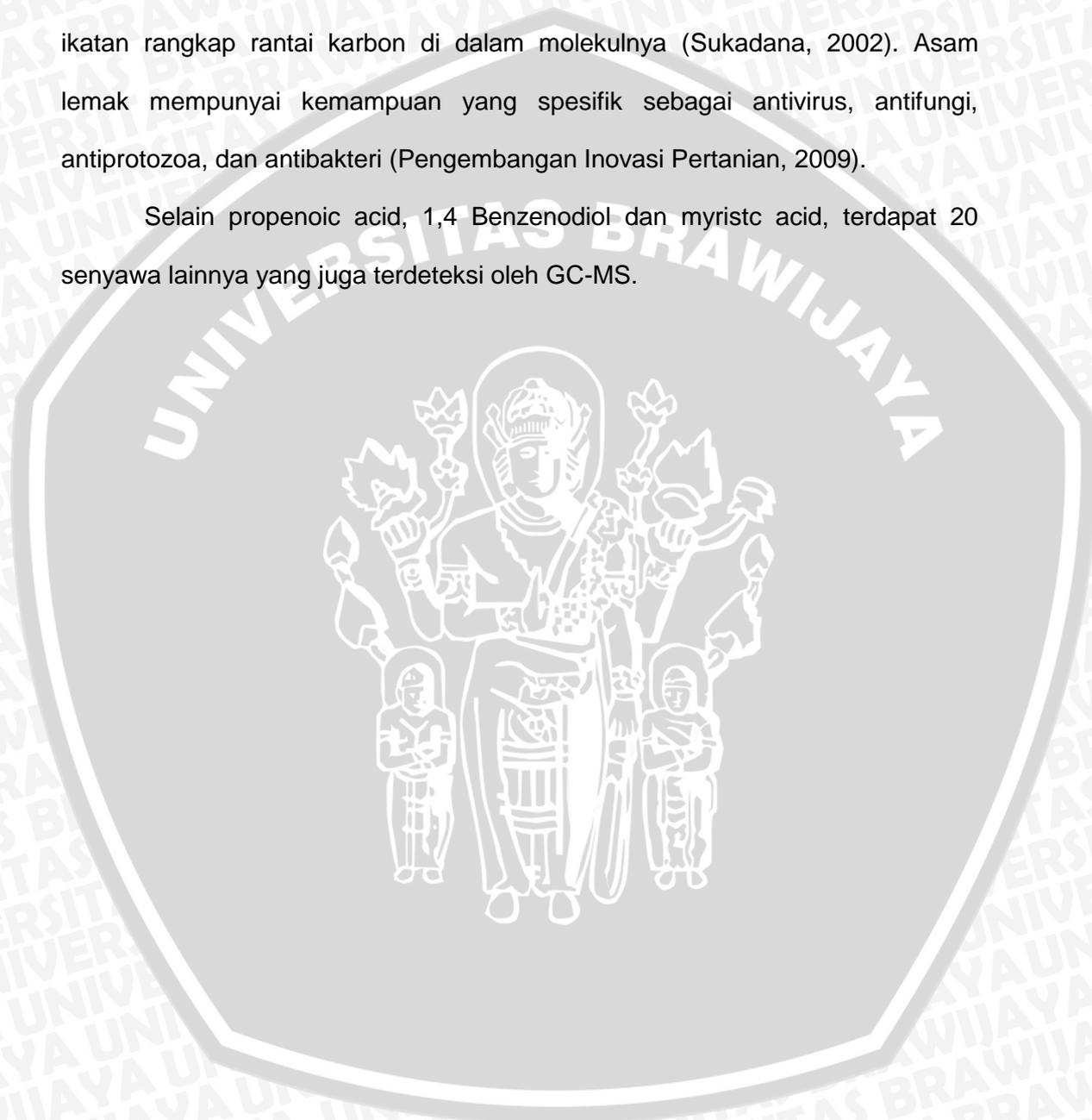


Gambar 19. Myristic acid

Myrisric acid atau asam miristat adalah salah satu jenis dari asam lemak.

Asam lemak adalah asam monokarboksilat berantai lurus yang terdapat di alam sebagai ester di dalam molekul lemak atau trigliserida, Hasil hidrolisis trigliserida akan menghasilkan asam lemak jenuh dan tak jenuh berdasarkan ada tidaknya ikatan rangkap rantai karbon di dalam molekulnya (Sukadana, 2002). Asam lemak mempunyai kemampuan yang spesifik sebagai antivirus, antifungi, antiprotozoa, dan antibakteri (Pengembangan Inovasi Pertanian, 2009).

Selain propenoic acid, 1,4 Benzenodiol dan myristic acid, terdapat 20 senyawa lainnya yang juga terdeteksi oleh GC-MS.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kasar daun *R.mucronata* dengan konsentrasi yang berbeda memiliki pengaruh terhadap aktivitas antibakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan zona hambat yang berbeda terhadap uji cakram.
2. Konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat *S.aureus* yaitu 15,99 mm dan diameter zona hambat *E.coli* yaitu 11,49 mm merupakan konsentrasi terbaik dari ekstrak daun *R.mucronata* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.
3. Ekstrak daun *R.mucronata* mengandung senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Hasil analisis GC-MS menunjukkan terdapat 23 senyawa sekunder yang terdapat pada ekstrak daun *R.mucronata*, yang paling dominan menghambat bakteri yaitu propenoic acid yang memiliki rumus molekul $C_7H_{12}O_2$ dengan berat molekul 128 dan similar indeks 76 yang memiliki luas area 0,69%, 1,4 benzenediol yang memiliki rumus molekul $C_7H_8O_3$ dengan berat molekul 140 dan similar indeks 90 yang memiliki luas area 0,2%, dan myristic acid yang memiliki rumus molekul $C_{14}H_{28}O_2$ dengan berat molekul 228 dan similar index 82 yang memiliki luas area sebesar 7,63%.

5.1 Saran

Ekstrak daun *R.mucronata* terbukti dapat menghambat *S.aureus* dan *E.coli* secara efektif. Sehubungan dengan hal tersebut maka disarankan:

1. Penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri dari batang ataupun akar *R.mucronata* terhadap bakteri. *S.aureus* dan *E.coli*.

2. Penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri dari Ekstrak daun *R.mucronata* terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* secara *in vivo*.
3. Penelitian lebih lanjut untuk pengaplikasian secara nyata untuk produk-produk pangan ataupun kepada manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Agoramoorthy, G, Fu-An C, Venugopalan V, Daih-Huang K, dan Po-Chuen S. 2008. Evaluation of Antioksidant Polyphenols from Selected Mangrove Plants of India. Department of Pharmacy, Tajen University, Yanpu, Pingtung 907, Taiwan.
- Anonymous. 2007. E. coli. <http://www.wikipedia.org>.
- _____. 2008^a. Sarang Semut. <http://sites.google.com>.
- _____. 2008^b. Mangrove. <http://oryzss.files.wordpress.com>.
- _____. 2008^c. E. Coli. <http://yalun.files.wordpress.com>.
- _____. 2008^d. Antibakteri. <http://lontar.ui.ac.id>.
- _____. 2009^a. Sumber-sumber Bahan Pangan dan Cara Menghindarinya. <http://www.smallcrab.com>.
- _____. 2009^b. Mengenal Manfaat Mangrove. <http://www.smallcrab.com>.
- _____. 2009^c. Mangrove Ecology. <http://www.sites.google.com>.
- _____. 2009^d. Bakau Hitam Rhizophora mucronata Lamk. <http://www.plantamor.com>.
- _____. 2010^a. Escherishia coli. <http://www.wikipedia.com>.
- _____. 2010^b. Hidroquinon. <http://www.wikipedia.com>
- Arsyi, A.I. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*Dhuchesnea indica* (Andr.) Focke) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeroginosa* Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. <http://etd.eprints.ums.ac.id>.
- Auris, E.P.N, 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Soxhletasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik Dan Flavonoid. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammdasiyah Surakarta. Surakarta. <http://www.journal.unair.ac.id>.
- Belqis. R. 2008. Bakteri *Staphylococcus aureus*. <http://staphylococcus aureus.blogspot.com>.

