

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BAKAU HITAM (*Rhizophora mucronata*) TERHADAP BAKTERI PENYEBAB DIARE

Antibacterial Activity of Rhizophora mucronata Against Diarrhea Causing Bacteria

Kustiariyah Tarman*, Sri Purwaningsih, dan Anak Agung Ayu Putu Puspita Negara

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Institut Pertanian Bogor, Jln. Agatis, Bogor, Jawa Barat - 16680

Telp. +622518622915, Fax. +622518622916

*Korespondensi: e-mail: kustya@gmail.com; puspitanegara@gmail.com

Diterima 1 Agustus 2013/Disetujui 15 Februari 2014

Abstract

Leaves of *Rhizophora mucronata* have been widely used by coastal people as traditional medicine for treating diarrhea. The aim of this study was to obtain *Rhizophora mucronata* leaf extracts and determine their antibacterial activity against diarrhea-causing bacteria. The antibacterial activity was determined by agar well diffusion method. The highest yield was obtained after methanol extraction. Bioactive compounds found on methanol and aqueous extracts consisted of tannin, saponin, flavonoid, phenol hydroquinone, and triterpenoid, while alkaloid was only found in methanol extract. Methanol extract had the highest antibacterial activity with inhibition zone of 3-12 mm. Minimum inhibitory concentrations of the methanol extract were 0.4 mg/mL (against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), 0.2 mg/mL (against *Staphylococcus aureus*). Bioautography of leaves extract against *E. coli* showed the active fractions were found on *R_f* values of 0.11 and 0.72. Preliminary identification using Dragendorff spray reagent detected that the active compound was alkaloid.

Keywords: active compound, antibacterial, diarrhea, MIC, *R. mucronata* leaf extract

Abstrak

Daun *Rhizophora mucronata* dimanfaatkan masyarakat pesisir sebagai obat tradisional untuk mengobati diare. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan ekstrak daun *R. mucronata* dan potensinya untuk dijadikan sediaan obat baru yang alami, khususnya untuk mengobati diare. Metode penelitian yang dilakukan menggunakan uji sensitivitas antibakteri dengan metode sumur agar. Ekstrak metanol daun bakau hitam memiliki rendemen tertinggi sebesar 21,47%. Komponen aktif yang terkandung dalam ekstrak metanol dan air daun *R. mucronata* meliputi tanin, saponin, flavonoid, fenol hidrokuinon, dan triterpenoid, sementara alkaloid hanya terdapat pada ekstrak metanol. Ekstrak metanol memiliki aktivitas antibakteri terbesar dengan zona hambat berkisar 3-12 mm. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak metanol daun *R. mucronata* sebesar 0,4 mg/mL (terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*), 0,2 mg/mL (terhadap *Staphylococcus aureus*). Bioautografi aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *E. coli* menghasilkan fraksi aktif pada nilai *R_f* 0,11 dan 0,72. Hasil identifikasi dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan senyawa tersebut termasuk senyawa alkaloid.

Kata kunci: antibakteri, diare, ekstrak daun *R. mucronata*, KHM, komponen aktif

PENDAHULUAN

Diare masih merupakan masalah kesehatan utama di Indonesia. Penyakit ini tidak dapat dianggap sepele karena sering menimbulkan kematian khususnya pada bayi dan balita, serta seringnya menimbulkan kejadian luar biasa (KLB). Tahun 2010 terjadi

KLB diare di 33 kecamatan dengan jumlah penderita 4.204 dengan kematian 73 orang (KKRI 2011). Wabah diare dapat terjangkit dengan cepat dalam waktu yang relatif singkat sehingga sulit untuk diatasi.

Adyana *et al.* (2004) menyatakan bahwa diare adalah defekasi yang sering dalam

sehari dengan feses yang lembek atau cair, terjadi karena *chymus* yang melewati usus kecil dengan cepat, kemudian feses melewati usus besar dengan cepat sehingga tidak cukup waktu untuk absorpsi, hal ini menyebabkan dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit. Kosala (2010) menyatakan bahwa diare dapat disebabkan oleh infeksi mikroorganisme, antara lain bakteri, virus, dan parasit lainnya, yaitu jamur, cacing, dan protozoa, namun penyebab utamanya adalah infeksi bakteri. Bakteri penyebab diare, yaitu *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*, *Campylobacter*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Penanganan secara medis untuk mengobati diare adalah dengan menggunakan sejumlah antibiotik β -laktam. Antibiotik ini diketahui dapat membunuh agen penyebab diare dari kelompok bakteri EPEC. Doran *et al.* (1990) diacu dalam Kang *et al.* (2000) menyatakan bahwa penggunaan β -laktam secara rutin menyebabkan terjadinya efek samping berupa resistensi EPEC terhadap antibiotik tersebut. Resistensi bakteri yang cenderung meningkat mengakibatkan infeksi bakteri menjadi lebih sulit untuk diobati.

