UJI FITOKIMIA DAN UJI ANTIBAKTERI DARI AKAR MANGROVE RHIZOPORA APICULATA TERHADAP BAKTERI ESCHERICHIA COLI DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Evi Ratna Oktavianti Dewi^{1,*}, Usman²

¹Mahasiswa S1 Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Unmul Samarinda, Kalimantan Timur

²Staf Pengajar Program Studi S1 Pendidikan Kimia FKIP Unmul, Samarinda, Kalimantan Timur

*Email: erod-libra@yahoo.co.id

ABSTRACT

The compound class of secondary metabolites are metabolites that are not essential to the growth of organisms and is found in a unique form. Metabolites used in this study is the result of the phytochemical test mangrove roots *Rhizophora apiculata* roots. *Rhizophora apiculata* mangrove plants grow in coastal areas. This study aims to determine the compound classes of secondary metabolites and determine inhibition antibacterial contained in the methanol extract of mangrove roots *Rhizophora apiculata* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. This study uses a maceration method, thin layer chromatography, phytochemical test and antibacterial test. The results of this study, the alkaloids, flavonoids and triterpenoids in phytochemical test. The methanol extract of the roots of *Rhizophora apiculata* concentration of 500 ug / well give moderate inhibition on the bacteria *Staphylococcus aureus*, but gave no inhibitory effects on the bacteria *Escherichia coli*. This happens because the bacterium *Escherichia coli* is a gram-negative bacteria that are resistant to multiple antibacterials.

Keywords : *Rhizophora apiculata* roots, antibacterial, compound class of secondary metabolites

ABSTRAK

Senyawa golongan metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk unik. Senyawa metabolit yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil uji fitokimia dari akar mangrove *Rhizophora apiculata*. Tanaman mangrove *Rhizophora apiculata* banyak tumbuh di kawasan pesisir. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa golongan metabolit sekunder dan mengetahui daya hambat antibakteri yang terkandung pada ekstrak metanol akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan metode maserasi, kromatografi lapis tipis, uji fitokimia dan uji antibakteri. Hasil penelitian ini didapatkan senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid pada uji fitokimia. Ekstrak metanol akar *Rhizophora apiculata* konsentrasi 500 µg/well memberikan daya hambat sedang pada bakteri *Staphylococcus aureus*, namun tidak memberikan daya hambat pada bakteri *Escherichia coli*. Hal ini terjadi karena bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang resisten terhadap beberapa antibakteri.

Kata Kunci : akar *Rhizophora apiculata*, antibakteri, senyawa golongan metabolit sekunder

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hutan mangrove terluas di dunia yaitu sekitar 4,5 juta Ha yang melebihi Brazil (1,3 juta Ha), Nigeria (1,1 juta Ha), dan Australia (0,97 Ha). Di Indonesia, hutan mangrove yang luas terdapat di seputar Dangkan Sunda, pantai timur Sumatera, pantai utara Jawa, bagian barat Dangkan Sahul, dan pantai selatan Kalimantan¹. Di Kalimantan Timur, luas hutan mangrove mencapai 883,379 Ha. Namun sejumlah 685,227 Ha mengalami kerusakan dan hanya sekitar 225,105 Ha yang masih dalam kondisi baik. Salah satu potensi hutan mangrove yang dimiliki Kalimantan Timur adalah di wilayah Bontang. Luas hutan mangrove di Bontang lebih dari 600 Ha yang tersebar di wilayah Tanjung Limau, Beras Basah, dan Bontang Koala. Beberapa jenis mangrove yang bisa ditemui adalah *Rhizophora sp*, *Bruguiera sp*, *Avicennia sp*, dan *Cerip sp*².

Salah satu spesies yang banyak ditemukan di Bontang adalah *Rhizophora apiculata* dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Malpighiales
Famili : Rhizoporaceae
Genus : *Rhizophora*
Spesies : *Rhizophora apiculata*

Rhizophora apiculata memiliki batang berbentuk bulat kecokelatan, perakaran tunjang, berwarna keputih-putihan pada daerah yang tidak dekat permukaan tanah, daun berupa daun single dan terletak sejajar antara daun satu dengan yang lain berwarna hijau tua, memiliki bunga dengan susunan cyme dengan empat kelopak berukuran 1-2 cm, dan memiliki buah berwarna cokelat tua dengan ukuran buah 20-25 cm berdiameter 1,3 - 1,7 cm.