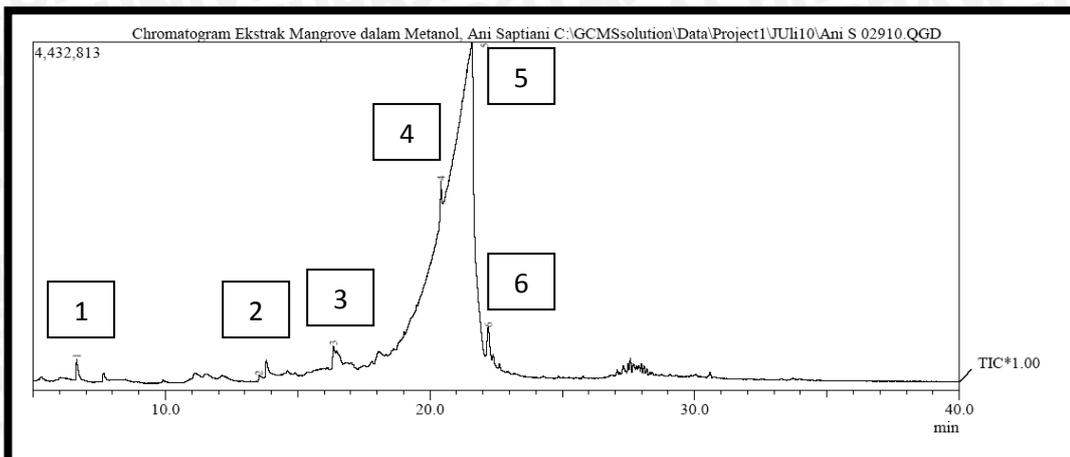
- Bonang, G. Dan E.S. Koeswardono.1982. Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik. PT. Gramedia. Jakarta.
- Bryan. 2010. Pneumonia Bakteri Gram Negatif. <http://medicastore.com>.
- Budi, W.D. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dan *Vibrio harvetii*. Program Pascasarjana. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet and M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia-Press. Jakarta.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. Clin. Microbial. Rev. 12 (4): 54-582.
- Dinda. 2008. Aktivitas Antimikroba. <http://medicafarma.blogspot.com>.
- Dzen, S.M, Roekistiningsih, Sanarto dan Sri. 2003. Bakteriologi Medik. Bayumedia Publishing. Malang.
- Dwi dan Wonarno. 2006. Hebat dan Khasiat Obat di Tubuh Mangrove. <http://www.unsjournals.com>.
- Edberg, S.C. 1986. Tes Kerentanan Antimikroba. Dalam: Antibiotika dan Infeksi. Alih Bahasa: Chandra Sanusi. CV EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- _____. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Fathiyawati. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *ficus racemosa* I Terhadap *artemia salina* Leach Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. <http://etd.eprints.ums.ac.id>.
- Gandjar, I.G dan A, Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gunawan IW, G., I G . A. Gede Bawa., dan N. L. Sutrisnawati. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Atif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. ISSN 1907-9850.
- Hartoto. 2009. Penelitian Deskriptif <http://www.penalaran-unm.org>.
- Hasim. 2010. Daun Sirih sebagai Antibakteri Pasta Gigi. <http://www.pdgi-online.com/v2/index>.

- Harborne, JB. 2006. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh: Padmawinata, K dan I, Soediro. Penerbit ITB. Bandung.
- Harmita dan Radji, M. 2008. Analisis Hayati. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Hermawan, A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk. <http://www.journal.unair.ac.id>.
- Ichwan, D.C.M. 2008. Hebatnya khasiat obat di tubuh mangrove. <http://kesemat.undip.ac.id>.
- Ika, H. 2004. Studi Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Dewa (*Gynura Procumbens* Merr) Sebagai Penangkap Radikal Bebas (Kajian Berdasarkan Cara Pengeringan Dan Senyawa Pelarut. <http://digilib.gunadarma.ac.id>.
- Jawetz, E., Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi I. Diterjemahkan Oleh Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Surabaya.
- Joko, P.T. 2009. Media Kultur Bakteri. <http://www.try4know.co.cc>.
- Juliantina, F. Ayu, C.D. Nirwani, B. Nurmasitoh, T dan Tri, B.E. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif. <http://journal.uui.ac.id>.
- Kastanya, L.Y. 2009. Antibakteri. <http://yongkikastanyaluthana.wordpress.com>.
- Kurnia,R. 2010. Antibakteri Tanaman Rempah. <http://lordbroken.wordpress.com>.
- Kompas. 2010. Manfaat Rumput Laut. <http://kompas.com>.
- Lay,B.H.1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lay W & Hastowo S. 1992. Mikrobiologi. Jakarta: Rajawali.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan. <http://library.usu.ac.id>.
- Mardoni dan Yetty, T.M.M. 2006. Perbandingan Metode Kromatografi Gas Dan Berat Jenis Pada Penetapan Kadar Etanol Dalam Minuman Anggur <http://www.usd.ac.id>.
- Melati, I, Sitti dan As'ari. 2007. Isolasi Flavonoid dari Fraksi Etil Asetat Kaliks Rosel (*Hibiscus sabradifaa* L.). [http:// bahan.alam. Fa.itb.ac.id](http://bahan.alam.Fa.itb.ac.id).

- Miha, I. 2010. Khasiat Sarang Semut <http://mihalrasyid.blogspot.com>.
- Mustikaningtyas, D. Fachriyah, E dan Suci, M.N. 2009. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*). <http://eprints.undip.ac.id>.
- Nazir, M. 1989. Metode Penelitian. PT. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Pambayun, R. Gardjito, M. Sudarmadji, S. dan Rahayu, K.K. 2007. Kandungan Fenol Dan Sifat Antibakteri Dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (*uncaria Gambir roxb*). <http://mfi.farmasi.ugm.ac.id>.
- Pengembangan inovasi pertanian. 2009. Kandungan buah kelapa dilihat dari segi kesehatan. [Http://www.smallcrab.com](http://www.smallcrab.com).
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1.2. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- _____. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Purnobasuki, H. 2004. Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat. Fakultas MIPA, Universitas Airlangga. Surabaya. <http://www.irwantoshut.com>.
- Puspitasari Y.E. Aktivitas Antidiare Ekstrak Daun Bakau *Rhizophora mucronata* Terhadap *Rattus norvegicus* Galur Wistar. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Malang. Tesis tidak diterbitkan.
- Putra, I. N. K. 2007. Studi Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
- Rachdie, P.M. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar. <http://skripsi.blogsome.com>.
- Restasari, A. Dewi, K. dan Fachriyah, E. 2009. Isolasi Dan Identifikasi Fraksi Teraktif Dari Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia catappa* linn). <http://eprints.undip.ac.id>.
- Roth, H. J. and Blaschke, G.1985. Analisis Farmasi. Alih Bahasa: Dr. Sarjono Kisman. Gajah Mada University Press.
- Setyawan, W. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Pepaya (*carica papaya* l) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Multiresisten Antibiotik. <http://etd.eprints.ums.ac.id>.

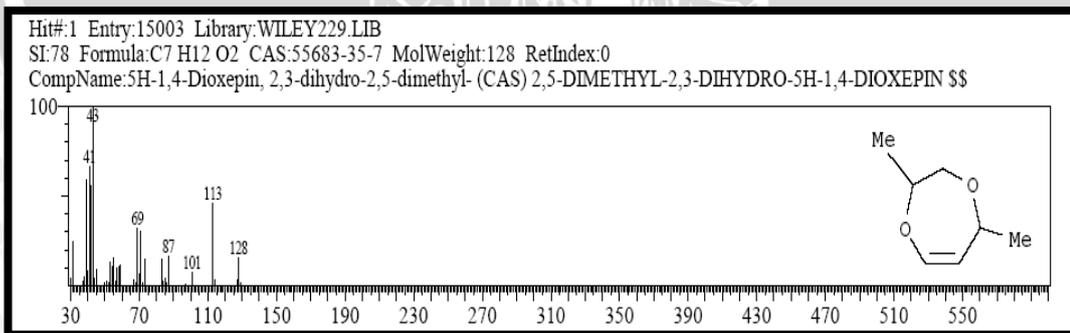
- Siagian, A. 2002. Mikroba Patogen Pada Makanan dan Sumber Pencemarannya. <http://library.usu.ac.id>.
- Solis, G., J, Becerra., G, Flores., J, Robledo., dan M, Silva. 2004. Antibacterial and Antifungal Terpen from *Pilgerodendron univerum* (D. Don) Florin. Journal of the Chilean Chemistry Society. Chile.
- Sukadana. 2002. Asam Lemak trans dalam Makanan dan Pengaruhnya terhadap Kesehatan. [Http://ejournal.unud.ac.id](http://ejournal.unud.ac.id)
- Suparjo. 2008. Saponin. <http://jajo66.files.wordpress.com>.
- Suryasubrata, S. 1989. Metodologi Penelitian. CV. Rajawali. Jakarta.
- Sutjihati, R., Soetarno, S. dan Kusmardiyani, S. 1995. Detail Penelitian Obat Bahan Alam. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>.
- Syahrurchman, A, Chatim, A, Soebandrio, W.K dan Karuniawati, A. 1993. Mikrobiologi Kedokteran. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Wibowo, W., J, gumilar., M, Alamsyah. 2008. Standart Parameter Potensi Antibiotik dalam Tinjauan Mikrobiologi. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Yuharmen, Eryanti, . dan Nurbalatif. 2002. Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*alpinia galanga*). <http://www.unri.ac.id>.
- Yuningsih, R. 2007. Aktivitas antibakteri ekstrak daun jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.). Program studi biokimia Fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam Institut pertanian bogor. Bogor <http://iirc.ipb.ac.id>
- Warsa,U.C. 1991. Mikrobiologi Kedokteran. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Wattimena. 1991. Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik. Yogyakarta: UGM
- Winarsih, S., Dzen S. M. dan Santoso S. 2003. Bakteriologi Medik. Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya. Malang.