Parthasarathy *et al.* (2009) menyatakan bahwa produk bahan alam misalnya metabolit sekunder, baik senyawa murni maupun dalam bentuk ekstrak, memiliki peluang untuk dikembangkan dalam dunia pengobatan. Senyawa bahan alam tersebut memiliki efek terapis yang signifikan terhadap bakteri, jamur, maupun virus yang bersifat patogen terhadap hewan dan manusia. Masyarakat pesisir menggunakan tanaman bakau sebagai obat tradisional untuk mengatasi diare. Salah satu tanaman bakau yang dimanfaatkan adalah tanaman bakau hitam. Bandaranayake (2002) menyatakan bahwa pengobatan secara tradisional dengan menggunakan tanaman ini telah banyak digunakan, misalnya untuk penyembuhan hematuria, diabetes, diare, dan inflamasi. Potensi bakau sebagai bahan obat sangat besar, akan tetapi masih sedikit dimanfaatkan, khususnya di Indonesia.

Perlu dilakukan suatu kajian farmakologi terhadap tanaman bakau khususnya daun bakau hitam. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan ekstrak daun *R. mucronata* dan menentukan potensinya untuk dijadikan sediaan obat baru yang alami, khususnya untuk mengobati diare.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun *R. mucronata* yang diperoleh dari kawasan hutan bakau Angke Kapuk, Pantai Indah Kapuk, Jakarta Utara. Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah larutan metanol p.a dan air. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia dan biologi meliputi H_2SO_4 2 N, pereaksi Wagner, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, larutan $FeCl_3$ 1%, $CHCl_3$, larutan anhidra asam asetat, larutan H_2SO_4 , serbuk Mg, larutan amil alkohol, HCl 2 N, etanol, larutan $FeCl_3$ 5%, media *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), media *mueller hinton agar* (MHA), akuades, bakteri uji berupa bakteri *E. coli*, *EPEC*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *Salmonella typhimurium*, silika $G_{60} F_{254}$, dan eluen kloroform dan metanol (6:4).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (Max 410 g and HF400), *blender*, Soxhlet, *vacuum rotary evaporator* (Heidolph VV 2000), *vortex*, oven (Yamato DV 41), autoklaf (Yamato SM 52 Autoclave), spektrofotometer (UV Vis RS 2500), *laminar air flow* (Thermo Scientific 1300 Series A2), inkubator (Thermolyne type 42000 Incubator), dan sterilisasi kering (Yamato SH 62).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu koleksi dan preparasi bahan baku, ekstraksi senyawa aktif, uji komponen aktif, pengujian aktivitas antibakteri, penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM), dan penentuan fraksi aktif melalui uji KLT dan bioautografi. Eksperimen dilakukan dengan

dua kali ulangan dan dianalisis secara deskriptif.

Bahan baku yang digunakan berupa daun *R. mucronata* segar. Preparasi sampel dilakukan dengan cara mengeringkan sampel daun *R. mucronata* pada suhu ruang selama ± 10 hari, kemudian dihaluskan dengan *blender* hingga berbentuk serbuk.

Serbuk daun *R. mucronata* diekstraksi dengan metode Soxhlet dengan dua jenis pelarut yaitu metanol p.a dan air. Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan mengacu pada penelitian Rahman *et al.* (2011), sebanyak 25 g daun bakau hitam dimasukkan ke dalam selongsong. Proses ekstraksi dilakukan dalam Soxhlet hingga larutan menjadi jernih, yang menandakan simplisia telah terekstrak sempurna. Ekstrak metanol dan air yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring. Pelarut dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang bobotnya. Penapisan komponen aktif dilakukan melalui uji fitokimia (Harborne 1987) yang meliputi pemeriksaan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol hidrokuinon, dan steroid/triterpenoid pada ekstrak kasar daun bakau hitam (*R. mucronata*).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan melalui uji sensitivitas antibakteri dengan metode sumur agar (*agar well diffusion*) yang mengacu pada penelitian Moorthy *et al.* (2007). Diameter zona hambat pada uji ini adalah tanpa diameter sumur agar. Sampel yang digunakan berupa ekstrak metanol dan ekstrak air dari daun bakau. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol (150 μg /sumur) dan kontrol negatif berupa pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, yaitu metanol dan air. Bakteri uji yang digunakan meliputi lima bakteri yang dapat menyebabkan diare, yaitu *E. coli*, *EPEC*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. typhimurium*.