Rhizophora apiculata digunakan oleh masyarakat pesisir sebagai bahan bakar, bangunan, dan pembuatan kapal. Masyarakat pesisir adalah pihak yang banyak menggunakan mangrove *Rhizophora apiculata* sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit disentri, melangsingkan badan dan sebagainya, sehingga eksplorasi dan penelitian lebih lanjut terhadap tanaman mangrove terutama spesies *Rhizophora apiculata* dirasa penting untuk diteliti mengenai bioaktivitasnya dan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman mangrove tersebut yang dapat dijadikan antibiotik dan bahan obat yang bermanfaat bagi manusia³.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai “Uji Fitokimia dan Uji Antibakteri dari Akar Mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap Bakteri Uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*” yang mungkin mempunyai efek antibakteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan Kuantitatif deskriptif. Dilakukan pada bulan November - Desember 2015 di Laboratorium Kimia Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman. Pengambilan sampel dilakukan di kawasan Tanjung Laut, Bontang, Kalimantan Timur.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel akar mangrove *Rhizophora apiculata*, metanol, aquades, kloroform, larutan H₂SO₄ pekat, larutan HCl 2 N, larutan

Dragendorff, larutan NaOH 1%, kertas label, kertas saring, aluminium foil, tisu, vaselin, kapas steril, etanol 70 % dan 40 %, agar, glukosa, nutrient broth (NB), kloramfenikol, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*⁴.

Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah blender, pisau, penggaris, pensil, neraca, gelas kimia, pipet tetes, chamber, pipa kapiler, cutting mat, pinset, corong, *rotary evaporator*, labu dasar bulat, tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, rak tabung reaksi, gelas ukur 5 mL dan 10 mL, botol vial, cawan petri, autoklaf, inkubator, *laminar air flow*, pencadang, kapas lidi steril, ose, erlenmeyer, mikropipet, *tube*, *ultrasonic*, *hot plate*, kulkas, oven⁴.

Prosedur

Berikut ini adalah skema penelitian⁵.

Gambar 1. Skema Penelitian⁵

Sampel akar mangrove *Rhizophora apiculata* diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol yang direndam 3x24 jam tanpa paparan sinar matahari. Kemudian tiga ekstrak yang telah disaring digabungkan menjadi satu dan dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen aquades 100%, dibiarkan eluen naik sampai tanda batas atas, diamati noda di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Diulangi dengan eluen aquades : metanol, 5 : 5. Setelah itu, ekstrak dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (suhu 39 - 41⁰C) sampai diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak ditimbang dengan botol vial yang telah diketahui bobot kosongnya untuk menghitung rendamen⁵.

Setelah itu dilakukan uji golongan fitokimia yang terdiri dari uji alkaloid, uji flavonoid, uji triterpenoid dan steroid, dan uji saponin. Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan 5 mL ekstrak dengan 2 mL HCl pekat dan 1 mL larutan Dragendroff. Perubahan warna larutan menjadi jingga atau merah sebagai uji positif. Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak dengan beberapa tetes NaOH 1%. Perubahan warna larutan menjadi kuning jingga menunjukkan uji positif. Uji triterpenoid dan steroid dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak dengan pereaksi Liebermann - Barchard yaitu ditambahkan secara bergantian 10 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat kemudian dikocok dan dibiarkan beberapa menit. Perubahan warna larutan menjadi merah ungu sebagai uji positif triterpenoid dan warna hijau biru sebagai uji positif steroid. Uji saponin dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak dengan 10 mL aquades panas dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Munculnya busa stabil setinggi 1-10 cm sebagai uji positif⁴.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan pembuatan larutan uji, pembuatan larutan kontrol, pembuatan media, dan pengujian antibakteri. Pembuatan larutan uji 500 µg/well, 250 µg/well, 125 µg/well dibuat dari 25 mg ekstrak dilarutkan dengan 1 mL etanol 40%. Pembuatan larutan kontrol negatif dari etanol 40%, kontrol positif dari 1 mg serbuk obat kapsul kloramfenikol yang dilarutkan dengan 2 mL etanol 40%. Pembuatan media dengan campuran agar-agar, *Nutrient Both* (NB), glukosa dan aquades yang dipanaskan hingga mendidih. Kemudian media dan alat-alat yang digunakan disetrilkan dalam autoklaf (suhu 121°C) selama 20 menit, setelah itu didinginkan sampai suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$. Pengujian antibakteri dilakukan dengan memadatkan media di dalam cawan, diinokulasi suspensi bakteri uji diseluruh bagian media, selanjutnya dibuat sumuran pada media. Kemudian kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak konsentrasi 500 µg/well, 250 µg/well, 125 µg/well diteteskan pada masing-masing sumur yang berbeda sebanyak 20 µL. Kemudian diinkubasi dalam inkubator (suhu 37°C). Pengamatan dilakukan 12 jam, 24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam. Diameter zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibakteri yang diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter (mm)³.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahap awal penelitian ini dilakukan proses pencucian pada simplisia untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia menggunakan air bersih. Pengeringan sampel tidak di bawah sinar matahari langsung hal ini bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak oleh adanya pertumbuhan jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama karena paparan sinar matahari dapat mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik yang mencegah penurunan mutu atau kerusakan pada simplisia. Penghalusan dan penyaringan bertujuan untuk memperoleh serbuk yang homogen dan untuk mempermudah proses penarikan zat aktif pada saat ekstraksi.

