

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL FRAKSI N-HEKSANA, ETIL
ASETAT, DAN AIR PADA DAUN MANGROVE BAKAU
(*Rhizophora Mucronata*) SEBAGAI ANTIBAKTERI
*Staphylococcus Aureus***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) dalam Ilmu Kimia**



Laily Sakinatul Afiddah

2008036029

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG**

2025

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL FRAKSI N-HEKSANA, ETIL
ASETAT, DAN AIR PADA DAUN MANGROVE BAKAU
(*Rhizophora Mucronata*) SEBAGAI ANTIBAKTERI
*Staphylococcus Aureus***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) dalam Ilmu Kimia**

Laily Sakinatul Afiddah

2008036029

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO**

SEMARANG

2025

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Laily Sakinatul Afiddah

NIM : 2008036029

Jurusan: Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**Aktivitas Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksana, Etil Asetat,
Dan Air Pada Daun Mangrove Bakau (*Rhizophora
Mucronata*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus***

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian atau karya saya sendiri, kecuali bagian lain yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 13 Maret 2025

Pembuat Pernyataan



Laily Sakinatul Afiddah

NIM.2008036029

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini :

Judul : **Aktivitas Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Pada Daun Mangrove Bakau (*Rhizophora Mucronata*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus***

Nama : Laily Sakinatul Afiddah

NIM : 2008036029

Jurusan : Kimia

Telah diujikan dalam sidang munaqosah oleh dewan penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains dalam ilmu kimia.

Semarang, 24 Juni 2025

DEWAN PENGUJI

Penguji I



Ana Mardiyah M. Si

NIP.198905252019032019

Penguji II



Mutista Hafshah, M. Si

NIP.199401022019032015

Penguji III



Rais Nur Lathifah, M.Si

NIP.199203042019032019



Penguji IV



Dr. R. Arizal Firmansyah, S. Pd., M. Si

NIP.197908192009121001

Pembimbing



Rais Nur Lathifah, M.Si

NIP.199203042019032019

NOTA DINAS

Semarang, 13 Maret 2025

Yth. Ketua Program Studi Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan :

Judul : Aktivitas Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Pada Daun Mangrove Bakau (*Rhizophora Mucronata*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus*

Nama : Laily Sakinatul Afiddah

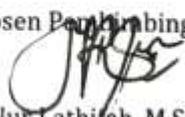
NIM : 2008036029

Jurusan: Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam sidang Munaqosah.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dosen Pembimbing



Rais Nur Lathifah, M.Si

NIP.199203042019032019

ABSTRAK

Staphylococcus aureus bisa menjadi penyebab keracunan makanan, dikarenakan bakteri tersebut bisa memperoleh zat enterotoksin dikenal atas *Staphylococcal Enterotoxin* (SE). Penelitian ini bertujuan guna memahami Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) serta juga Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, serta fraksi air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) atas bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode uji yang dipakai yakni metode difusi cakram juga metode dilusi. Konsentrasi minimum yang dibutuhkan guna menghambat pertumbuhan (KHM) bakteri *Staphylococcus aureus* yakni pada konsentrasi 6,25% ekstrak etanol daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*), sedangkan pada ekstrak etanol daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) konsentrasi 12,5%. Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk membunuh (KBM) bakteri *Staphylococcus aureus* atas ekstrak etanol yakni konsentrasi 25, dan ekstrak fraksi etil asetat daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yakni pada konsentrasi 50%.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, *Rhizophora mucronata*, KHM, KBM, Metode dilusi, Metode difusi cakram

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur selalu terpanjatkan atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat serta kasih sayang-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Shalawat serta salam senantiasa kita haturkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, yang ditunggu syafaatnya di yaumul akhir.

Skripsi dengan judul “Aktivitas Ekstrak Etanol Fraksi N-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Pada Daun Mangrove Bakau (*Rhizophora Mucronata*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus*” ini disusun guna memenuhi tugas akhir untuk mendapatkan gelar sarjana sains dalam ilmu kimia Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Walisongo Semarang.

Selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis menyadari begitu banyak bantuan dari berbagai pihak yang sudah meluangkan waktunya, mendidik dan membimbing, memberikan motivasi serta mendoakan yang terbaik kepada penulis. Kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terimakasih sebesar besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M. Ag, selaku rektor UIN Walisongo Semarang
2. Bapak Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag, selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang
3. Ibu Mulyatun, M.Si, selaku ketua Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang
4. Ibu Rais Nur Latifah, M.Si, selaku pembimbing tugas akhir yang telah sabar dan meluangkan banyak waktu untuk melakukan bimbingan, petunjuk, dorongan, serta motivasi bagi penulis dari awal hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Ibu Mutista Hafshah, M.Si, selaku wali dosen yang sudah mendampingi dari awal masuk kuliah hingga penulis menyelesaikan studi di Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang
6. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan ilmu dan pengalamannya kepada penulis, semoga ilmu yang diberikan dapat bermanfaat, berkah, dan menjadi ladang pahala. Aamiin
7. Kedua orang tua penulis Ibu Isroul Maula dan bapak Shokhifuddin, sosok hebat yang menjadi panutan penulis, kasih sayang beliau terus mengalir serta doa yang tak pernah putus dipanjatkan untuk penulis. Terima kasih selalu mengusahakan kebahagiaan penulis.

8. Diri penulis sendiri, Laily Sakinatul Afiddah, Apresiasi sebesar-sebesarnya atas pencapaian sampai tahap ini, meskipun tidak mudah namun selalu berusaha agar tidak menyerah sekalipun kesempatan menyerah sering berdatangan. Semoga tetap rendah hati dan tetap kuat di episode kehidupan mendatang
 9. Saudara satu-satunya penulis, Nabila Ni'mal Uqba, terima kasih atas dukungan moril yang tiada henti
 10. Diah Inggrita dan Devita, dan Mahmudah terima kasih telah kebersamai proses penulis selama di UIN Walisongo Semarang.
 11. Safina, Salsabila, Ayu Firada, Amiruddin, Yahya, dan Rion, terima kasih telah menjadi teman baik penulis selama perkuliahan. Rizanati Fikrina, Terima kasih telah kebersamai masa-masa semester akhir penulis
 12. Teman-teman Kimia angkatan 2020 yang menjadi teman seperjuangan penulis selama di bangku perkuliahan
 13. Semua pihak yang terlibat dalam proses penyusunan skripsi yang belum bisa tersebutkan secara personal
- Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda atas segala bantuan dan dukungan kepada penulis. Penulis menyadari jika penulisan skripsi ini masih banyak kelemahan serta kekurangan. Maka dari itu dengan segala kerendahan hati mengharapkan kritik, saran dan masukan agar skripsi dapat tersusun lebih baik

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
PENGESAHAN	iv
NOTA DINAS	v
ABSTRAK.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	7
A. Tujuan Penelitian.....	8
B. Manfaat Penelitian	9
BAB II LANDASAN PUSTAKA	10
A. Landasaan Teori.....	10
1. Tanaman Mangrove Bakau	10
2. Ekstraksi.....	12
3. Fraksinasi	14
4. Metabolit Sekunder.....	15
5. Aktivitas Anti Bakteri	23
6. Metode Uji Antibakteri	24
7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	28