Penentuan konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan menggunakan ekstrak daun bakau hitam yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik. Metode yang digunakan

adalah metode dilusi cair (*broth dilution*) yang mengacu pada penelitian Mazolla *et al.* (2009) dengan penambahan suspensi bakteri dan konsentrasi ekstrak yang berbeda. Pengamatan dilakukan selama 24 jam untuk menentukan sifat dari senyawa antibakteri.

Fraaksinasi dilakukan dengan uji kromatografi lapis tipis dan bioautografi mengacu pada penelitian Zheng *et al.* (2005). Ekstrak yang digunakan pada uji KLT dan bioautografi adalah ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik. Elusi dilakukan menggunakan kloroform dan metanol (6:4). Noda yang dihasilkan diamati di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan 366 nm. Bioautografi dilakukan untuk menentukan fraksi aktif antibakteri menggunakan KLT. Kromatogram diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi biakan bakteri *E. coli* kemudian diinkubasi selama 24 jam lalu dilihat bercak atau zona bening yang menunjukkan lokasi senyawa aktif berada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Daun *R. mucronata*

Ekstrak daun bakau hitam (*R. mucronata*) dengan kedua jenis pelarut menghasilkan karakteristik yang berbeda-beda. Ekstrak metanol berwarna hijau kehitaman dan berbentuk pasta, sedangkan ekstrak air berwarna coklat kehitaman dan menggumpal. Perbedaan warna pada ekstrak yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Pelarut dari golongan alkohol yaitu metanol, selain menarik komponen aktif tetapi juga menarik klorofil yang ada pada bahan sehingga ekstrak yang dihasilkan cenderung berwarna hijau. Air sebagai pelarut cenderung melarutkan senyawa-senyawa pengotor sehingga ekstrak yang dihasilkan cenderung berwarna pekat (Harborne 1987).

Ekstraksi terhadap daun *R. mucronata* menghasilkan ekstrak kasar metanol dan ekstrak air dengan bobot yang berbeda. Berat kedua ekstrak tersebut digunakan untuk menentukan nilai rendemen. Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara

bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot sampel awal yang diekstrak. Rata-rata rendemen yang diperoleh dari ekstrak metanol dan air daun bakau hitam berurut sebesar $(21,47 \pm 3,81)\%$ dan $(19,24 \pm 3,65)\%$. Hasil ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa aktif pada daun bakau hitam cenderung larut pada pelarut metanol.

Metanol dikenal sebagai pelarut universal dan termasuk dalam golongan alkohol. Alkohol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan untuk mengekstraksi habis senyawa bioaktif. Pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa alkaloid, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino, dan glikosida (Harborne 1987).

Komponen Aktif Ekstrak Daun *R. mucronata*

Ekstrak metanol daun *R. mucronata* lebih banyak mengandung komponen aktif dibandingkan dengan ekstrak air daun *R. mucronata* (Tabel 1). Produksi metabolit sekunder merupakan kompensasi akibat interaksi dengan lingkungan biotik dan

abiotik. Kelman *et al.* (2000) menambahkan bahwa senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mencegah infeksi bakteri patogen. Komponen aktif yang terdeteksi pada ekstrak metanol daun *R. mucronata* sesuai dengan Nurdiani *et al.* (2012) yaitu ekstrak kasar metanol daun *Rhizophora mucronata* mengandung komponen aktif berupa alkaloid, tanin, saponin, fenol, flavonoid, dan triterpenoid.