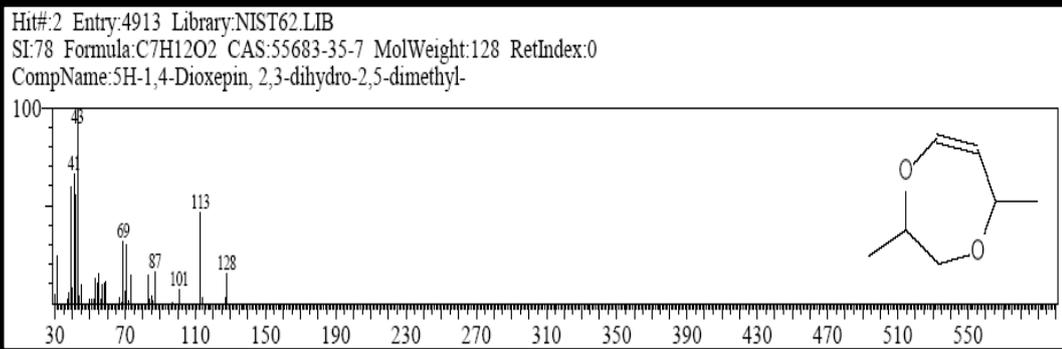
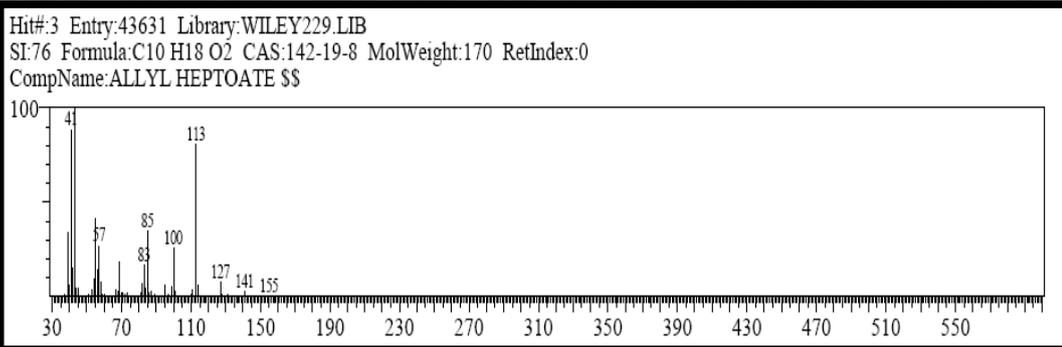
Lampiran 1. Pengujian Bioaktif dengan Metode GCMS



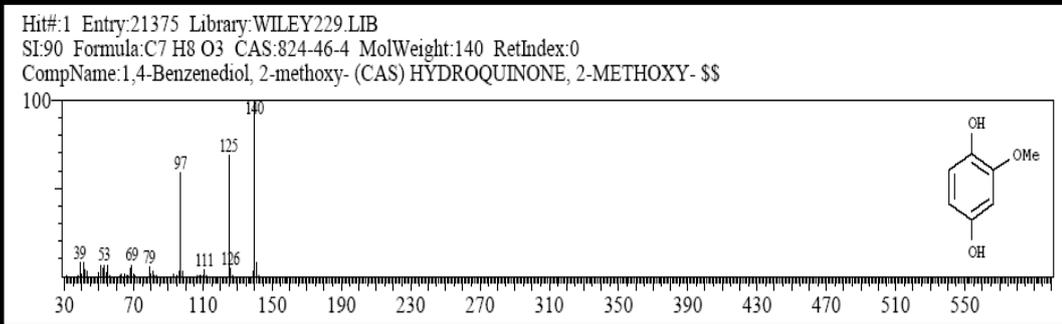
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Peak Report TIC Height	Name
1	6.643	6.583	6.833	1356022	0.69	269743	
2	13.533	13.500	13.767	387563	0.20	57754	
3	16.356	16.283	16.433	917216	0.47	193550	
4	20.412	20.008	20.483	15011661	7.63	1279413	
5	21.581	20.483	22.092	176304701	89.56	3697034	
6	22.211	22.117	22.567	2870236	1.46	382766	
				196847399	100.00	5880260	

Puncak 1

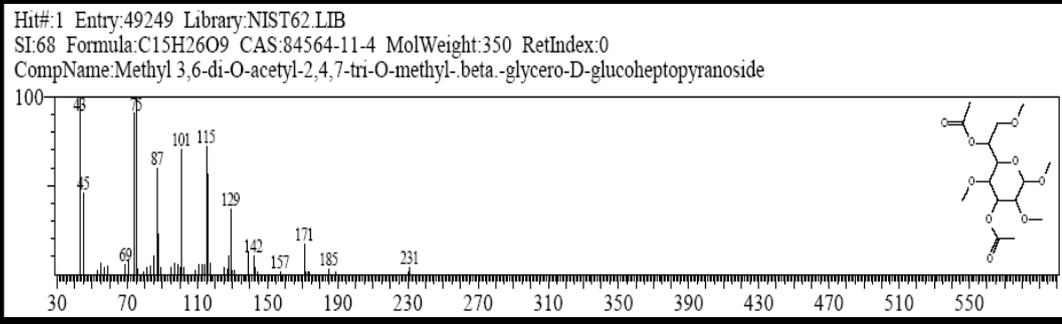




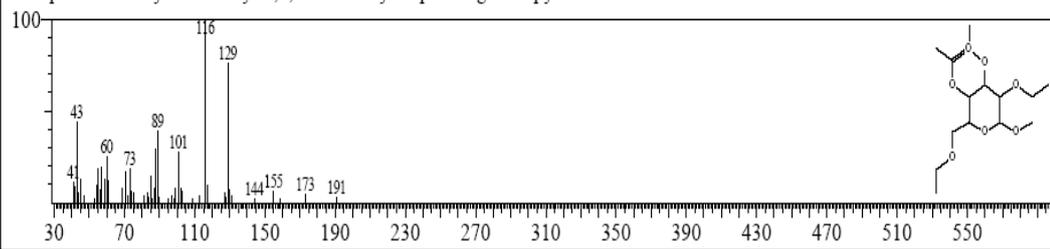
Puncak 2



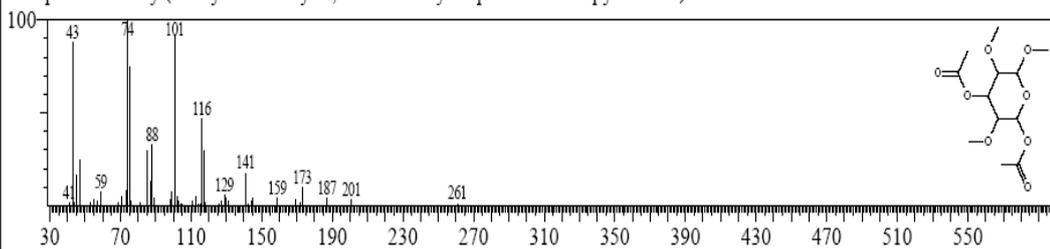
Puncak 3



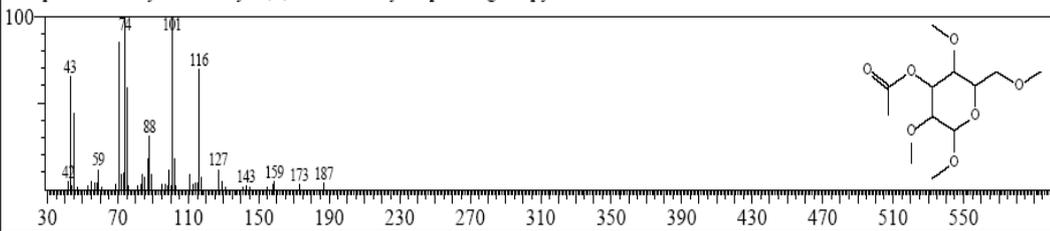
Hit#:2 Entry:45585 Library:NIST62.LIB
 SI:68 Formula:C15H28O7 CAS:0-0-0 MolWeight:320 RetIndex:0
 CompName:Methyl 6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-ethyl-.alpha.-d-galactopyranoside