Langkah kedua yaitu proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Proses pengestraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Perendaman sampel pada maserasi ini akan memecah dinding membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam sel dan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah, sehingga senyawa golongan metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Proses ini juga sangat

baik karena dalam proses ekstraksi tidak menggunakan panas sehingga senyawa golongan metabolit sekunder tidak mengalami degradasi yang akan menyebabkan kerusakan pada metabolit sekunder. Pengulangan perendaman 3x24 jam dilakukan agar terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel, serta dilakukan untuk mengikat sisa senyawa golongan metabolit sekunder yang mungkin masih tertinggal pada serbuk sampel yang direndam. Semakin lama waktu maserasi yang digunakan, maka akan semakin banyak jumlah senyawa yang terekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah metanol karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun nonpolar. Metanol mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak dan metanol cenderung lebih murah dibandingkan dengan pelarut organik yang lain. Metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan golongan metabolit sekunder.

Langkah ketiga yaitu filtrat yang telah digabungkan selanjutnya diidentifikasi senyawa metabolit sekundernya dengan kromatografi lapis tipis. Adapun hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak akar mangrove *Rhizophora apiculata* pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel 1. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak akar mangrove *Rhizophora apiculata*.

Sampel Ekstrak akar mangrove <i>Rhizophora apiculata</i>	UV 254 nm	UV 366 nm
Eluen aquades 100%	Tidak berpendar	Tidak berpendar
Eluen aquades : metanol (5 : 5)	Tidak berpendar	Berpendar

Gambar 2. Noda dari ekstrak metanol akar *Rhizophora apiculata* pada UV panjang gelombang 366 nm.

Pada UV 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat

energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada UV 366 terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm. Pada UV 366 nm noda berwarna orange terang keungu-unguan, dugaan sementara noda tersebut ada senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan satu dari banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan yang biasa ditemukan pada bagian akar, batang, kulit, dan daun serta biji tumbuhan.

Maserat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* yang dilengkapi dengan pompa vakum, engan adanya pompa vacum pada *rotary evaporator* maka penguapan pelarut dapat dilakukan dibawah titik didih pelarut dan proses penguapan dapat berlangsung lebih cepat. Penguapan pelarut metanol dapat dilakukan di bawah titik didihnya yaitu pada suhu 31-41 °C. Proses ini dilakukan pada suhu tersebut untuk menjaga senyawa aktif yang terkandung tidak rusak karena pemanasan. Ekstrak kental sampel yang diperoleh dimasukkan kedalam botol vial lalu dimasukkan kedalam oven pada suhu ruang hingga metanol menguap. Ekstrak yang ada ditimbang dengan berat total ekstrak pada ketiga botol vial adalah sebesar 14,3166 gram kemudian dihitung berat rendamennya sebesar 14,31%.