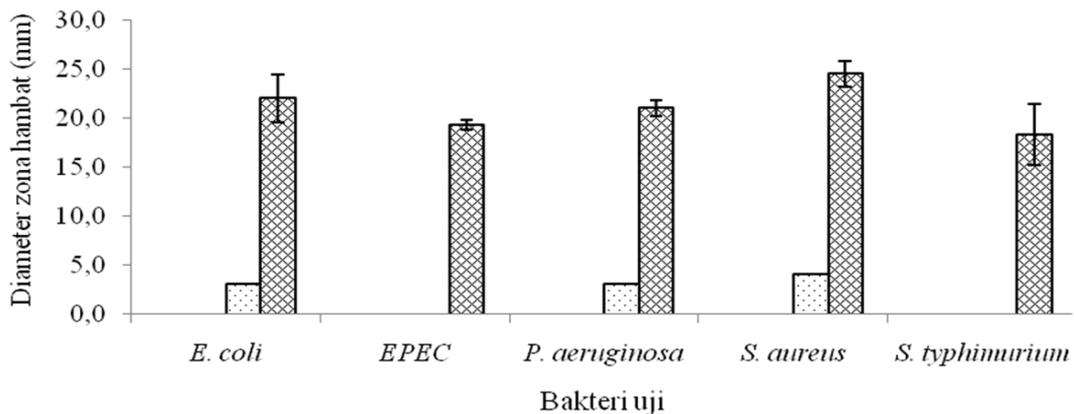
Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *R. mucronata*

Ekstrak air daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antibakteri yang sangat rendah yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat terhadap bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus* pada jumlah ekstrak 2 mg, sedangkan pada jumlah yang lebih kecil tidak terbentuk zona hambat. Ekstrak air daun *R. mucronata* tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri EPEC dan *S. typhimurium* (Gambar 1). Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sumur. Masika dan Afolayan (2002) melaporkan bahwa ekstrak

Tabel 1 Hasil uji komponen aktif ekstrak kasar daun bakau hitam

Uji	Ekstrak metanol	Parameter	Ekstrak air	Parameter
Alkaloid				
a. Dragendorff	+	Terbentuk endapan jingga	-	Tidak terbentuk endapan jingga
b. Meyer	-	Tidak terbentuk endapan putih	-	Tidak terbentuk endapan putih
c. Wagner	+	Terbentuk endapan coklat	-	Tidak terbentuk endapan coklat
Tanin	+	Warna hijau kehitaman	+	Warna hijau kehitaman
Saponin	+	Busa stabil	+	Busa stabil
Fenol hidrokuinon	+	Warna hijau biru	+	Warna hijau biru
Flavonoid	+	Warna kuning	+	Warna merah
Steroid	-	Tidak terjadi perubahan warna	-	Tidak terjadi perubahan warna
Triterpenoid	+	Lapisan permukaan berwarna merah kecoklatan	+	Lapisan permukaan berwarna merah kecoklatan

Keterangan: (+) = terdeteksi; (-) = tidak terdeteksi



Gambar 1 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak air daun bakau hitam terhadap bakteri penyebab diare: (□) 0,5 mg/sumur; (▨) 1,0 mg/sumur; (▤) 2,0 mg/sumur; (▩) kloramfenikol.

air tidak mempunyai aktivitas antibakteri karena ekstrak air berbeda dari pelarut lainnya yang mempunyai banyak komponen yang dapat berinteraksi secara antagonistik dalam mengikat bahan aktif. Ekstrak air daun *R. mucronata* diduga memiliki mekanisme lain dalam menghambat diare seperti menekan peristaltik usus ataupun astrigensia. Hasil penelitian Das *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak air kulit batang *R. mucronata* tidak menunjukkan adanya aktivitas antidiare pada tikus yang diinduksikan dengan minyak jarak.