Hit#:3 Entry:41434 Library:NIST62.LIB
 SI:67 Formula:C12H20O8 CAS:87910-34-7 MolWeight:292 RetIndex:0
 CompName:Methyl(methyl 3-O-acetyl-2,4-di-O-methyl-.alpha.-D-mannopyranoside)uronate

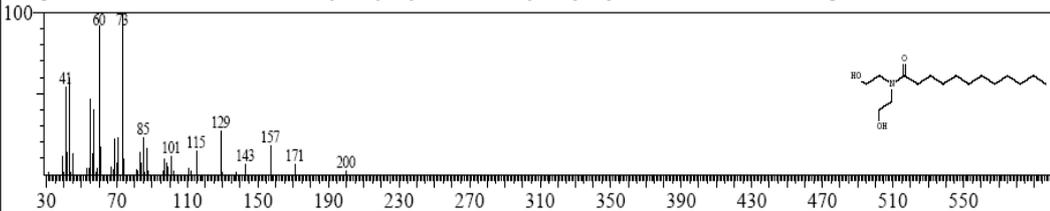


Hit#:4 Entry:39063 Library:NIST62.LIB
 SI:66 Formula:C12H22O7 CAS:24904-95-8 MolWeight:278 RetIndex:0
 CompName:Methyl 3-O-acetyl-2,4,6-tri-O-methyl-.alpha.-d-glucopyranoside

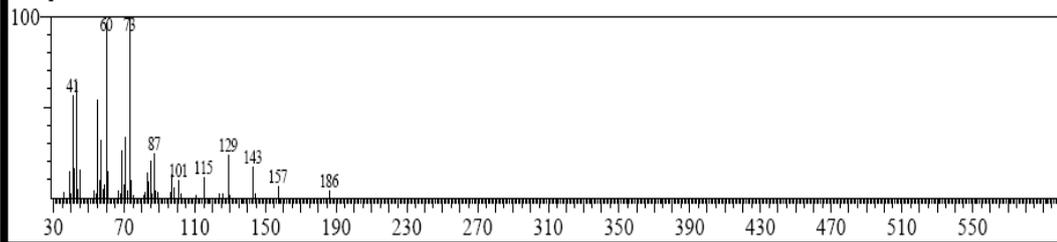


Puncak 4

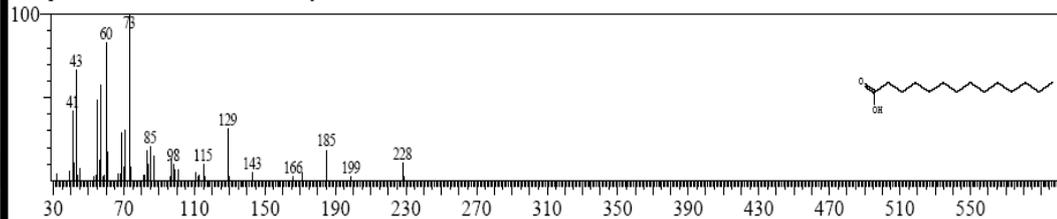
Hit#:1 Entry:40673 Library:NIST62.LIB
 SI:83 Formula:C16H33NO3 CAS:120-40-1 MolWeight:287 RetIndex:0
 CompName:Dodecanamide, N,N-bis(2-hydroxyethyl)- \$\$ Bis(2-hydroxyethyl)lauramide \$\$ Clindrol Superamide 100L \$\$ Clindrol :



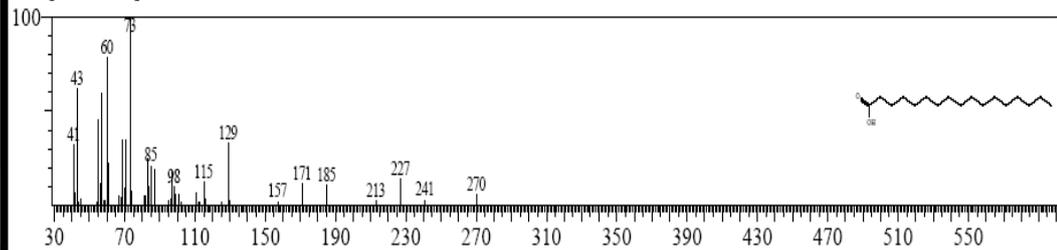
Hit#:2 Entry:56063 Library:WILEY229.LIB
 SI:82 Formula:C11 H22 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:186 RetIndex:0
 CompName:UNDECANOIC ACID \$\$



Hit#:3 Entry:29646 Library:NIST62.LIB
 SI:82 Formula:C14H28O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanoic acid \$\$ Myristic acid \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ n-Tetradecoic acid \$\$ Neo-Fat 14 \$\$ Univol U 316S \$

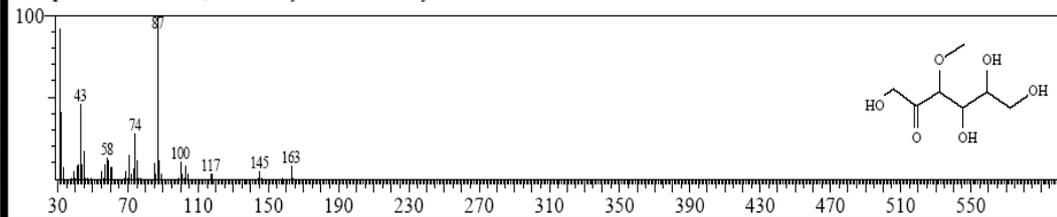


Hit#:5 Entry:9778 Library:NIST12.LIB
 SI:82 Formula:C17H34O2 CAS:506-12-7 MolWeight:270 RetIndex:0
 CompName:Heptadecanoic acid

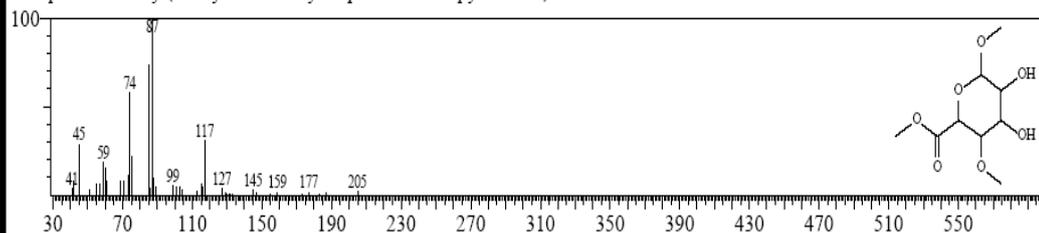


Puncak 5

Hit#:2 Entry:21075 Library:NIST62.LIB
 SI:79 Formula:C7H14O6 CAS:36256-85-6 MolWeight:194 RetIndex:0
 CompName:D-Fructose, 3-O-methyl- \$\$ 3-O-Methyl-D-fructose

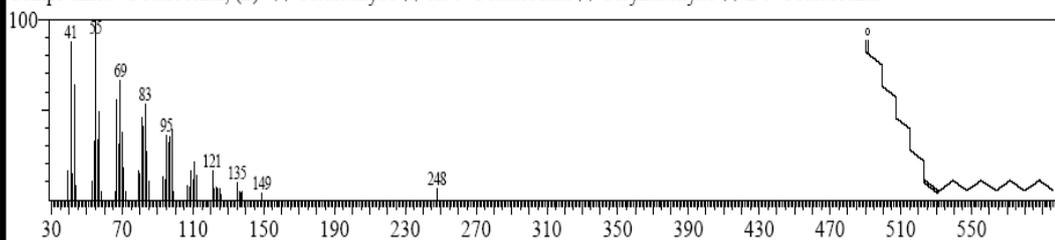


Hit#:4 Entry:30966 Library:NIST62.LIB
 SI:75 Formula:C9H16O7 CAS:24916-47-0 MolWeight:236 RefIndex:0
 CompName:Methyl(methyl 4-O-methyl- α -D-mannopyranoside)uronate