B. Tinjauan Pustaka	30
C. Hipotesis.....	32
BAB III METODE PENELITIAN	33
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
B. Alat dan Bahan	33
C. Metode Uji Antibakteri	34
1. Pengambilan dan Preparasi Sampel	34
2. Pengambilan ekstrak.....	35
3. Fraksinasi Ekstrak	36
4. Skrining Fitokimia	37
5. Pengujian Antibakteri.....	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	48
A. Ekstraksi Daun Mangrove	48
B. Fraksinasi Ekstrak	50
C. Uji Fitokimia.....	53
D. Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram.....	69
E. Uji Antibakteri Metode Dilusi.....	75
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	81
A. Kesimpulan	81
B. Saran.....	82
DAFTAR PUSTAKA.....	83
LAMPIRAN	99

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Rhizopora Mucronata.....	12
Gambar 2.2 Struktur Antosianin	17
Gambar 2.3 Struktur Alkaloid turunan isoquinolin.....	19
Gambar 2.4 Struktur Saponin.....	20
Gambar 2.5 Struktur Tanin	22
Gambar 2.6 Struktur Fenolik.....	23
Gambar 2.7 Morfologi Staphylococcus Aereus.....	30
Gambar 4.1 Ekstrak kental daun Mangrove bakau	50
Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid	56
Gambar 4.3 Reaksi Uji Flavonoid	56
Gambar 4.4 Hasil Uji Alkaloid	57
Gambar 4.5 Reaksi Uji Alkaloid	58
Gambar 4.6 Hasil Uji Saponin	59
Gambar 4.7 Reaksi Uji Saponin	60
Gambar 4.8 Hasil Uji Tanin	61
Gambar 4.9 Reaksi Uji tanin	61
Gambar 4.10 Hasil uji Fenolik	62
Gambar 4.11 Reaksi uji Fenolik	62
Gambar 4.12 Interaksi molekuler Flavonoid dan fosfolipid membran sel.....	64
Gambar 4.13 Interaksi kuinazolon dengan fosfolipid sel bakteri.....	65

Gambar 4.14 Interaksi molekuler saponin dan fosfolipid membran sel.....	66
Gambar 4.15 Interaksi molekuler gallotanin dan fosfolipid...	68
Gambar 4.16 Interaksi molekuler Fenol dan fosfolipid.....	69
Gambar 4.17 Hasil Uji Antibakteri	72
Gambar 4.18 Grafik Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Daya Hambat	75
Gambar 4.19 Variasi Larutan Uji KHM Sebelum diinkubasi ..	77
Gambar 4.20 Variasi Larutan Uji KHM Setelah diinkubasi	77
Gambar 4.21 Hasil Uji KHM.....	81

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Efektifitas zona hambat	27
Tabel 4. 1 Hasil fraksinasi	51
Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia	53
Tabel 4.3 Daya Hambat Uji Antibakteri ekstrak daun mangrove bakau terhadap bakteri.....	65
Tabel 4.4 Range Daya Hambat Antibakteri	66
Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Uji KHM.....	71
Tabel 4.6 Hasil Uji KBM.....	74

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ikan yang kurang segar menjadi substrat yang baik bagi pertumbuhan mikroba tak terkecuali bagi bakteri, sehingga pasca kematian ikan akan menjadi mudah membusuk (Fauzi et al., 2022). Olahan ikan yang kurang baik bisa membuat kontaminasi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* serta *Staphylococcus aureus* (Makagansa et al., 2015). Bakteri *S. Aureus* ialah bakteri gram positif yang memiliki ketahanan hidup tinggi meskipun pada keadaan lingkungan yang tidak mendukung. Kontaminasi *Staphylococcus aureus* bisa menyebabkan keracunan, dikarenakan bakteri tersebut bisa memperoleh zat enterotoksin dikenal dengan *Staphylococcal Enterotoxin* (SE). Enterotoksin jenis ini akan mempengaruhi kerja usus halus, sehingga ada peningkatan sekresi cairan pada usus, hal tersebut yang akan menyebabkan gejala diare bahkan muntah-muntah pada jangka waktu yang pendek (Karimela et al., 2013). Pembentukan enterotoksin oleh *Staphylococcus aureus* pada ikan terjadi sangat cepat karna dipengaruhi oleh komposisi substrat, suhu, dan pH (Yennie et al., 2022).

Pengobatan kontaminasi bakteri selama ini dilaksanakan pemberian antibiotik sintesis. Pemakaian

antibiotik yang dilakukan terus menerus nantinya membuat efek samping berupa kekebalan mikroba patogen. Oleh karena itu diperlukan inovasi-inovasi terbaru terkait zat antibakteri atas bahan alami. Menurut Fazila, (2022), penggunaan antibakteri dari ekstrak bagian tumbuhan lebih efisien pada menanggulangi penyakit yang disebabkan bakterial. Tumbuhan mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) terindikasi terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder contohnya flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Saragih et al., 2020). Senyawa metabolit sekunder tersebut mempunyai andil saat memperlambat tumbuhnya bakteri perusak kesegaran ikan. Flavonoid yang terdiri atas banyak gugus hidroksil memiliki kemampuan merusak membran sel mikroba, melalui mekanisme transpor nutrisi dan komponen organik (Triwanda & Hastuti, 2023). Senyawa alkaloid bersifat toksik terhadap mikroba dengan adanya perusakan komponen penyusun peptidoglikan, jadi lapisan dinding sel akan cacat (Hidayah et al., 2017).

Beberapa penelitian terdahulu sudah menyatakan bahwa pada tumbuhan mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) terlebih atas bagian daunnya terkandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang bisa dimanfaatkan atas antibakteri (Rahayuningsih et al., 2023)(Francis et al., 2021). Mahmiah et al., (2020) sudah

melakukan penelitian terhadap ekstrak kulit batang tumbuhan mangrove bakau (*Rhizophora mucronota*), hasil atas penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak kulit batang mangrove bakau (*Rhizophora mucronota*) memiliki sifat antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Pengujian kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak daun mangrove (*Rhizophora mucronota*) terindikasi positif dan memiliki struktur hidrokarbon atas gugus alkaloid. Hasil uji senyawa bioaktif berpotensi atas antibiotik atas bakteri resisten *Escherichia coli*, terbukti atas diameter daya hambat ekstrak metanol daun mangrove (*Rhizophora mucronota*) sebesar 7,10-8,25 mm (Indriani & Agustina, 2019). ekstrak daun mangrove (*Rhizophora mucronota*) juga memiliki daya hambat terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*. Persentase penghambatan ekstrak daun mangrove (*Rhizophora mucronota*) atas konsentrasi 10000 ppm memiliki daya hambat sebesar 24.88%, sedangkan pada konstentrasi 20000 ppm bisa memperlambat sebesar 26.88% (Egra et al., 2019)

Pemanfaatan tumbuhan atas alternatif antibakteri bahkan atas bahan baku obat banyak dipilih karena kemanfaatan atas senyawa dan terkandung juga aktivitas farmakologis atas tumbuhan terlebih tumbuhan mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yang sangat melimpah. Keberadaan tumbuhan yang bisa dimanfaatkan atas obat di

alam sangatlah melimpah. Allah SWT. sudah menumbuhkan beragam tanaman agar bisa dimanfaatkan atas baik oleh manusia, hal tersebut atasmana termaktub atas Al-Qur'an pada surah Asy- Syu'ara ayat 7 berikut ini :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Apakah mereka tidak memperdulikan bumi, sangat banyak Kami sudah membuat tumbuh di sana semua macam (tanaman) yang tumbuh bagus?”.