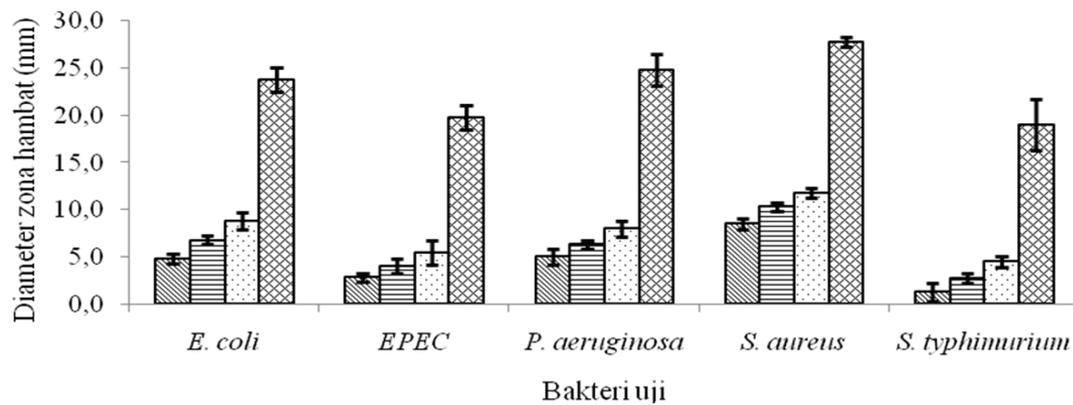
Ekstrak metanol daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat terhadap kelima bakteri penyebab diare dengan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *S. aureus*. Zona hambat yang terbentuk berkisar antara 9-12 mm. Aktivitas antibakteri terendah ekstrak metanol ditunjukkan oleh penghambatan terhadap bakteri *S. typhimurium*. Zona hambat yang terbentuk berkisar antara 1-5 mm (Gambar 2). Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar sumur.

Aktivitas penghambatan bakteri ekstrak metanol daun bakau hitam memiliki hasil yang tidak jauh berbeda dengan ekstrak metanol daun bakau hitam yang diteliti oleh Nurdiani *et al.* (2012). Hasil penelitian Nurdiani *et al.* (2012) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun bakau hitam dapat

menghambat bakteri *E. coli* sebesar 6,4 mm dan *S. aureus* sebesar 6,1 mm. Penelitian Kusuma *et al.* (2011) juga menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun bakau hitam dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa* sebesar 14 mm dan *S. aureus* sebesar 16 mm.

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan zona hambat yang lebih besar pada kedua ekstrak dibandingkan dengan bakteri penyebab diare lainnya. Bakteri *S. aureus* termasuk dalam golongan bakteri Gram-positif. Bakteri Gram-positif cenderung lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri. Struktur dinding sel bakteri Gram-positif berlapis tunggal yang relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran (Pelczar dan Chan 2010).

Zona hambat yang ditunjukkan oleh ekstrak air dari daun *R. mucronata* yaitu (3-4) mm. Hasil ini menunjukkan kekuatan senyawa antibakteri yang lemah terhadap bakteri-bakteri penyebab diare. Kekuatan ekstrak metanol daun *R. mucronata* tergolong sedang dengan diameter 3-12 mm terhadap bakteri-bakteri penyebab diare. Kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat karena memiliki zona hambat lebih dari 20 mm. Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwa ketentuan kekuatan antibiotik antibakteri yaitu sangat kuat untuk zona hambat 20 mm atau lebih, kuat untuk zona hambat 10-20 mm, sedang



Gambar 2 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun bakau hitam terhadap bakteri penyebab diare: (■) 0,5 mg/sumur; (▨) 1,0 mg/sumur; (□) 2,0 mg/sumur; (▩) kloramfenikol.

untuk zona hambat 5-10 mm, dan lemah untuk daerah hambat kurang dari 5 mm.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap lima bakteri uji penyebab diare yang memiliki tingkat sensitivitas berbeda-beda. Ekstrak air dan ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antibakteri yang lemah terhadap bakteri *EPEC* dan *S. typhimurium* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang relatif kecil yaitu zona hambat terhadap bakteri *EPEC* berkisar 4-6 mm dan *S. typhimurium* berkisar 1-5 mm. Hasil penelitian Adnyana *et al.* (2004) pada ekstrak etanol jambu biji daging putih dan merah juga menunjukkan aktivitas antidiare yang rendah terhadap bakteri *S. typhi*.

Bakteri *E. coli* dan *EPEC* merupakan bakteri yang berasal dari spesies yang sama, namun *EPEC* cenderung banyak menimbulkan penyakit pada manusia bila dibandingkan dengan *E. coli*. Aktivitas antibakteri yang lemah terhadap kedua bakteri tersebut disebabkan karena *EPEC* dan *S. typhimurium* merupakan bakteri-bakteri yang bersifat patogen di dalam tubuh manusia. Sejauh ini pengobatan yang dilakukan adalah dengan menggunakan antibiotik. Doran *et al.* (1990) dalam Kang *et al.* (2000) menyatakan bahwa penggunaan antibiotik secara kontinu menyebabkan terjadinya efek samping berupa resistensi terhadap antibiotik.