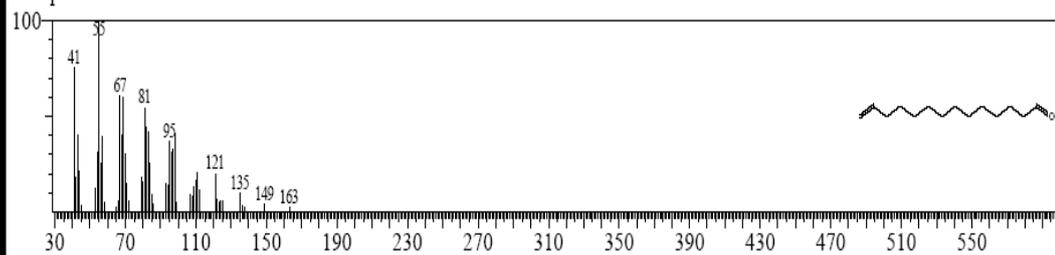


Puncak 6

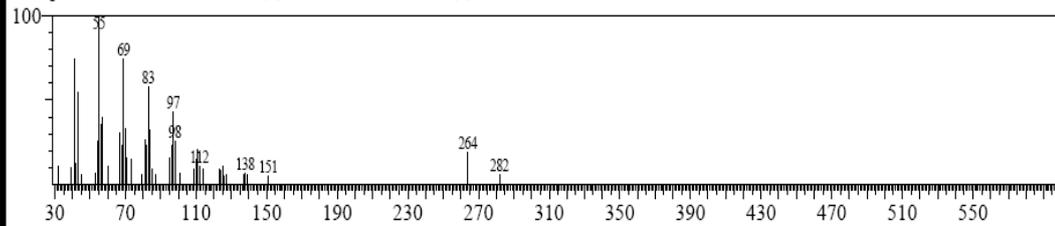
Hit#:1 Entry:37039 Library:NIST62.LIB
 SI:93 Formula:C18H34O CAS:2423-10-1 MolWeight:266 RefIndex:0
 CompName:9-Octadecenal, (Z)- \$\$ Olealdehyde \$\$ cis-9-Octadecenal \$\$ Oleylaldehyde \$\$ Z-9-Octadecenal



Hit#:4 Entry:25453 Library:NIST62.LIB
 SI:91 Formula:C14H26O CAS:85896-31-7 MolWeight:210 RefIndex:0
 CompName:13-Tetradecenal



Hit#:5 Entry:133166 Library:WILEY229.LIB
 SI:90 Formula:C18H34O2 CAS:0-0-0 MolWeight:282 RefIndex:0
 CompName:HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) \$\$



Lampiran 2. Analisis Data dengan SPSS 11.5

A. Analisis Zona Hambat Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					p0	3		
p1	3	6.3467	.00577	.00333	6.3323	6.3610	6.34	6.35
p2	3	7.2267	.01528	.00882	7.1887	7.2646	7.21	7.24
p3	3	7.3933	.06658	.03844	7.2279	7.5587	7.35	7.47
p4	3	10.1467	.08327	.04807	9.9398	10.3535	10.08	10.24
p5	3	10.7267	.39311	.22696	9.7501	11.7032	10.48	11.18
p6	3	12.9933	.10116	.05840	12.7420	13.2446	12.93	13.11
p7	3	15.9933	.20551	.11865	15.4828	16.5038	15.86	16.23
Total	24	9.6058	3.38807	.69159	8.1752	11.0365	6.02	16.23

Test of Homogeneity of Variances

Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.952	7	16	.000

One Way ANOVA

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F Hitung	Sig.
Between Groups (Combined)	263.580	7	37.654	1377.806	.000
Linear Term	241.530	1	241.530	8837.817	.000
Contrast Deviation	22.050	6	3.675	134.471	.000
Within Groups	.437	16	.027		
Total	264.017	23			

F Tabel: 2.66

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

	(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	p0	p1	-.3267	.13498	.295	-.7940	.1407
		p2	-1.2067(*)	.13498	.000	-1.6740	-.7393
		p3	-1.3733(*)	.13498	.000	-1.8407	-.9060
		p4	-4.1267(*)	.13498	.000	-4.5940	-3.6593
		p5	-4.7067(*)	.13498	.000	-5.1740	-4.2393
		p6	-6.9733(*)	.13498	.000	-7.4407	-6.5060
		p7	-9.9733(*)	.13498	.000	-10.4407	-9.5060
	p1	p0	.3267	.13498	.295	-.1407	.7940
		p2	-.8800(*)	.13498	.000	-1.3473	-.4127
		p3	-1.0467(*)	.13498	.000	-1.5140	-.5793
		p4	-3.8000(*)	.13498	.000	-4.2673	-3.3327
		p5	-4.3800(*)	.13498	.000	-4.8473	-3.9127
		p6	-6.6467(*)	.13498	.000	-7.1140	-6.1793
		p7	-9.6467(*)	.13498	.000	-10.1140	-9.1793
	p2	p0	1.2067(*)	.13498	.000	.7393	1.6740
		p1	.8800(*)	.13498	.000	.4127	1.3473
		p3	-.1667	.13498	.909	-.6340	.3007
		p4	-2.9200(*)	.13498	.000	-3.3873	-2.4527
		p5	-3.5000(*)	.13498	.000	-3.9673	-3.0327
		p6	-5.7667(*)	.13498	.000	-6.2340	-5.2993
		p7	-8.7667(*)	.13498	.000	-9.2340	-8.2993
	p3	p0	1.3733(*)	.13498	.000	.9060	1.8407
		p1	1.0467(*)	.13498	.000	.5793	1.5140
		p2	.1667	.13498	.909	-.3007	.6340
		p4	-2.7533(*)	.13498	.000	-3.2207	-2.2860
		p5	-3.3333(*)	.13498	.000	-3.8007	-2.8660
		p6	-5.6000(*)	.13498	.000	-6.0673	-5.1327
		p7	-8.6000(*)	.13498	.000	-9.0673	-8.1327
p4	p0	4.1267(*)	.13498	.000	3.6593	4.5940	
	p1	3.8000(*)	.13498	.000	3.3327	4.2673	
	p2	2.9200(*)	.13498	.000	2.4527	3.3873	
	p3	2.7533(*)	.13498	.000	2.2860	3.2207	
	p5	-.5800(*)	.13498	.010	-1.0473	-.1127	
	p6	-2.8467(*)	.13498	.000	-3.3140	-2.3793	
	p7	-5.8467(*)	.13498	.000	-6.3140	-5.3793	
p5	p0	4.7067(*)	.13498	.000	4.2393	5.1740	
	p1	4.3800(*)	.13498	.000	3.9127	4.8473	
	p2	3.5000(*)	.13498	.000	3.0327	3.9673	
	p3	3.3333(*)	.13498	.000	2.8660	3.8007	
	p4	.5800(*)	.13498	.010	.1127	1.0473	
	p6	-2.2667(*)	.13498	.000	-2.7340	-1.7993	
	p7	-5.2667(*)	.13498	.000	-5.7340	-4.7993	
p6	p0	6.9733(*)	.13498	.000	6.5060	7.4407	