Tafsir Al-Misbah yang ditulis oleh Prof. Dr. K.H. Quraisy Shihab, Lc., M.A, menyebutkan, pemaknaan yang luas terhadap arti kata “menumbuhkan” yakni berkaitan atas kebermanfaatan tumbuhan di bumi yang begitu banyak ialah tanda kekuasaan Allah SWT. Sesungguhnya apabila manusia bersedia merenungkan serta mengamati hal tersebut, pasti mereka nantinya memperoleh petunjuk . Salahsatu kebermanfaatan tumbuhan yang menjadi landasan penelitian ini, yakni tumbuhan bisa dimanfaatkan atas obat melalui pengaplikasian pada bidang antibakteri (Shihab, 2005).

Hutan Mangrove Pantai Tirang Desa Tambakrejo, Kecamatan Tugu, ialah tepi pesisir yang memiliki ekosistem mangrove melimpah. Kuantitas tanaman mangrove pada tahun 2023 mencapai 113,93 Ha (Suroso, 2022). Salah satu jenis mangrove yang mendominasi yakni mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*). Pemilihan jenis mangrove

dikarenakan sifat dan karakteristik atas mangrove bakau yang mudah tumbuh atas penyebaran benih selanjutnya tahan terhadap temperatur lingkungan yang panas serta akar tanaman yang mampu atas penopang ombak, akibatnya mendominasi pinggiran laut daerah tersebut (Fauziningrum et al., 2023).

mengarah pada penelitian Karundeng et al., (2022) ekstrak daun bakau (*Rhizophora mucronata*) pada konsentrasi 100% optimal memperlambat tumbuh bakteri *S. aureus*. Pelarut yang dipakai atas penelitian ini yakni pelarut air. Konsentrasi 100% disusun atas 1000 mg sebungkus daun bakau (*Rhizophora mucronata*) kering yang dilarutkan pada 100 mL aquades. Pemilihan pelarut air dinilai kurang efektif pada ekstraksi senyawa alami atas bahan alam karena bisa membuat reaksi fermentatif sehingga membuat kerusakan bahan aktif yang lebih cepat (Lajoie et al., 2022). Penggunaan pelarut etanol atas penelitian ini mengarah pada penelitian yang dilaksanakan atas Ligina & Sudarmin, (2022). Pada pengujian ini berfokus pada aktivitas antibakteri atas senyawa alkaloid yang ada di ekstrak akar tanaman *Rhizopora mucronota*. Hasil rendemen ekstrak akar tanaman mangrove *Rhizpora mucronota* atas pelarut etanol sebesar 10,67%, sedangkan hasil rendemen memakai pelarut n-heksana hanya sebesar 4%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan atas bakteri uji *S. Aureus* juga *E. Coli*.

Metode yang dipakai yakni *paper disk*. Senyawa alkaloid yang terkandung termasuk pada golongan isoquinolin memiliki aktivitas antibakteri atas intensitas lemah, terbukti daya hambat atas bakteri *S. Aureus* hanya sejumlah 2 mm, sementara daya hambat atas bakteri *E. Coli* 0 mm.

Pelarut etanol tergolong pelarut polar, jadi bisa menarik senyawa-senyawa yang terkandung pada daun. Selain itu titik didih etanol yang rendah memudahkan proses ekstraksi karena tidak membutuhkan suhu tinggi pada proses ekstraksi sehingga tidak akan merusak senyawa-senyawa fitokimia yang ada di daun mangrove bakau (*Rhizpora mucronata*). Penelitian yang sudah dilaksanakan atas Sammanta et al., (2023) terkait penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% juga fraksi-fraksi. Hasil rendemen ekstrak etanol daun mangrove (*Rhizpora mucronata*) pada beberapa fraksi dibisakan 40,49% fraksi air, 9,74% fraksi *etil asetat*, serta 32,49 fraksi *n-heksana* (Sammanta et al., 2023). Berdasarkan hasil rendemen yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun mangrove bakau (*Rhizpora mucronata*) masih tergolong tinggi. Konsentrasi atas pelarut bisa mempengaruhi hasil ekstraksi, komponen senyawa, dan presentase rendemen. Sehingga makin tinggi konsentrasi etanol yang akan dipakai senyawa yang bisa terekstrak

semakin banyak juga hasil rendemen yang tinggi (Novaryatlin et al., 2018).

Selama ini pemanfaatan penanaman tanaman mangrove hanya sebatas pada akar yang bisa menahan abrasi. Kurangnya pemanfaatan daun tanaman mangrove bakau terutama atas antibakteri pada daerah tersebut mendasari tujuan atas penelitian ini guna menguji serta memahami kegiatan antibakteri atas ekstrak etanol fraksi *n-heksana*, *etil Asetat*, serta air daun mangrove bakau (*Rhizophora Mucronata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Rumusan Masalah

1. Apa sajakah kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada di ekstrak etanol fraksi *n-heksana*, *etil asetat*, serta air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*)?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n-heksana*, *etil asetat*, serta air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram?
3. Berapa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun mangrove bakau

(Rhizophora mucronata) bakteri *Staphylococcus aureus*?

A. Tujuan Penelitian

1. Menganalisis kandungan senyawa Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol fraksi *n-heksana*, *etil asetat*, serta air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) di hutan Mangrove wilayah pantai tirang Desa Tugurejo, Kecamatan Tugu, Kota Semarang, Jawa Tengah.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol fraksi *n-heksana*, *etil asetat*, serta air daun mangrove mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram.
3. Mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) serta juga Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) efektif sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini disemogakan memberi data juga pengetahuan bahwa senyawa metabolit sekunder pada daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) berpotensi sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Selain itu juga bisa memberikan informasi macam konsentrasi ekstrak etanol fraksi *n-heksana*, *etil asetat*, serta air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yang optimal membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Landasaan Teori

1. Tanaman Mangrove Bakau (*Rhizophora mucronata*)

Indonesia telah terkenal dengan negara maritim, hal tersebut terbukti dari perairan yang luas (2/3 dari total luas wilayah). Akibatnya menjadikan Indonesia sebagai tempat yang ideal untuk tumbuhnya mangrove. Wilayah Indonesia merupakan negara kepulauan dengan luasan mangrove terbesar di dunia, sekitar 3.153.000 Ha, dari 23% total luas ekosistem mangrove yang tersebar di dunia (Pramudji, 2018). Mangrove ialah jenis tanaman dikotil yang hidup di habitat air payau dan air laut. Mangrove termasuk pohon dan perdu, terdiri dari 12 genera tumbuhan berbunga dalam 8 famili yang berbeda (Pramudji, 2018).

Rhizophora mucronata atau biasa lebih sering disebut tumbuhan bakau, memiliki beberapa nama lain diantaranya, bakau kurap, bakau gandal, dan bakau bangko. Tanaman yang masuk kedalam famili *rhizophoroceae* biasa hidup di daerah pasang surut air laut yang berpasir. Bentuk akar dari tumbuhan mangrove jenis ini akar tunjang yang tumbuh menggantung dari bagian cabang paling bawah dan memiliki sel lilin sebagai alat pernapasan karena dapat

dilewati oksigen akan tetapi tidak menyerap air. Berikut gambar daun tanaman *Rhizophora mucronata* pada gambar 2.1



Gambar 2.1 Daun *Rhizophora Mucronata* (Fazila, 2022)

Klasifikasi tumbuhan Mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yang termuat dalam website POWO (*Plants of the World Online*) (2024) sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>malpighiales</i>
Famili	: <i>Rhizophoraceae Pers</i>
Genus	: <i>Rhizophora</i>
Spesies	: <i>Rhizophora mucronata</i>

Bagian tanaman mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yang efektif digunakan sebagai antibakteri yakni pada bagian daun. Bagian daun banyak terkandung senyawa metabolit sekunder hal ini disebabkan terjadinya fotosintesis pada daun akibatnya banyak senyawa kimia yang tersintesis. Penelitian tentang kandungan fitokimia pada tumbuhan mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) telah dilakukan oleh Lesdiana & Usman, (2021) senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) diantaranya, flavonoid, alkaloid, steroid, feolik dan saponin. Daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) mempunyai kandungan metabolit sekunder berupa tanin yang bisa menghambat kerja enzim ekstraseluler bakteri akibatnya terjadi kematian pada bakteri, selain itu kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid serta saponin dapat merusak membran bakteri (Indriani & Agustina, 2019).