Kloramfenikol sebagai kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat lebih

besar daripada diameter zona hambat masing-masing ekstrak. Kloramfenikol merupakan zat antibakteri murni sedangkan ekstrak daun *R. mucronata* masih berupa ekstrak kasar (*crude extract*) yang mengandung bahan organik lain selain antibakteri. Senyawa organik lain dapat menurunkan aktivitas zat antibakteri dengan cara menginaktivasi dan mengganggu kontak antara zat antibakteri dengan sel bakteri sehingga dapat melindungi bakteri dari zat antibakteri tersebut. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein sel bakteri yang berlangsung di ribosom (Pelczar dan Chan 2008).

Hasil terbaik pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab diare ditunjukkan oleh ekstrak metanol daun *R. mucronata*. Ekstrak tersebut menghasilkan zona hambat terbesar dibandingkan ekstrak air. Ekstrak metanol selanjutnya digunakan untuk analisis berikutnya yaitu penentuan konsentrasi hambat minimum.

Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun *R. mucronata*

Ekstrak metanol daun *R. mucronata* memiliki nilai KHM yang berbeda-beda. Nilai KHM bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* adalah sebesar 0,4 mg/mL. Bakteri *S. aureus* memiliki KHM 0,2 mg/mL, sedangkan untuk bakteri *EPEC* dan *S. typhimurium* memiliki KHM lebih besar dari 0,4 mg/mL. Hasil ini ditunjukkan dengan tidak adanya aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *EPEC*

dan *S. typhimurium* setelah inkubasi selama 24 jam (Tabel 2). Perbedaan nilai KHM diduga karena setiap bakteri uji mempunyai kerentanan yang berbeda-beda terhadap suatu senyawa antibakteri. Pengamatan setiap jam menunjukkan ekstrak metanol daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab diare yang bersifat bakteriostatik. Hasil pengujian KHM juga menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak metanol daun *R. mucronata*.

Penelitian Pimpliskar *et al.* (2012), menunjukkan bahwa nilai KHM dari ekstrak etanol batang *R. mucronata* terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. typhi* sebesar 0,5 mg/mL. KHM ekstrak *R. apiculata* terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 1 mg/mL. Penelitian Fitriani *et al.* (2008) menunjukkan KHM dari ekstrak etil asetat biji teratai untuk bakteri *EPEC* dan *S. typhimurium* sebesar 0,89 mg/mL dan 1,11 mg/mL. Penelitian Adyana *et al.* (2004), menunjukkan KHM dari ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih untuk bakteri *E. coli*, *Salmonella dysenteriae*, *Salmonella flexneri*, dan *S. typhi* berurut sebesar 60 mg/mL, 30 mg/mL, dan 40 mg/mL.

Konsentrasi hambat minimum tidak selalu konstan terhadap setiap senyawa antibakteri yang diberikan. Nilai KHM dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu organisme uji, ukuran inokulum, komposisi media kultur, waktu inkubasi, serta kondisi inkubasi itu sendiri. Kondisi inkubasi yang mempengaruhi yakni suhu, aerasi, dan pH (Pelczar dan Chan 2008).

Fraksinasi Ekstrak dan Uji Aktivitas Fraksi

Sudirman (2005) menyatakan bahwa kromatografi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen aktif yang terdapat dalam suatu ekstrak. Hasil pengujian terhadap fraksi tersebut diduga bahwa masing-masing fraksi telah menunjukkan adanya 1 bercak dengan *R_f* yang berbeda. Fraksinasi ekstrak metanol daun bakau hitam dengan menggunakan sinar UV λ 254 nm diidentifikasi memiliki 5 bercak dengan nilai *R_f* 0,11; 0,17; 0,47; 0,60 dan 0,72 serta pengujian dengan menggunakan sinar UV λ 366 nm menghasilkan 2 bercak dengan nilai *R_f* 0,72 dan 0,88 (Gambar 3). Hasil KLT dari ekstrak metanol daun *R. mucronata* lalu disemprot dengan pereaksi Dragendorff.