Langkah selanjutnya adalah uji fitokimia. Skrining fitokimia merupakan metode pendekatan yang dapat digunakan dalam menentukan keberadaan senyawa metabolit sekunder tanaman. Golongan senyawa metabolit sekunder ditentukan secara kualitatif dengan melihat adanya perubahan warna, pengendapan atau pembentukan busa sesuai dengan pereaksi yang digunakan pada ekstrak metanol akar mangrove *Rhizophora apiculata*. Komponen yang terdapat dalam ekstrak metanol akar *Rhizophora apiculata* dianalisis golongan semuanya dengan tes uji warna dengan beberapa pereaksi untuk golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, senyawa golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak akar mangrove *Rhizophora apiculata* adalah senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid sedangkan senyawa steroid dan sponin tidak ditemukan dalam ekstrak tersebut. Hasil uji fitokimia ekstrak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia akar mangrove *Rhizophora apiculata*

No	Jenis identifikasi	Perubahan	Hasil
1	Alkaloid	Merah kecoklatan	+
2	Flavonoid	Merah/Kuning/Jingga	+
3	Steroid	Biru/Hijau	-
4	Triterpenoid	Merah	+
5	Saponin	Menghasilkan buih	-

Gambar 3. Hasil positif uji fitokimia akar mangrove *Rhizophora apiculata*. (a) uji alkaloid, (b) uji flavonoid, (c) uji triterpenoid

Uji golongan alkaloid diberi perlakuan penambahan HCl karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam untuk memberikan

suasana asam pada larutan. Pada skrining alkaloid menunjukkan hasil yang positif karena ada perubahan warna menjadi merah kecokelatan seperti pada gambar 3.

Senyawa alkaloid awalnya adalah zat yang beracun pada tanaman. Alkaloid digunakan untuk melindungi serangan hewan merumput dan serangga. Namun, alkaloid tergolong masih aman, alkaloid memicu terjadinya efek samping seperti gejala muntah, diare, gangguan sistem saraf pusat bila dipakai berlebihan, dan sebagainya. Fungsi alkaloid sendiri dalam tumbuhan sejauh ini belum diketahui secara pasti, namun alkaloid diperkirakan sebagai pelindung tumbuhan dari serangan hama dan penyakit, pengatur tumbuhan atau sebagai basa mineral untuk mempertahankan keseimbangan ion.

Golongan senyawa flavonoid teridentifikasi dalam ekstrak metanol akar *Rhizopora apiculata* yang ditandai dengan uji positif muncul warna merah/kuning/jingga, seperti pada gambar 3.

Manfaat flavonoid bagi kehidupan adalah sebagai antioksidan yaitu meminimalkan efek kerusakan pada sel dan jaringan tubuh, mencegah pengendapan lemak dalam dinding arteri, anti inflamasi, anti-alergi, anti-virus, mencegah penyakit kanker, dan sebagainya. Salah satu fungsi flavonoid dari tumbuhan adalah sebagai kerja antimikroba dan antivirus. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri.

Hasil uji golongan senyawa triterpenoid dan steroid teridentifikasi pada ekstrak metanol akar *Rhizopora apiculata* yang ditandai dengan terbentuknya warna merah jika positif terpenoid dan timbul warna biru/hijau jika positif steroid. Pada hasil uji menggunakan sampel akar *Rhizopora apiculata* dapat dilihat bahwa sampel positif mengandung senyawa triterpenoid, seperti pada gambar 3.

Senyawa triterpenoid banyak terdapat di minyak hati ikan hiu, dan minyak nabati (zaitun). Manfaat senyawa flavonoid untuk manusia adalah mengobati diabetes, gangguan menstruasi pada wanita, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Langkah keenam adalah uji aktivitas antibakteri. Untuk mengetahui apakah ekstrak akar *Rhizopora apiculata* dapat berkhasiat sebagai antibakteri, maka dilakukan pengujian daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tahap awal yang dilakukan adalah menyiapkan media untuk pembiakan (regenerasi) suspensi bakteri. Suspensi bakteri dibuat dengan cara menumbuhkan bakteri pada substrat. Substrat adalah media pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, bentuk cair yang di dalamnya mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Substrat yang digunakan adalah sediaan jadi dalam bentuk bubuk *Nutrient Both* (NB) mengandung nutrisi yang pada umumnya dibutuhkan bakteri. Media yang sudah homogen beserta alat-alat yang digunakan untuk uji disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit kemudian didinginkan sampai suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$. Autoklaf merupakan pemanas tertutup yang digunakan untuk mensterilisasi suatu benda menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi. Penurunan tekanan pada autoklaf tidak dimaksudkan untuk membunuh mikroorganisme, melainkan meningkatkan suhu dalam autoklaf. Suhu yang tinggi inilah yang akan membunuh mikroorganisme. Masing-masing media NB dimasukkan 20 mL dan dilakukan inokulasi bakteri. Inokulasi adalah pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi, penanaman bakteri terlebih dahulu diusahakan agar semua alat yang ada dalam hubungannya dengan medium agar tetap steril, hal ini agar menghindari terjadinya kontaminasi. Setelah itu dibuat sumuran pada media. Kemudian, larutan uji ekstrak dengan berbagai konsentrasi (500 $\mu\text{g/well}$, 250 $\mu\text{g/well}$, 125 $\mu\text{g/well}$); larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan larutan etanol 40 % sebagai kontrol