2. Ekstraksi

Hasil isolasi suatu senyawa tertentu dipengaruhi oleh tahap ekstraksi. Senyawa-senyawa fitokimia dapat dipisahkan dari bahan tanaman dengan berbagai teknik ekstraksi. Salahsatu metode konvensional ekstraksi yang paling umum digunakan yakni maserasi, perkolasi, infus, destruksi, decoction, ekstraksi panas terus menerus

(ekstraksi Soxhlet), dan lain sebagainya. Metode ekstraksi juga mengalami pembaruan sehingga didapat metode yang lebih modern seperti *Supercritical Fluid Extractions (SFE)*, *Microwave-Assisted Extraction (MAE)* dan *Accelerated Solvent Extraction (ASE)*, *Ultrasound Assisted Extraction (UEA)* (Dhanani et al., 2017).

Hasil dari proses ekstraksi senyawa fitokimia pada bahan tanaman dapat dipengaruhi oleh faktor pra-ekstraksi diantaranya:

- Bagian tanaman yang digunakan
- Asal dan ukuran partikelnya
- Kadar air
- Metode pengeringan
- Tingkat pemrosesan

Beberapa faktor proses ekstraksi juga dapat mempengaruhi hasil senyawa fitokimia yang didapat, diantaranya:

- Metode ekstraksi yang digunakan
- Pemilihan pelarut
- rasio pelarut terhadap sampel
- pH dan suhu pelarut
- Waktu ekstraksi (Arbidar et al., 2022)

Berdasarkan jenis pelarut yang digunakan ekstraksi dapat digolongkan menjadi dua, yaitu ekstraksi

cara dingin dan ekstraksi cara panas. Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada sifat bahan dan senyawa yang akan diekstraksi. Proses ekstraksi yang paling dasar yakni metode maserasi. Metode maserasi berlangsung dengan suhu rendah, atau tanpa penambahan suhu. Simplisia yang telah disamakan ukurannya dan pelarut yang digunakan dimasukkan ke dalam wadah inert tertutup dengan suhu kamar. Proses ekstraksi selesai ketika dirasa tidak adanya kontak antara pelarut dengan ekstrak tanaman yang ditandai dengan perubahan pelarut menjadi bening. Setelah proses ekstraksi pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhtarini, 2014).

Luas permukaan dari suatu simplisia mempengaruhi hasil rendemen. Semakin luas permukaan semakin besar rendemen yang dihasilkan. Variasi perbandingan antara pelarut dan ekstrak juga dapat mempengaruhi rendemen, semakin besar masa ekstrak dibandingkan volume pelarut, rendemen yang dihasilkan akan lebih tinggi. Penentuan rendemen digunakan untuk mengetahui kadar metabolit yang terbawa oleh pelarut. (Winterton, 2021).

3. Fraksinasi

Fraksinasi termasuk metode pemurnian ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi dengan

menggunakan dua jenis cairan yang berbeda yang tidak dapat tercampur. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut-pelarut yang memiliki perbedaan kepolaran (Akhsanita, 2012). Pemilihan pelarut *n-heksana* sebagai pelarut non-polar dengan tujuan menarik zat lipid pada ekstrak. Pelarut *etil asetat* digunakan untuk menarik senyawa polar. Prinsip dasar fraksinasi yakni adanya interaksi penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan perbedaan polaritas pelarut.

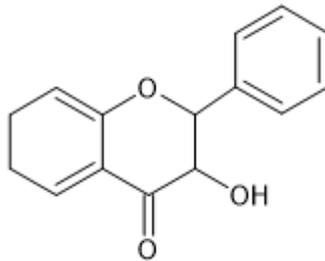
Metode fraksinasi yang umum digunakan yakni fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah. Pemisahan ini menggunakan dua cairan yang tidak dapat bercampur, sehingga mudah dipisahkan. Selain itu fraksinasi juga dapat dilakukan dengan metode kromatografi kolom, kromatografi cair vakum (KCV), *solid-phase extraction* (SPE), dan *size-exclusion chromatography* (SEC), (Ibrahim et al., 2016).

4. Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder memiliki manfaat dalam menjaga kondisi makhluk hidup agar memiliki ketahanan terhadap ancaman baik dari dalam ataupun dari luar lingkungannya (Triwanda & Hastuti, 2023). Menurut Beberapa penelitian fitokimia yang penting dalam tumbuhan antara lain :

a. Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa metabolit sekunder golongan aromatik yang mempunyai struktur kimia dengan dua rantai alifatik. Senyawa Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, diantaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri (Alhaddad et al., 2019b). Struktur kimia dari antiosianin sebagaimana pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur Antosianin (Ifadah et al., 2022)

Turunan senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antimikroba yakni antosianin (Nomer et al., 2019). Antosianin merupakan turunan dari senyawa flavonoid, yang dikenal memiliki berbagai manfaat farmakologis, termasuk sifat antibakteri.

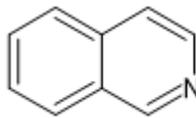
Mekanisme kerja antosianin sebagai agen antibakteri terjadi karena interaksi intraseluler dan membran. Fungsi dari sel bakteri akan dirusak, sehingga integritas dari bakteri akan terganggu. (Andriyani et al., 2023).

b. Alkaloid

Alkaloid ialah Kelompok senyawa yang memiliki senyawa nitrogen dalam bentuk gugus amin. Alkaloid memiliki sifat beracun, sehingga memiliki nilai farmasi yang tinggi dalam pengobatan. Senyawa alkaloid memiliki banyak jenis dan struktur kimia yang sangat berbeda satu sama lain, meskipun berada dalam satu kelompok (Julianto, 2019). Alkaloid termasuk kedalam senyawa metabolit sekunder dengan sifat basa. Turunan senyawa alkaloid yang memiliki sifat toksik terhadap mikroba yakni isoquinolin. Akibatnya senyawa alkaloid dapat merusak komponen yang menyusun peptidoglikan, sehingga lapisan dinding sel menjadi cacat dan sel tidak dapat bertahan hidup (Akasia et al., 2021) .