		p1	6.6467(*)	.13498	.000	6.1793	7.1140
		p2	5.7667(*)	.13498	.000	5.2993	6.2340
		p3	5.6000(*)	.13498	.000	5.1327	6.0673
		p4	2.8467(*)	.13498	.000	2.3793	3.3140
		p5	2.2667(*)	.13498	.000	1.7993	2.7340
		p7	-3.0000(*)	.13498	.000	-3.4673	-2.5327
	p7	p0	9.9733(*)	.13498	.000	9.5060	10.4407
		p1	9.6467(*)	.13498	.000	9.1793	10.1140
		p2	8.7667(*)	.13498	.000	8.2993	9.2340
		p3	8.6000(*)	.13498	.000	8.1327	9.0673
		p4	5.8467(*)	.13498	.000	5.3793	6.3140
		p5	5.2667(*)	.13498	.000	4.7993	5.7340
		p6	3.0000(*)	.13498	.000	2.5327	3.4673
Bonferroni	p0	p1	-.3267	.13498	.778	-.8315	.1781
		p2	-1.2067(*)	.13498	.000	-1.7115	-.7019
		p3	-1.3733(*)	.13498	.000	-1.8781	-.8685
		p4	-4.1267(*)	.13498	.000	-4.6315	-3.6219
		p5	-4.7067(*)	.13498	.000	-5.2115	-4.2019
		p6	-6.9733(*)	.13498	.000	-7.4781	-6.4685
		p7	-9.9733(*)	.13498	.000	-10.4781	-9.4685
	p1	p0	.3267	.13498	.778	-.1781	.8315
		p2	-.8800(*)	.13498	.000	-1.3848	-.3752
		p3	-1.0467(*)	.13498	.000	-1.5515	-.5419
		p4	-3.8000(*)	.13498	.000	-4.3048	-3.2952
		p5	-4.3800(*)	.13498	.000	-4.8848	-3.8752
		p6	-6.6467(*)	.13498	.000	-7.1515	-6.1419
		p7	-9.6467(*)	.13498	.000	-10.1515	-9.1419
	p2	p0	1.2067(*)	.13498	.000	.7019	1.7115
		p1	.8800(*)	.13498	.000	.3752	1.3848
		p3	-.1667	.13498	1.000	-.6715	.3381
		p4	-2.9200(*)	.13498	.000	-3.4248	-2.4152
		p5	-3.5000(*)	.13498	.000	-4.0048	-2.9952
		p6	-5.7667(*)	.13498	.000	-6.2715	-5.2619
		p7	-8.7667(*)	.13498	.000	-9.2715	-8.2619
	p3	p0	1.3733(*)	.13498	.000	.8685	1.8781
		p1	1.0467(*)	.13498	.000	.5419	1.5515
		p2	.1667	.13498	1.000	-.3381	.6715
		p4	-2.7533(*)	.13498	.000	-3.2581	-2.2485
		p5	-3.3333(*)	.13498	.000	-3.8381	-2.8285
		p6	-5.6000(*)	.13498	.000	-6.1048	-5.0952
		p7	-8.6000(*)	.13498	.000	-9.1048	-8.0952
	p4	p0	4.1267(*)	.13498	.000	3.6219	4.6315
		p1	3.8000(*)	.13498	.000	3.2952	4.3048
		p2	2.9200(*)	.13498	.000	2.4152	3.4248
		p3	2.7533(*)	.13498	.000	2.2485	3.2581
		p5	-.5800(*)	.13498	.016	-1.0848	-.0752
		p6	-2.8467(*)	.13498	.000	-3.3515	-2.3419
		p7	-5.8467(*)	.13498	.000	-6.3515	-5.3419
	p5	p0	4.7067(*)	.13498	.000	4.2019	5.2115
		p1	4.3800(*)	.13498	.000	3.8752	4.8848



p6	p2	3.5000(*)	.13498	.000	2.9952	4.0048
	p3	3.3333(*)	.13498	.000	2.8285	3.8381
	p4	.5800(*)	.13498	.016	.0752	1.0848
	p6	-2.2667(*)	.13498	.000	-2.7715	-1.7619
	p7	-5.2667(*)	.13498	.000	-5.7715	-4.7619
	p0	6.9733(*)	.13498	.000	6.4685	7.4781
	p1	6.6467(*)	.13498	.000	6.1419	7.1515
p7	p2	5.7667(*)	.13498	.000	5.2619	6.2715
	p3	5.6000(*)	.13498	.000	5.0952	6.1048
	p4	2.8467(*)	.13498	.000	2.3419	3.3515
	p5	2.2667(*)	.13498	.000	1.7619	2.7715
	p7	-3.0000(*)	.13498	.000	-3.5048	-2.4952
	p0	9.9733(*)	.13498	.000	9.4685	10.4781
	p1	9.6467(*)	.13498	.000	9.1419	10.1515
	p2	8.7667(*)	.13498	.000	8.2619	9.2715
	p3	8.6000(*)	.13498	.000	8.0952	9.1048
	p4	5.8467(*)	.13498	.000	5.3419	6.3515
p5	5.2667(*)	.13498	.000	4.7619	5.7715	
p6	3.0000(*)	.13498	.000	2.4952	3.5048	

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

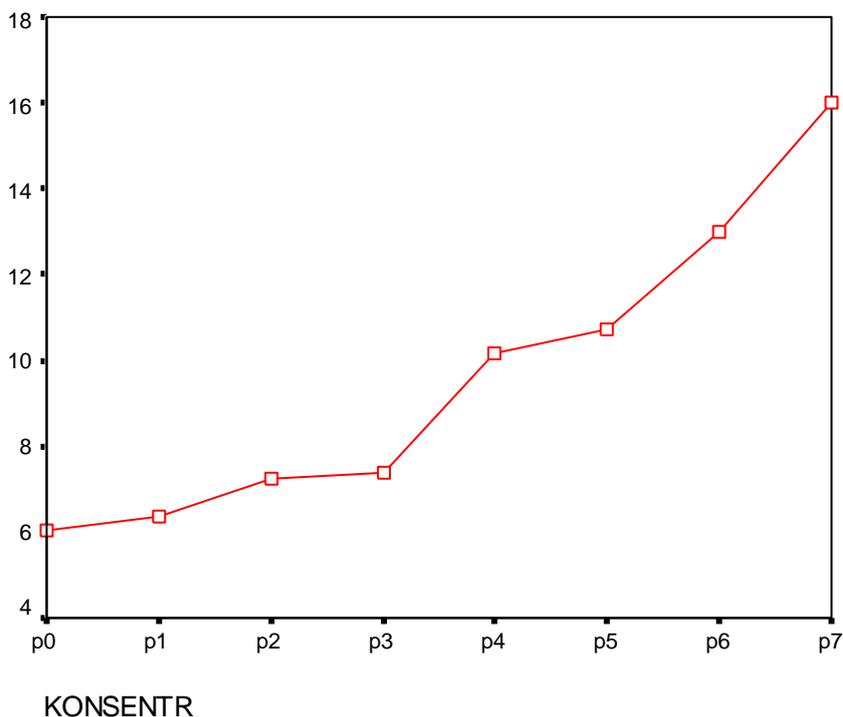
Zona Hambat

	Konsentrasi	N	Subset for alpha = .05					
			1	2	3	4	5	6
Tukey HSD(a)	p0	3	6.0200					
	p1	3	6.3467					
	p2	3		7.2267				
	p3	3		7.3933				
	p4	3			10.1467			
	p5	3				10.7267		
	p6	3					12.9933	
	p7	3						15.9933
	Sig.		.295	.909	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Means Plots



B. Analisis Zona Hambat Bakteri *E.coli*

Descriptives

Zona Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
p0	3	6.0133	.00577	.00333	5.9990	6.0277	6.01	6.02
p1	3	6.1833	.01155	.00667	6.1546	6.2120	6.17	6.19
p2	3	6.5667	.01528	.00882	6.5287	6.6046	6.55	6.58
p3	3	7.1633	.00577	.00333	7.1490	7.1777	7.16	7.17
p4	3	7.4933	.02309	.01333	7.4360	7.5507	7.48	7.52
p5	3	8.6567	.03215	.01856	8.5768	8.7365	8.62	8.68
p6	3	9.1567	.06429	.03712	8.9970	9.3164	9.11	9.23
p7	3	11.4867	.07506	.04333	11.3002	11.6731	11.41	11.56
Total	24	7.8400	1.76883	.36106	7.0931	8.5869	6.01	11.56



Test of Homogeneity of Variances

Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.386	7	16	.021

One Way ANOVA

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F Hitung	Sig.
Between Groups (Combined)	71.938	7	10.277	6987.124	.000
Linear Term	63.815	1	63.815	43387.071	.000
Contrast Deviation	8.123	6	1.354	920.466	.000
Within Groups	.024	16	.001		
Total	71.962	23			