negatif, masing-masing ditetaskan pada sumur yang berbeda sebanyak 20 µl. Larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif untuk pengujian aktivitas bakteri karena merupakan salah satu antibiotika yang mempunyai spektrum kerja yang luas. Antibiotika ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif dengan cara menghambat sintesa protein bakteri. Bakteri uji yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri ini digunakan karena sudah mewakili bakteri gram positif dan gram negatif selain itu juga merupakan mikroorganisme patogen yang dapat menginfeksi tubuh manusia sehingga dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri kokus penghasil nanah yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit, pneumonia. Sedangkan *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri koliform yang menyebabkan diare dan disentri.

Uji aktivitas antibakteri senyawa hasil isolasi dengan metode difusi agar menunjukkan bahwa sampel D *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan ekstrak akar *Rhizophora apiculata* konsentrasi 500 µL/well, 250 µL/well, dan 125 µL/well pada semua waktu yaitu 12 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam menunjukkan tidak ada aktivitas karena pada konsentrasi tersebut masing-masing bakteri ternyata hanya memberikan diameter hambat rata-rata yang kecil bahkan tidak ada yang mencapai diameter 10 mm dan ada yang menunjukkan diameter awal yaitu 7 mm saja. Berikut hasil uji aktivitas antibakteri pada masing-masing konsentrasi seperti dilihat pada tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Eschericia coli*

Waktu	Replikasi	Diameter zona hambat (mm) Bakteri <i>Eschericia coli</i>				
		Kontrol negatif	Kontrol positif	Ekstrak akar <i>Rhizophora apiculata</i>		
				500 µg/well	250 µg/well	125 µg/well
12 jam	1	7	27	7	7	7
	2	7	29.7	7	7	7
	Rata-rata	7	28.35	7	7	7
24 jam	1	7	27.3	7	7	7
	2	7	28.3	7	7	7
	Rata-rata	7	27.8	7	7	7
48 jam	1	7	26	7	7	7
	2	7	26.7	7	7	7
	Rata-rata	7	26.35	7	7	7
72 jam	1	7	27.3	7	7	7
	2	7	27.3	7	7	7
	Rata-rata	7	27.3	7	7	7

Tabel 4. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Waktu	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)				
		Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>				
		Kontrol negatif	Kontrol positif	Ekstrak akar <i>Rhizophora apiculata</i>		
				500 µg/well	250 µg/well	125 µg/well
12 jam	1	7	24.3	7.6	7	7
	2	7	26.7	8.3	7	7
	Rata-rata	7	25.65	7.95	7	7
24 jam	1	7	25.6	8.6	7	7
	2	7	23.3	8	7	7
	Rata-rata	7	24.45	8.3	7	7
48 jam	1	7	26	8	8	7
	2	7	23	8	7	7
	Rata-rata	7	22.6	8	7.5	7
72 jam	1	7	27.6	7	7	7
	2	7	25	7	7	7
	Rata-rata	7	26.3	7	7	7

Keterangan:

Kontrol negatif = etanol 40%

Kontrol positif = kloramfenikol 0,5 mg/mL

Daya hambat antibakteri dari ekstrak metanol akar *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.

Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* pada masing-masing waktu yang telah ditentukan.

Gambar 5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing waktu yang telah ditentukan.