Turunan senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri yakni isoquinolin. Reaksi isoquinolin dapat menghambat

pertumbuhan bakteri dengan mengganggu pembentukan komponen penyusun peptidoglikan atas sel bakteri akibatnya bakteri menjadi lisis. Isoquinolin juga dapat menghambat proses sintesis protein. Penghambatan tersebut mengakibatkan bakteri *Staphylococcus aureus* salah membaca kode pada m-RNA oleh t-RNA dan menghambat enzim topoisomerase bakteri *Staphylococcus aureus* (Ligina & Sudarmin, 2022). Struktur kimia alkaloid turunan isoquinolin sebagaimana gambar 2.3

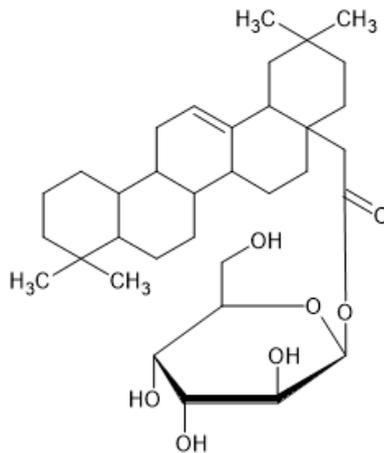


Gambar 2.3 Struktur Alkaloid turunan isoquinolin
(Dey et al., 2020)

c. Saponin

Saponin tersusun atas senyawa-senyawa hasil kondensasi gula dengan senyawa hidroksil organik, ketika melalui reaksi hidrolisis akan menghasilkan gula dan non gula. Saponin tergolong jenis glikosida yang dapat ditemukan pada tumbuhan golongan tinggi. Senyawa glikosida dalam saponin merupakan kompleks dengan berat

molekul tinggi. Didasarkan pada struktur kimianya, saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas, yaitu: kelas steroid, alkaloid, dan triterpenoid. Penamaan saponin dalam bahasa latin berarti “sabun”, sehingga saponin memiliki sifat utama seperti sabun. Bentuk saponin berupa koloid yang mudah larut dalam air kemudian berbusa permanen setelah dikocok dan bersifat basa (Chairunnisa et al., 2019). Struktur kimia dari saponin terdapat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Saponin (Li & Monje-Galvan, 2023)

Saponin banyak dikenal dengan surfuktan alami sehingga diaplikasikan dalam bidang farmasi, kosmetika, makanan, bahkan bidang

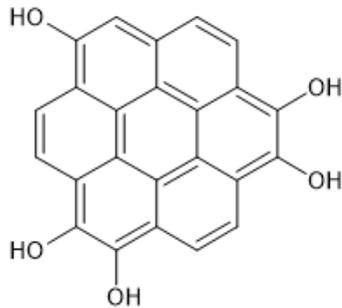
bioremediasi tanah. Fungsi saponin yakni sebagai antibakteri, antifungi, serta melindungi tanaman dari seragan serangga. (Fadhila, 2023). Mekanisme saponin sebagai antibakteri yakni menuunkan tegangan permukaan sel bakteri, akibatnya terjadi peningkatan permeabilitas bahkan kebocoran pada sel bakteri. Selain itu saponin dapat menghambat sintesis biofilm yang dapat mengatasi resistensi antibiotik (Kregiel et al., 2018).

d. Tanin

Tanin tergolong senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang dapat disintesis oleh tanaman tersebut dengan sendirinya. Sifat kimia dari tanin diantaranya, mudah larut dalam pelarut organik, dapat terhidrolisis oleh asam maupun basa (Hersila et al., 2023). Pemanfaatan tanin sebagai obat-obatan karena kandungan tanin yang mampu mengatasi anti-diare serta anti-inflamasi. Fungsi biologis dalam senyawa tanin cukup kompleks karena dapat mengendapkan gelatin, protein, dan alkaloid (Julianto, 2019).

Efek penghambatan pertumbuhan bakteri dari tanin cukup baik, tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri

gram negatif. Mekanisme potensial tersebut meliputi kelasi besi, penekanan sintesis dinding sel, dan kerusakan pada membran sel. Struktur senyawa tanin terdiri atas senyawa polifenol, dimana cincin-cincin benzena (C6) diikat oleh gugus hidroksil (-OH). Sebagaimana pada gambar 2.5.



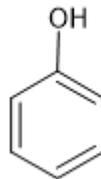
Gambar 2.5 Struktur Tanin (Hersila et al., 2023)

Didasarkan pada struktur kimianya, tanin dikelompokkan menjadi tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Perbedaan kedua jenis tanin tersebut pada ketahanan senyawa tanin dalam proses penguraian. Tanin terhidrolisis dapat teruraikan secara berkala ketika disimpan dengan larutan air, bereaksi dengan asam dan enzim. Sedangkan tanin terkondensasi akan tahan terhadap penguraian, dan tidak mudah larut dalam

air. Tanin terkondensasi cenderung memiliki berat molekul lebih luas. (Nofita & Dewangga, 2022).

e. Fenolik

Senyawa fenolik terbentuk atas kombinasi anatara mono dan polisakarida berikatan dengan gugus fenolik, dapat disebut juga sebagai turunan ester atau metil ester. Senyawa fenolik secara struktral memiliki kemampuan dalam mengikat radikal bebas sehingga berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Senyawa fenolik bermanfaat sebagai antibakteri, dalam mekanisme kerjanya senyawa fenolik mampu menurunkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) hal tersebut disebabkan banyaknya polifenol yang akan bereaksi memutus rantai radikal bebas (Mahardani & Yuanita, 2021).



Gambar 2.6 Struktur Fenolik (Mahardani & Yuanita, 2021)

5. Aktivitas Anti Bakteri

Aktivitas antibakteri adalah merupakan suatu reaksi yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri yang dianggap merugikan melalui mekanisme tertentu. Mekanisme antibakteri dapat berupa penghambatan atau merusak dinding sel. Selain itu juga dapat dengan mekanisme perubahan, dimana sitoplasma membran akan diubah sehingga bahan inti dari dalam membran sel akan keluar. Mekanisme perubahan juga dapat terjadi pada molekul protein, sehingga terjadinya penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (WHO, 2014). Target utama antibiotik pada bakteri *Staphylococcus Aureus* diantaranya, dinding sel, membran sel, sintesis DNA/RNA, ribosom, dan metabolisme asam folat. Dinding sel merupakan komponen utama bakteri yang terdiri atas peptidoglikan. Lapisan peptidoglikan terdiri dari untaian glikana yang dipolimerisasi dan saling terkait oleh aksi kolektif lebih dari 10 protein (Ganesan et al., 2023).

Proses pemantauan aktivitas antibakteri dapat dilihat dari hasil penghambatan pertumbuhan bakteri serta kemampuan pembunuhan. Setiap aktivitas baik penghambatan pertumbuhan dan pembunuhan bakteri terdapat kadar minimal. Kadar hambat minimal (KHM) adalah konsentrasi minimal dari suatu zat antimikroba

dalam penghambatan pertumbuhan bakteri setelah proses inkubasi serta tidak menumbuhkan koloni. Sedangkan Kadar bunuh minimum (KBM) merupakan konsentrasi terkecil dari suatu antibakteri yang dapat membunuh bakteri (Prayoga, 2013).

6. Metode Uji Antibakteri

Antibakteri merupakan kemampuan suatu ekstrak dalam melumpuhkan bakteri, terlebih pada bakteri patogen yang merugikan. Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme berdasarkan acuan ketentuan kekuatan aktivitas antibakteri dari diameter zona hambatan yang terbentuk (Davis & Stout, 1971). Salahsatu manfaat dari uji antibakteri adalah diporelhnya sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Berikut beberapa cara dalm menguji antibakteri :

a. Metode difusi

Penentuan aktivitas antibakteri pada metode ini didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Aktivitas antimikroba diamati dengan pengukuran diameter daerah hambat disekitar sumur yang mengandung

ekstrak. Metode difusi dapat dilakukan dengan berbagai cara berikut :

1) Cakram (*disc*)

Metode cakram merupakan metode dilusi yang sering digunakan dalam penentuan aktivitas antibakteri. Cakram dibuat dari kertas saring (*paper disc*) berfungsi sebagai tempat zat antimikroba, nantinya kertas saring tersebut akan ditempatkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji. Lama waktu inkubasi disesuaikan dengan suhu optimum dari mikroba uji, umumnya hasil dapat diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Prayoga, 2013).