F tabel: 2.66

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

	(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	p0	p1	-.1700(*)	.03131	.001	-.2784	-.0616
		p2	-.5533(*)	.03131	.000	-.6617	-.4449
		p3	-1.1500(*)	.03131	.000	-1.2584	-1.0416
		p4	-1.4800(*)	.03131	.000	-1.5884	-1.3716
		p5	-2.6433(*)	.03131	.000	-2.7517	-2.5349
		p6	-3.1433(*)	.03131	.000	-3.2517	-3.0349
		p7	-5.4733(*)	.03131	.000	-5.5817	-5.3649
	p1	p0	.1700(*)	.03131	.001	.0616	.2784
		p2	-.3833(*)	.03131	.000	-.4917	-.2749
		p3	-.9800(*)	.03131	.000	-1.0884	-.8716
		p4	-1.3100(*)	.03131	.000	-1.4184	-1.2016
		p5	-2.4733(*)	.03131	.000	-2.5817	-2.3649
		p6	-2.9733(*)	.03131	.000	-3.0817	-2.8649
		p7	-5.3033(*)	.03131	.000	-5.4117	-5.1949
	p2	p0	.5533(*)	.03131	.000	.4449	.6617
		p1	.3833(*)	.03131	.000	.2749	.4917
		p3	-.5967(*)	.03131	.000	-.7051	-.4883
		p4	-.9267(*)	.03131	.000	-1.0351	-.8183
		p5	-2.0900(*)	.03131	.000	-2.1984	-1.9816

	p6	-2.5900(*)	.03131	.000	-2.6984	-2.4816	
	p7	-4.9200(*)	.03131	.000	-5.0284	-4.8116	
p3	p0	1.1500(*)	.03131	.000	1.0416	1.2584	
	p1	.9800(*)	.03131	.000	.8716	1.0884	
	p2	.5967(*)	.03131	.000	.4883	.7051	
	p4	-.3300(*)	.03131	.000	-.4384	-.2216	
	p5	-1.4933(*)	.03131	.000	-1.6017	-1.3849	
	p6	-1.9933(*)	.03131	.000	-2.1017	-1.8849	
	p7	-4.3233(*)	.03131	.000	-4.4317	-4.2149	
p4	p0	1.4800(*)	.03131	.000	1.3716	1.5884	
	p1	1.3100(*)	.03131	.000	1.2016	1.4184	
	p2	.9267(*)	.03131	.000	.8183	1.0351	
	p3	.3300(*)	.03131	.000	.2216	.4384	
	p5	-1.1633(*)	.03131	.000	-1.2717	-1.0549	
	p6	-1.6633(*)	.03131	.000	-1.7717	-1.5549	
	p7	-3.9933(*)	.03131	.000	-4.1017	-3.8849	
p5	p0	2.6433(*)	.03131	.000	2.5349	2.7517	
	p1	2.4733(*)	.03131	.000	2.3649	2.5817	
	p2	2.0900(*)	.03131	.000	1.9816	2.1984	
	p3	1.4933(*)	.03131	.000	1.3849	1.6017	
	p4	1.1633(*)	.03131	.000	1.0549	1.2717	
	p6	-.5000(*)	.03131	.000	-.6084	-.3916	
	p7	-2.8300(*)	.03131	.000	-2.9384	-2.7216	
p6	p0	3.1433(*)	.03131	.000	3.0349	3.2517	
	p1	2.9733(*)	.03131	.000	2.8649	3.0817	
	p2	2.5900(*)	.03131	.000	2.4816	2.6984	
	p3	1.9933(*)	.03131	.000	1.8849	2.1017	
	p4	1.6633(*)	.03131	.000	1.5549	1.7717	
	p5	.5000(*)	.03131	.000	.3916	.6084	
	p7	-2.3300(*)	.03131	.000	-2.4384	-2.2216	
p7	p0	5.4733(*)	.03131	.000	5.3649	5.5817	
	p1	5.3033(*)	.03131	.000	5.1949	5.4117	
	p2	4.9200(*)	.03131	.000	4.8116	5.0284	
	p3	4.3233(*)	.03131	.000	4.2149	4.4317	
	p4	3.9933(*)	.03131	.000	3.8849	4.1017	
	p5	2.8300(*)	.03131	.000	2.7216	2.9384	
	p6	2.3300(*)	.03131	.000	2.2216	2.4384	
Bonfe rroni	p0	p1	-.1700(*)	.03131	.002	-.2871	-.0529
	p2	-.5533(*)	.03131	.000	-.6704	-.4362	
	p3	-1.1500(*)	.03131	.000	-1.2671	-1.0329	
	p4	-1.4800(*)	.03131	.000	-1.5971	-1.3629	
	p5	-2.6433(*)	.03131	.000	-2.7604	-2.5262	
	p6	-3.1433(*)	.03131	.000	-3.2604	-3.0262	
	p7	-5.4733(*)	.03131	.000	-5.5904	-5.3562	
p1	p0	.1700(*)	.03131	.002	.0529	.2871	
	p2	-.3833(*)	.03131	.000	-.5004	-.2662	
	p3	-.9800(*)	.03131	.000	-1.0971	-.8629	
	p4	-1.3100(*)	.03131	.000	-1.4271	-1.1929	
	p5	-2.4733(*)	.03131	.000	-2.5904	-2.3562	
	p6	-2.9733(*)	.03131	.000	-3.0904	-2.8562	

p2	p7	-5.3033(*)	.03131	.000	-5.4204	-5.1862
	p0	.5533(*)	.03131	.000	.4362	.6704
	p1	.3833(*)	.03131	.000	.2662	.5004
	p3	-.5967(*)	.03131	.000	-.7138	-.4796
	p4	-.9267(*)	.03131	.000	-1.0438	-.8096
	p5	-2.0900(*)	.03131	.000	-2.2071	-1.9729
	p6	-2.5900(*)	.03131	.000	-2.7071	-2.4729
p3	p7	-4.9200(*)	.03131	.000	-5.0371	-4.8029
	p0	1.1500(*)	.03131	.000	1.0329	1.2671
	p1	.9800(*)	.03131	.000	.8629	1.0971
	p2	.5967(*)	.03131	.000	.4796	.7138
	p4	-.3300(*)	.03131	.000	-.4471	-.2129
	p5	-1.4933(*)	.03131	.000	-1.6104	-1.3762
	p6	-1.9933(*)	.03131	.000	-2.1104	-1.8762
p4	p7	-4.3233(*)	.03131	.000	-4.4404	-4.2062
	p0	1.4800(*)	.03131	.000	1.3629	1.5971
	p1	1.3100(*)	.03131	.000	1.1929	1.4271
	p2	.9267(*)	.03131	.000	.8096	1.0438
	p3	.3300(*)	.03131	.000	.2129	.4471
	p5	-1.1633(*)	.03131	.000	-1.2804	-1.0462
	p6	-1.6633(*)	.03131	.000	-1.7804	-1.5462
p5	p7	-3.9933(*)	.03131	.000	-4.1104	-3.8762
	p0	2.6433(*)	.03131	.000	2.5262	2.7604
	p1	2.4733(*)	.03131	.000	2.3562	2.5904
	p2	2.0900(*)	.03131	.000	1.9729	2.2071
	p3	1.4933(*)	.03131	.000	1.3762	1.6104
	p4	1.1633(*)	.03131	.000	1.0462	1.2804
	p6	-.5000(*)	.03131	.000	-.6171	-.3829
p6	p7	-2.8300(*)	.03131	.000	-2.9471	-2.7129
	p0	3.1433(*)	.03131	.000	3.0262	3.2604
	p1	2.9733(*)	.03131	.000	2.8562	3.0904
	p2	2.5900(*)	.03131	.000	2.4729	2.7071
	p3	1.9933(*)	.03131	.000	1.8762	2.1104
	p4	1.6633(*)	.03131	.000	1.5462	1.7804
	p5	.5000(*)	.03131	.000	.3829	.6171
p7	p7	-2.3300(*)	.03131	.000	-2.4471	-2.2129
	p0	5.4733(*)	.03131	.000	5.3562	5.5904
	p1	5.3033(*)	.03131	.000	5.1862	5.4204
	p2	4.9200(*)	.03131	.000	4.8029	5.0371
	p3	4.3233(*)	.03131	.000	4.2062	4.4404
	p4	3.9933(*)	.03131	.000	3.8762	4.1104
	p5	2.8300(*)	.03131	.000	2.7129	2.9471
p6	2.3300(*)	.03131	.000	2.2129	2.4471	

* The mean difference is significant at the .05 level.