Dengan keterangan kontrol positif (+), kontrol negatif (-), konsentrasi ekstrak 500µg/well (A), konsentrasi ekstrak 250 µg/well (B), konsentrasi ekstrak 125 µg/well (C).

Menurut Davis (1971) di dalam Dian⁶, kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hasil pengukuran zona hambat pada tabel 4.6. dan 4.7. menunjukkan bahwa ekstrak akar pada konsentrasi 500 µg/well, 250 µg/well, dan 125 µg/well memiliki daya hambat sedang terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* karena memiliki ukuran zona bening 5-10 mm⁶.

Aktivitas ekstrak akar *Rhizophora apiculata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* lebih peka bila dibandingkan dengan Gram negatif *Escherichia coli*, hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran dibagian luar lapisan peptidoglikan. Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding sel bakteri Gram positif lebih rentan terhadap guncangan antibakteri, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya⁷.

Kontrol negatif (pelarut etanol 40%) yang digunakan tidak terdapat hambatan baik pada perlakuan pertama, kedua, ketiga maupun keempat. Dari hasil yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak memiliki respon penghambatan yang sedang terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dengan demikian, hasil dari pengujian tersebut menunjukkan setiap konsentrasi dari masing-masing ekstrak memberikan zona hambat yang berbeda yang semakin besar konsentrasi ekstrak semakin besar pula zona hambat yang terbentuk.

Perbedaan besarnya zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat diakibatkan karena adanya perbedaan besar kecilnya konsentrasi atau banyak sedikitnya kandungan zat aktif antibakteri yang terkandung di dalamnya serta kecepatan difusi bahan antibakteri ke dalam medium agar. Faktor-faktor lain yang juga dianggap dapat mempengaruhi terbentuknya zona hambat adalah kepekaan pertumbuhan antibakteri, reaksi antara bahan aktif dengan medium dan temperatur inkubasi. Terbentuknya zona bening merupakan bentuk penghambatan pertumbuhan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan kuman. Dalam penelitian ini, aktivitas antibakteri akar *Rhizophora apiculata* diduga karena adanya kandungan senyawa-senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid³.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia dan uji antibakteri dari akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, maka disimpulkan bahwa:

1. Senyawa golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak akar mangrove *Rhizophora apiculata* adalah senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid, sedangkan senyawa steroid dan saponin tidak ditemukan dalam ekstrak akar *Rhizophora apiculata*.
2. Ekstrak metanol akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* hanya mengalami perubahan zona hambat rata-rata pada konsentrasi 500 µg/well dengan waktu 12 jam = 7.95 mm, 24 jam = 8.3 mm, 48 jam = 8 mm, dan konsentrasi 250 µg/well 48 jam = 7.5 mm. Sementara ekstrak metanol akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* tidak mengalami perubahan

zona hambat. Ekstrak metanol akar *Rhizophora apiculata* memberikan aktivitas antibakteri sedang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

ACKNOWLEDGE

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Ibu Harlinda Kuspradini, P.Hd. selaku Kepala Laboratorium Kimia Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman atas kesediaan memberi bantuan demi kelancaran pelaksanaan penelitian laboratorium ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Noor. 2015. *Hutan Bakau*. www.wikipedia.com/hutan-bakau. diakses tanggal 12 Maret 2016.
2. Hariyadi. 2015. *Planting Mangrove Tour*. www.tipswisatabahari.com/nasional/bontang/planting-mangrove-tour/. diakses tanggal 12 Maret 2016.
3. Vivi, Jimmi, dkk., 2015. *Uji Efek Antibakteri Daun Mangrove Rhizophora apiculata terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
4. Awaludin Asep, Firdaus, dkk., 2011. *Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (Excoecaria agallocha) dari Muara Sungai Porong*. Malang: Universitas Brawijaya.
5. Trianto Agus, dkk., 2004. *Ekstrak Daun Mangrove Aegiceras corniculatum Sebagai Antibakteri Vibrio harveyi dan Vibrio parahaemolyticus*. Semarang: UNDIP.
6. Dian Handayani. 2009. *Isolasi Senyawa Kimia Utama dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Spon Laut Petrosia nigrans*. Padang: Universitas Andalas.
7. Nurainun H. 2013. *Uji Efek Antibakteri Daun Mangrove Rhizophora apiculata terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*. Medan: Universitas Sumatera Utara.