Hasil uji cakram yang terbentuk aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya zona bening pada area kertas cakram yang telah ditanam pada media.

2) Sumuran (*hole*)

Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang pada media agar yang sudah terinokulasi, barulah dimasukkan zat antimikroba yang akan diuji. Hasil uji dapat

diperhitungkan dari keberadaan zona hambat di sekitar sumuran (Prayoga, 2013).

3) Parit (*ditch*)

Metode ini dibuat dengan media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji hingga membentuk sebuah parit, sehingga metode ini disebut dengan metode parit (*ditch*). Barulah media agar tersebut dibiarkan diinkubasi sesuai standar. Hasil uji terbentuknya zona hambat yakni pada parit terdapatnya zona bening (Fadhila, 2023).

b. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode pencampuran langsung antara zat mikroba dengan media agar, kemudian diinokulasi dengan mikroba yang akan diujikan. Hasil pengamatan aktivitas antimikroba ditentukan dengan mengamati Konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan konsentrasi terkecil dari variasi zat antimikroba yang memberikan efek penghambatan. Berikut macam-macam metode dilusi :

1) Pengenceran Serial dalam tabung

Metode dilusi sederhana dengan menggunakan tabung reaksi yang akan diisi

oleh inokulasi bakteri serta larutan antibakteri dengan berbagai variasi konsentrasi. Zat antibakteri yang akan diujikan dilakukan pengenceran sesuai dengan serial dari media cair, selanjutnya diinokulasikan dengan bakteri uji dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang telah disesuaikan dengan mikroba uji. Hasil perhitungan aktivitas zat antibakteri ditetapkan sebagai kadar hambat minimal (KHM) (Prayoga, 2013).

2) Penipisan lempeng Agar

Media agar terlebih dahulu dicampur dengan zat antibakteri barulah dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Kemudian bakteri diinokulasikan dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang telah disesuaikan dengan bakteri uji. Hasil perhitungan dari konsentrasi terendah larutan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri akan ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Prayoga, 2013).

7. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk kedalam famili *Micrococcaceae* dengan bentuk bulat, berwarna abu-abu sampai kuning tua. Bakteri ini termasuk kedalam bakteri gram positif, dengan hidup bersusun seperti buah anggur (Jaradat et al., 2020). *Staphylococcus aureus* dapat memiliki sifat sebagai bakteri anaerob fakultatif atau bisa bersifat sebagai bakteri aerob, dapat bertahan hidup dalam suhu tinggi sampai dengan 50°C (Safitri, 2022). Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan garis keturunan (Filogenik) menurut Sutriani (2018) yakni:

Domain: *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Oeder : *Bacillales*

Family : *Staphylococcaceae*

Genius : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus* (Sutriani, 2018).



Gambar 2.7 Morfologi *Staphylococcus Aereus*
(Fazila, 2022)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang menyebabkan infeksi dan berbagai penyakit dari yang ringan sampai dapat menyebabkan kematian. Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan menggunakan beberapa jenis antibiotik diantaranya tetrasiklin, vankosimin (*penisilin β -laktamase*). Bagian yang mendukung *Staphylococcus aureus* menjadi patogen salah satunya dinding sel yang sebagian besar tersusun atas peptidoglikan. Resistensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap beberapa jenis antibiotik cukup tinggi, contohnya pada antibiotik golongan penisilin terdapat methisilin yang dikenal dengan MRSA (*Methisilin-resistant Staphylococcus aureus*) (Jaradat et al., 2020).

B. Tinjauan Pustaka

Tanaman mangrove telah banyak dikaji mulai dari bagian akar sampai ke bagian buah tak luput juga pada bagian daun tanaman. Beberapa penelitian terdahulu mengkaji kandungan senyawa metabolit yang terkandung dalam daun mangrove *Rhizophora mucronata*. Bagian daun tanaman mangrove *Rhizophora mucronata* memiliki berbagai kandungan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai pengawet alami untuk membunuh mikroba. Penelitian yang dilakukan oleh akasia et al., (2021) ekstrak metanol daun mangrove *Rhizophora mucronata* positif mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder diantaranya, fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin, namun dalam hasil penelitian ini senyawa alkaloid dan steroid tidak terdeteksi pada ekstrak hasil. Penggunaan pelarut juga berpengaruh terhadap hasil skrining fitokimia, dalam hal ini pelarut yang digunakan yakni metanol. Penelitian yang dilakukan Sammanta et al., (2023), Ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora mucronata* serta fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air diketahui positif mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berperan penting dalam sistem antibakteri. Sifat kepolaran senyawa flavonoid akan menembus lapisan peptidoglikan yang juga dimiliki oleh bakteri gram positif yang bersifat polar

Kajian mengenai efektivitas daun mangroves bakau sebagai agen antibakteri karena memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Karundeng et al., (2022), ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora mucronata* memiliki kemampuan menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri. Didapatkan hasil konsentrasi optimal dalam menghambat dan membunuh bakteri *S. Aureus*. Pemilihan etanol sebagai pelarut dalam penelitian ini karena sifat kepolaran dari etanol yang tinggi, sehingga etanol juga lebih mudah berpenetrasi ke membran sel dalam proses mengekstrak daun tanaman. Egra et al., (2019) dalam penelitiannya berjudul “Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu”, dapat ditarik kesimpulan bahwa kemampuan ekstrak daun *Rhizophora mucronata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dibuktikan dengan daya hambat daun *Rhizophora mucronata* pada konsentrasi 10000 ppm dapat menghambat bakteri *R. solanacearum* sebesar 24,88%, pada konsentrasi 20000 ppm menghambat sebesar 26,88%, akan tetapi pada konsentrasi 5000 ppm ekstrak daun *Rhizophora mucronata* tidak memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri tersebut. Kemampuan ekstrak daun *Rhizophora mucronata* dalam

menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan tersebut, tak terkecuali bagian daunnya.

C. Hipotesis

Berdasarkan hasil beberapa penelitian diatas, hipotesis dalam penelitian ini adalah daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) memiliki senyawa fitokimia yang berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri (bakteri *Staphylococcus aureus*). Fitokimia tersebut diduga berupa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan fenolat. Metabolit sekunder aktif tersebut diduga pada fraksi etil asetat karna kemiripan kepolaran metabolit sekunder aktif dan pelarut etil asetat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2024. Pengambilan sampel dari Hutan Mangrove Pantai Tirang Desa Tambakrejo, Kecamatan Tugu, Kota Semarang, Jawa tengah. Lokasi ini dipilih sebagai tempat penelitian dan tempat pengambilan sampel karena diduga memiliki ekosistem hutan mangrove yang cukup luas dan didominasi oleh mangrove bakau (*Rhizophora mucronota*), akan tetapi belum adanya pemanfaatan yang serius terhadap vegetasi tersebut terutama pemanfaatan menjadi bahan pengawet. Analisis daun serta pengaplikasian di Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang dibutuhkan dalam pengolahan sampel yakni, Timbangan analitik, labu ukur (100 mL dan 50 mL) tabung reaksi, oven, loyang, pipet volume, pipet tetes, erlenmeyer, *cutter* atau pisau, gelas ukur, blender, ayakan, toples bekas, *rotary evaporator*, corong pisah, dan pemanas. Adapun alat yang digunakan dalam pengujian keberadaan senyawa fitokimia dalam sampel diantaranya, plat tetes, kaca arloji, gelas beker, tabung reaksi, pipet tetes, dan pipet volume. Pengaplikasian ekstrak sampel sebagai antibakteri