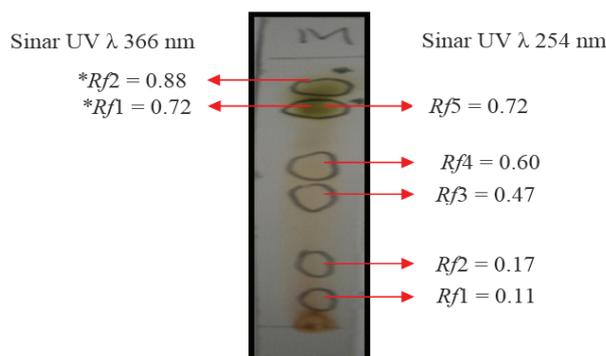
Hasil penyemprotan menunjukkan kelima fraksi positif mengandung senyawa golongan alkaloid karena menghasilkan warna orange (Gambar 4), hal ini sesuai dengan pernyataan Robinson (1995) bahwa hasil positif adanya alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff ditunjukkan dengan munculnya warna orange. Pereaksi Dragendorff mengandung K(BiI) yang umumnya dengan basa N pada alkaloid memunculkan warna orange.

Bioautografi ekstrak metanol daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yang ditunjukkan dengan adanya bercak hambatan pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri tersebut. Senyawa pada *R_f* 0,11 dan 0,72 memberikan daerah hambatan pada media agar yang telah diinokulasi suspensi bakteri

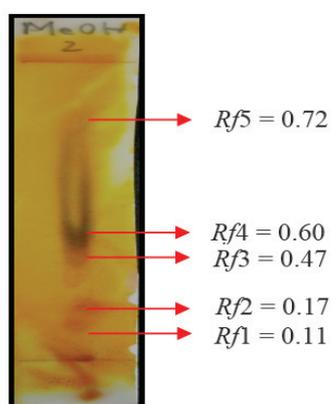
Tabel 2 Hasil uji KHM ekstrak metanol daun *R. mucronata*

Konsentrasi ekstrak (mg/mL)	<i>E. coli</i>	<i>EPEC</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhimurium</i>
0,4	-	+	-	-	+
0,3	+	+	-	+	+
0,2	+	+	-	+	+
0,1	+	+	+	+	+
0,05	+	+	+	+	+

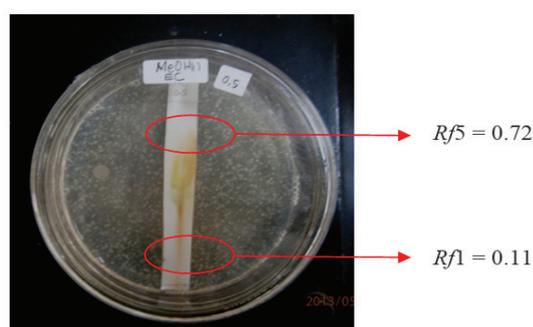
Keterangan: (-) = jernih (tidak ada pertumbuhan); (+) = keruh (ada pertumbuhan)



Gambar 3 Profil pemisahan ekstrak metanol dengan KLT eluen kloroform:metanol (6:4).



Gambar 4 Profil penyemprotan dengan pereaksi Dragendorff.



Gambar 5 Profil bioautografi.

E. coli (Gambar 5). Berdasarkan pengujian KLT dan bioautografi mengindikasikan bahwa senyawa antibakteri yang berperan adalah alkaloid. Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa ini diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson 1995).

KESIMPULAN

Ekstrak metanol daun *R. mucronata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, *EPEC*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. typhimurium*. Nilai KHM ekstrak metanol terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* sebesar 0,4 mg/mL, *S. aureus* sebesar 0,2 mg/mL. Bioautografi aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *E. coli* menghasilkan fraksi aktif pada nilai *Rf* 0,11 dan 0,72 yang keduanya

diduga senyawa alkaloid. Ekstrak metanol daun *R. mucronata* berpotensi sebagai sediaan obat untuk mengobati penyakit diare.

DAFTAR PUSTAKA

- Adyana IK, Yulinah E, Sigit JI, Fisheri N, Insanu M. 2004. Efek ekstrak daun jambu biji daging buah putih dan jambu biji daging buah merah sebagai antidiare. *Acta Pharmaceutica Indonesia* 29(1): 19-27.
- Bandaranayake WM. 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetlands Ecology Manage* 10: 421-452.
- Das AK, Rohini RM, Hema A. 2009. Evaluation of anti-diarrhea activity of *Rhizophora mucronata* bark extracts. *The Internet Journal of Alternative Medicine* 7(1). doi:10.5580/1f9.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology* 22(4): 659-665.
- Fitrial Y, Astawan M, Soekarto SS, Wiryawan KG, Wresdiyati T, Khairina R. 2008. Aktivitas