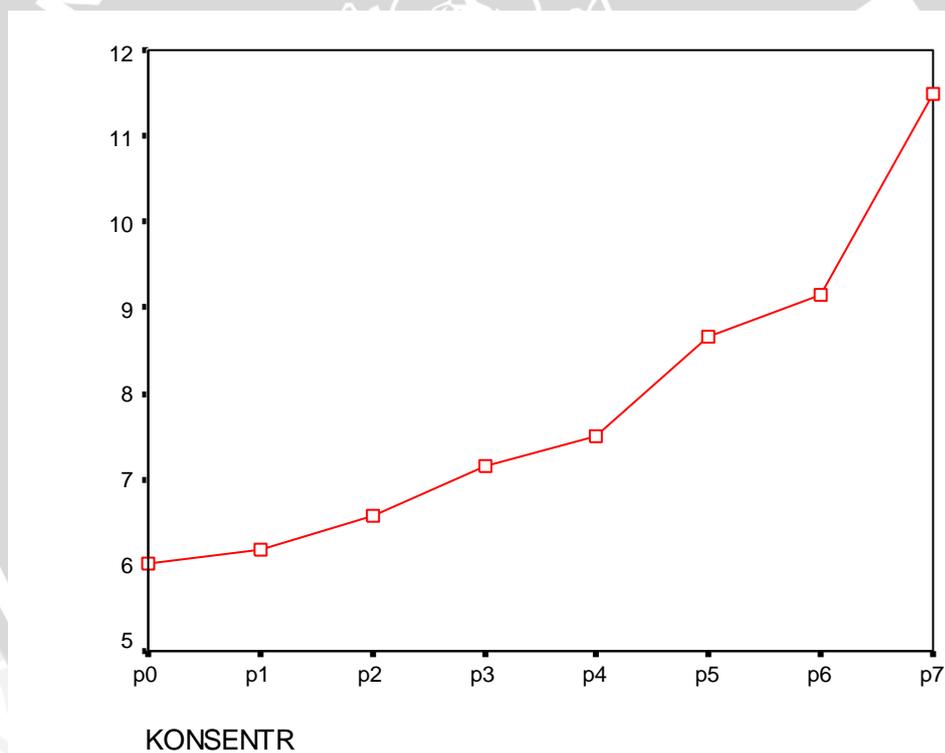
Homogeneous Subsets

CAKRAM

	Konsent rasi	N	Subset for alpha = .05								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
Tukey HSD(a)	p0	3	6.0133								
	p1	3		6.1833							
	p2	3			6.5667						
	p3	3				7.1633					
	p4	3					7.4933				
	p5	3						8.6567			
	p6	3							9.1567		
	p7	3								11.4867	
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Means Plots



Lampiran 3. Cara Perhitungan Volume Ekstrak *Rhizophora mucronata*

$$\text{Rumus Pengenceran : } N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2.$$

N_1 = konsentrasi yang digunakan, V_1 = Volume ekstrak *Rhizophora mucronata* yang diperlukan, N_2 = Konsentrasi stok ekstrak *Rhizophora mucronata* (100%),
 V_2 = Volume yang digunakan (1 ml)

1. Konsentrasi 50 %

$$50 \% * 1 \text{ ml} = 100 \% * V_1$$

$$V_1 = \frac{50\% \times 1 \text{ ml}}{100\%} = 0,5 \text{ ml}$$

Volume aquades = 1 ml - volume ekstrak *Rhizophora mucronata*



Lampiran 4. Gambar Hasil Penelitian



Daun muda *R.mucronata*



Pengeringan daun *R.mucronata*



Daun Kering *R.mucronata*



Penghalusan



Maserasi 3x24 jam



Penyaringan



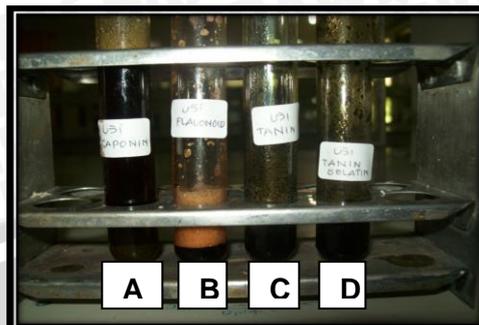
Hasil Penyaringan



Dievaporasi

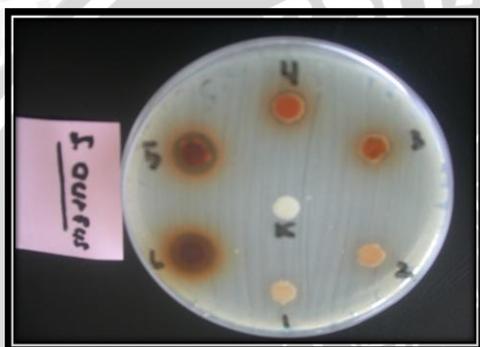


Ekstrak daun *R.mucronata*



Uji Fitokimia

Keterangan uji fitokimia
A: Saponin B: Flavonoid C&D: Tanin



Uji Cakram bakteri *S.aureus*

Keterangan konsentrasi ekstrak daun *R.mucronata*
K: Kontrol (-)
1: 50% 2: 60%
3: 70% 4: 80%
5: 90% 6: 100%



Uji Cakram bakteri *E.coli*

Keterangan konsentrasi ekstrak daun *R.mucronata*
K: Kontrol (-)
1: 50% 2: 60%
3: 70% 4: 80%
5: 90% 6: 100%



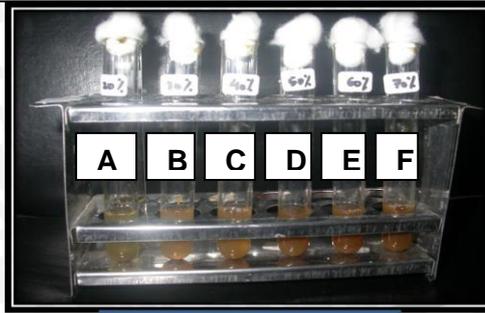
Kontrol (+)

Keterangan konsentrasi ampisilin
10 µg bakteri *S.aureus* 6 kali ulangan



Kontrol (+)

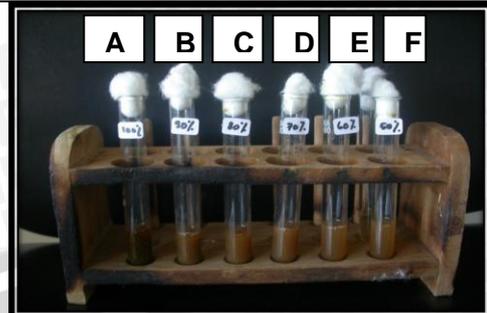
Keterangan konsentrasi ampisilin
10 µg bakteri *E.coli* 6 kali ulangan



Uji MIC bakteri *S.aureus*

Keterangan:
 Tabung reaksi dengan konsentrasi ekstrak *R.mucronata*
 A: 20% D: 50%
 B: 30% E: 60%
 C: 40% F: 70%

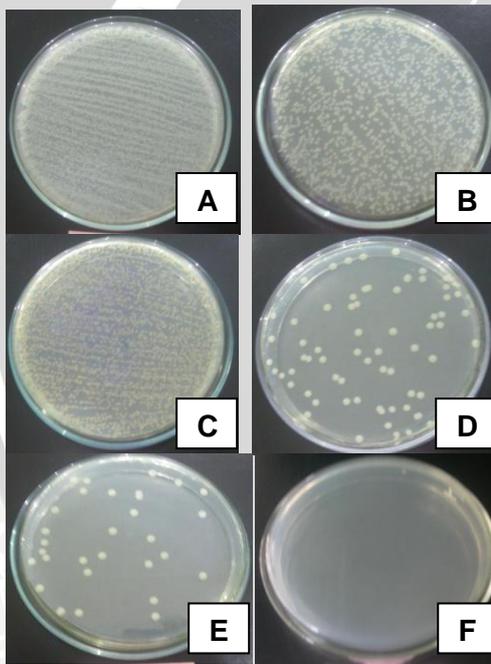
Gambar Uji MIC Bakteri *S.aureus*



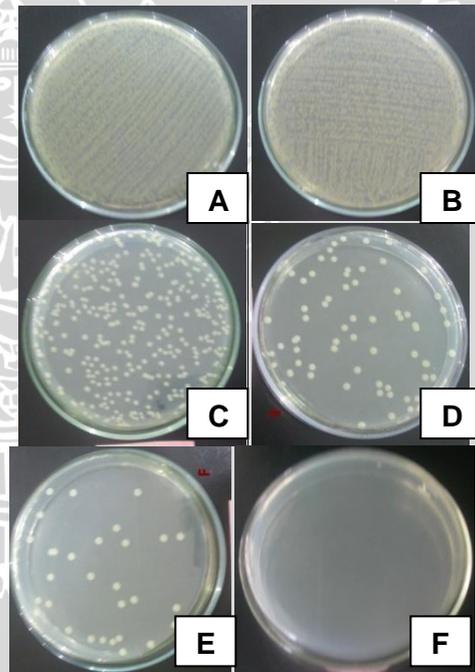
Uji MIC bakteri *E.coli*

Keterangan:
 Tabung reaksi dengan konsentrasi ekstrak *R.mucronata*
 A: 100% D: 70%
 B: 90% E: 60%
 C: 80% F: 50%

Gambar Uji MIC Bakteri *E.coli*



Keterangan Gambar Daya hambat bakteri *S.aureus* konsentrasi ekstrak *R.mucronata*
 A: 20% D: 50%
 B: 30% E: 60%
 C: 40% F: 70%



Keterangan Gambar Daya hambat bakteri *E.coli* konsentrasi ekstrak *R.mucronata*
 A: 50% D: 80%
 B: 60% E: 90%
 C: 70% F: 100%