membutuhkan beberapa alat diantaranya, Inkubator, autoklaf, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, kertas cakram, bunsen, petridisk, *hot plate*.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : pelarut etanol, pelarut n-heksana, pelarut etil asetat, sampel daun (*Rhizopora Mucronata*), aquades, aluminium foil, kertas saring, larutan HCl pekat, serbuk Mg (Merck), larutan H₂SO₄, larutan FeCl₃ 1%, larutan FeCl 100%, pereaksi meyer, pereaksi wagner, pereaksi *dragendroff*, padatan NaCl (Merck), media MHA (*Mueller Hinton Agar*) (Merck), media MHB (*Mueller Hinton Broth*) (Merck), media NA (*Nutrient Agar*) (Merck), biakan murni bakteri umur 18 jam – 24 jam, standar *Mc Farland* 0,5, dan alkohol.

C. Metode Uji Antibakteri

1. Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yang diambil di Hutan Mangrove Pantai Tirang Desa Tambakrejo, Kecamatan Tugu, Kota Semarang, Jawa tengah. Pemilihan daun sebagai sampel yakni daun tua dengan kondisi utuh. Ciri-ciri daun tua yaitu daun berwarna hijau dan kemerahan juga memiliki tekstur yang keras. Pengambilan sampel sebanyak 3 kg daun basah. Selanjutnya daun dipotong kecil-kecil dan

dioven pada suhu 60°C selama 3x24 jam sampai kering sempurna. Terakhir daun kering dihaluskan menggunakan blender dan disaring menggunakan ayakan 100 Mesh untuk diambil serbuk halus dan disimpan ditempat yang tertutup.

2. Pengambilan ekstrak

Pengambilan ekstrak menggunakan metode maserasi. Proses maserasi menggunakan perbandingan 1:5 diawali dengan 500 gram daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) halus dimasukkan kedalam wadah kaca yan tertutup. Setelah itu ditambahkan sebanyak 500 mL pelarut etanol 96% yang telah didestilasi. Perendaman dilakukan selama 5x24 jam dengan pergantian pelarut setiap 24 jam, pemisahan filtrat dan residu melalui penyaringan menggunakan kertas saring (Fazila, 2022). Hasil filtrat dari perendaman diuapkan pelarutnya dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 60°C. Hasil yang akan digunakan berupa ekstrak kental sampai tidak tersisa pelarutnya. Perhitungan rendemen menggunakan rumus 3.1

$$Rendemen = \frac{\text{berat hasil ekstrak}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

3. Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi ekstrak menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan corong pisah mengacu pada penelitian Sammanta et al., (2023) yang dimodifikasi. Pemilihan pelarut didasarkan pada perbedaan kepolaran dari masing-masing pelarut, yakni, n-heksana, etil Asetat, dan air. Aquades dipanaskan sampai hangat untuk melarutkan ekstrak kental pada cawan porselen dengan perbandingan (1:4), barulah dimasukkan kedalam corong pisah. Kemudian ditambahkan n-heksana dengan jumlah yang sama dengan aquades. Campuran digojog sampai homogen, lalu didiamkan sampai campuran dapat dipisahkan. Selanjutnya hasil fraksi n-heksana dipisahkan dalam wadah yang berbeda. Fasa bawah yang berisikan residu, selanjutnya ditambah dengan pelarut etil-asetat dengan perbandingan yang sama. Pada proses ini didapatkan hasil fasa atas yakni ekstrak cair fraksi etil-asetat dan fasa bawah berupa ekstrak fraksi air. Proses fraksinasi ekstrak etanol daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) dilakukan pengulangan secara berkala dan hasil fraksinasi masing-masing fraksi diuapkan dengan *rotary evaporator*.

4. Skrining Fitokimia

Ekstrak daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) diuji untuk mengetahui keberadaan kandungan senyawa fitokimia.

a. Uji Flavonoid

Uji senyawa flavonoid mengacu pada penelitian Akasia et al., (2021) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,5 ml ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa 5-7 tetes HCl pekat dan beberapa bubuk Mg. Uji positif ditandai terbentuknya warna merah sampai kehitaman (Akasia et al., 2021).

b. Uji Saponin

Uji saponin menggunakan metode Akasia et al., (2021) dengan modifikasi sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan 5 mL aquades, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Uji positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil serta tidak hilang selama 5 menit, serta tidak juga hilang saat penambahan 1 tetes larutan HCl 2M (Akasia et al., 2021).

c. Uji Tanin

Metode yang digunakan dalam uji tanin yakni dari metode Akasia et al., (2021) dengan

modifikasi. Sebanyak 2 mL ekstrak yang telah dilarutkan dalam etanol, kemudian ditambahkan FeCl_3 dan 3-5 tetes larutan H_2SO_4 pekat. Terakhir diamati perubahan yang terjadi, jika terjadi perubahan warna menjadi kunin sampai kecoklatan maka uji dinyatakan positif (Akasia et al., 2021).

d. Uji Alkaloid

Uji alkaloid menggunakan metode uji dari Akasia et al., (2021) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 2 mL ekstrak ditambah dengan 2 mL HCl 2 M, terakhir ditambahkan 3-5 tetes pereaksi meyer. hasil uji dinyatakan positif ditandai dengan adanya endapan putih (Akasia et al., 2021) .

e. Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan menggunakan metode uji dari Akasia et al., (2021) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 2 mL ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata* yang ditambah dengan FeCl_3 1% dan diamati perubahan yang terjadi. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman (Akasia et al., 2021).

5. Pengujian Antibakteri

a. Sterilisasi

Alat yang digunakan dalam penelitian pengujian aktivitas antibakteri dicuci bersih dan dikeringkan, kemudian masing-masing alat dibungkus dengan kertas dan dilapisi plastik. Autoklaf disetting pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm, setelah itu dimasukkan alat yang akan disterilkan dan ditunggu selama 20 menit (Fadhila, 2023). Penggunaan jarum ose setelah disterilkan dilakukan pemanasan langsung sampai memijar menggunakan bunsen, dan penggunaan harus berada dijangkauan api dari bunsen (Listiana, 2022).

b. Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)

Disiapkan sebanyak 200 mL akuades, lalu ditambah dengan 200 gram bubuk media agar. Campuran diaduk hingga homogen. Kemudian campuran dipanaskan pada suhu 70°C dengan dilakukan pengadukan secara berkala. Setelah larutan mendidih, larutan didinginkan sampai suhu ruang, kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil untuk sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 20

menit. Media NA digunakan sebagai media peremajaan bakteri (Namdes, 2024).

c. Pembuatan Media MHA (Mueller Hinton Agar)

Sebanyak 7,6 gram bubuk MHA dilarutkan kedalam 200 mL Akuades. Kemudian campuran diaduk sampai homogen. Setelah homogen larutan dipanaskan dengan *hot plate* dengan dilakukan pengadukan secara berkala. Larutan didinginkan kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil untuk sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C selama 20 menit. Media MHA dituangkan dalam cawan petri masing-masing 10 mL dan dilakukan dalam LAF (*Low Air Flow*) dengan keadaan aseptis (Fadhila, 2023).

d. Pembuatan media NB (Nutrient Broth)