- antibakteri ekstrak biji teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) terhadap bakteri patogen penyebab diare. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 19(2): 158-164.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan: K. Padmawinata dan I. Sudiro. Bandung (ID): Institut Teknologi Bandung. hlm: 4-234.
- Hasler CM. 1998. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Journal Food Technology* 52(11): 63-70.
- Kang SG, Park HU, Lee HS, Kim HT, Lee KJ. 2000. New β -lactamase inhibitory protein (BLIP-1) from *Streptomyces exfoliatus* SMF 19 and its roles on the morphological differentiation. *Journal Biology Chemistry* 275(22): 16851-16856.
- Kelman D, Benayahu Y, Kahman Y. 2000. Variation in secondary metabolite concentrations in yellow and grey morphs of the Red Sea soft coral *Parerythropodium fulvum fulvum*: possible ecological implication. *Journal Chemical Ecology* 26(1): 1123-1134.
- [KKRI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (ID). 2011. Situasi diare di Indonesia. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan* [20 September 2012]. <http://depkes.go.id>.
- Kosala K. 2010. Uji aktivitas antibakteri beberapa bakteri penyebab diare pada ekstrak etanol daun *Vitex pinnata* dengan *disk diffusion method*. Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman Samarinda 190-198.
- Kumaran NS, Bragadeeswaran S, Th angaraj. 2011. Antimicrobial activities in star fishes *Protoreaster lincki* (Blainville, 1830) and *Pentaceraster regulus* (Muller & Troschel, 1842) against isolated human, fish pathogenic and biofilm microorganisms. *Journal of Applied Sciences Research* 7(6): 818-825.
- Kusuma S, Kumar PA, Boopalan K. 2011. Potent antimicrobial activity of *Rhizophora mucronata*. *Journal of Ecobiotechnology* 3(11): 40-41.
- Masika PJ, Afolayan AJ. 2002. Antimicrobial activity of some plants used for the treatment of livestock disease in the Eastern Cape, South Africa. *Journal Ethnopharmacol* 83(1-2): 129-134.
- Mazolla PG, Jozala AF, Novaes LCL, Moriel P, Penna TCV. 2009. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/ or sterilizing agents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 45(2): 241-248.
- Moorthy K, Srinivasan K, Subramanian, Palaniswamy M, Mohanasundari C. 2007. Phytochemical screening and antibacterial evaluation of stem bark of *Mallotus philippinensis* var. *Tomentosus*. *African Journal of Biotechnology* 6(13): 1521-1523.
- Nurdiani R, Firdaus M, Prihanto AA. 2012. Phytochemical screening and antibacterial activity of methanol extract of mangrove plant (*Rhizophora mucronata*) from Porong River Estuary. *Journal Basic Science and Technology* 1(2): 27-29.
- Parthasarathy S, Azizi JB, Ramanathan S, Ismail S, Mansor SM, Sasidharan S, Said MIM. 2009. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic, and alkaloid from *Mitragyna speciosa* (rubiacaceae family) leaves. *Molecules* 14:3 964-3974.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Hadioetomo *et al.*, penerjemah. Jakarta (ID): UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. hlm: 452-539.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Hadioetomo *et al.*, penerjemah. Jakarta (ID): UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. hlm: 99-157.
- Pimpliskar MR, Jadhav RN, Jadhav BI. 2012. Evaluation of antimicrobial principles of *Rhizophora* species along Mumbai Coast. *Journal of Advanced Scientific Research* 3(3): 30-33.
- Rahman MA, Hasan SN, Sampad KS, Das AK. 2011. Antinociceptive, antidiarrhoeal and

- cytotoxic activity of *Rhizophora mucronata* Lamk. *Pharmacologyonline* 1: 921-929.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi keenam. Padmawinata K, penerjemah. Bandung (ID): ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plant*. hlm: 281-286.
- Sudirman LI. 2005. Deteksi senyawa antimikrob yang diisolasi dari beberapa *Lentinus tropis* dengan metode bioautografi. *Hayati* 12(2): 67-72.
- Zheng L, Chen H, Han X, Lin W, Yan X. 2005. Antimicrobial screening and active compound isolation from marine bacterium NJ6-3-1 associated with the sponge *Hymeniacidon perleve*. *World Journal of Microorganism and Biotechnology* 21: 201-206.