Media NB berupa media cair yang dibuat dari 3,25 g NB, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer ukuran 500 mL dan ditambah dengan akuades sebanyak 250 mL. Larutan campuran dihomogenkan dengan pemanasan menggunakan *hot plate* dan pengadukan secara berkala hingga mendidih. Sterilisasi media NB dengan cara dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C selama 20 menit (Fadhila, 2023).

e. Preparasi Variasi Konsentrasi Sampel Uji Difusi Cakram

Variasi konsentrasi ekstrak daun mangrove (*Rhizophora Mucronata*) yang dibuat untuk pengujian antibakteri metode cakram antara lain ; 25% (b/v), 50% (b/v), 75% (b/v) dan (100%). Pelarut yang digunakan yakni pelarut etanol dengan kontrol positif berupa amoksilin. Amoksilin merupakan antibiotik dengan spektrum luas, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif (Prayoga, 2013).

f. Preparasi Variasi Konsentrasi Sampel Uji Metode Dilusi

Variasi konsentrasi sampel uji menggunakan metode serial pengenceran bertingkat dengan perbandingan 1:2 (v/v). Didapatkan 10 variasi konsentrasi serta 3 variasi kontrol. Sebanyak 11 tabung yang telah disterilkan disiapkan untuk setiap variasi ekstrak daun mangrove bakau. Masing-masing tabung diberikan label sebagaimana urutannya pada tabel 3.1, untuk tabung berlabel K(+) berisikan 2 mL media NB dan 2 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kontrol (-) berisi 4 mL larutan ekstrak konsentrasi 100%.

Tabel 3.1 Variasi Konsentrasi Uji Dilusi

Kons (%) v/v)	Ekstrak (mL)	Media NB (mL)	Suspensi (mL)
100	2	2 mL	1 mL
50	2 mL dari 100%	2 mL	1 mL
25	2 mL dari 50%	2 mL	1 mL
12,5	2 mL dari 25%	2 mL	1 mL
6,25	2 mL dari 12,5%	2 mL	1 mL
3,12	2 mL dari 6,25%	2 mL	1 mL
1,56	2 mL dari 3,12%	2 mL	1 mL
0,78	2 mL dari 1,56%	2 mL	1 mL
0,39	2 mL dari 0,78%	2 mL	1 mL
0,19	2 mL dari 0,39%	2 mL	1 mL

g. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5

Sebanyak 0,05 mL larutan $BaCl_2$ 1% dituangkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL. Kedua larutan dicampur dan diaduk sampai tercampur sempurna. Penyimpanan larutan Mc Farland disimpan di dalam kulkas atau tempat yang tidak terkena paparan sinar matahari secara langsung (Listiana, 2022).

h. Pembuatan larutan NaCl fisiologis 0,9%

Sebanyak 0,9 g padatan NaCl dilarutkan kedalam aquades sebanyak 1L. Setelah larutan homogen dilakukan sterilisasi dengan cara

dimasukkan kedalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 120°C (Fadhila, 2023).

i. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan dari laboratorium biologi UIN Walisongo Semarang. Dari isolat miring bakteri diambil menggunakan jarum ose yang telah disterilkan kemudian dipanaskan menggunakan api bunsen barulah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Sebanyak 1 ose bakteri disuspensikan dengan pelarut NaCL 0,9% sebanyak 10 ml, selanjutnya tabung reaksi dikocok menggunakan *vortex* sampai homogen. Suspensi bakteri diuji kekeruhan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 625 nm yang setara dengan panjang gelombang larutan standart 0,5 *Mc. Farland*, sehingga menghasilkan absorbansi sebesar 0,08-0,13 ($1-2 \times 10^8$ CFU/mL) (Rifda & Lisdiana, 2022).

j. Pengujian Aktivitas Antibakteri

1) Pengujian Metode Difusi Cakram

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram (*disk*), metode ini umum digunakan dalam pengujian

aktivitas antibakteri terhadap mikroorganisme penyebab penyakit. Selain itu metode ini tidak membutuhkan alat khusus serta biaya yang lebih terjangkau (Nurhayati et al., 2020).

Media MHA yang sudah disterilkan terlebih dahulu dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 9 mL, kemudian diratakan menggunakan *glass dril* dan ditunggu hingga memadat. Selanjutnya larutan suspensi bakteri uji yang telah terstandarisasi diinokulasikan (dioleskan) pada media MHA. Kertas cakram uji masing-masing ditetesi dengan variasi konsentrasi larutan ekstrak daun mangrove bakau yang telah disiapkan, kemudian dikeringkan. Kertas cakram yang telah kering diletakkan di permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Peletakan kertas terbagi menjadi 4 bagian (Fadhila, 2023). Mengacu pada penelitian Prayoga (2013) lama waktu inkubasi bakteri *S. aureus* dilakukan pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Perhitungan zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Perhitungan zona bening terdiri dari rata-rata 4 sisi zona bening yang terbentuk, selanjutnya hasil rata-rata

dikurangkan dengan jari-jari kertas cakram yang digunakan.

2) Pengujian Metode Dilusi

Metode dilusi yang digunakan pada penelitian ini yakni pengenceran serial dalam tabung. Pengujian metode dilusi terbagi menjadi 2 tahapan, tahapan awal yakni pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan tahap kedua yakni pengujian Konsentrasi bunuh minimum (KBM). Pertumbuhan bakteri diaamati dari kekeruhan dan pengukuran panjang absorbansi sebelum dan sesudah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰C.

Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dari konsentrasi terendah dari varian konsentrasi yang tidak mengalami kenaikan panjang absorbansi dari sebelum dan sesudah inkubasi. Variasi konsentrasi dari ekstrak etanol dan ekstrak fraksi etil asetat yang telah dibuat ditambahkan dengan 2 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah distandarkan kedalam masing-masing tabung reaksi kemudian dihomogenkan. Setelah larutan homogen, masing-masing

variasi konsentrasi diambil sebanyak 2 mL dituangkan ke dalam kuvet untuk dilakukan penghitungan nilai absorbansi awal sebelum diinkubasi dengan spektrofotometer UV-Vis. Hal yang serupa dikerjakan pada semua tabung perlakuan. selanjutnya semua tabung yang sudah didapat nilai absorbansi awal, diinkubasi dengan temperatur 37 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi dilakukan penghitungan nilai absorbansi akhir dengan spektrofotometer UV-Vis, dan dilakukan perbandingan hasil panjang absorbansi yang didapat (Assauqi et al., 2023).

Pengujian konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditentukan dengan menginokulasikan sampel yang terindikasi positif pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Sebanyak 100 µL sampel positif uji KHM dituangkan kedalam cawan petri yang telah berisikan 9 mL media NA yang telah memadat. Larutan uji kemudian diratakan menggunakan batang *spreader* steril, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil uji menggunakan hasil pengamatan pertumbuhan koloni pada media agar. Pertumbuhan koloni dari bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diamati

menggunakan *colony counter* (Mughtaromah et al., 2020).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Daun Mangrove

Daun mangrove bakau (*Rhizophora Mucronata*) yang digunakan dalam penelitian didapatkan dari Hutan Mangrove Pantai Tirang Desa Tambakrejo, Kecamatan Tugu, Kota Semarang, Jawa tengah. Pengambilan daun dilakukan secara berkala dengan daun dalam keadaan basah. Sebanyak 4 Kg daun mangrove bakau basah dipisahkan dari tulang daunnya dipotong kecil-kecil agar memudahkan proses pengeringan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven pada suhu 60^oC selama 3x24 jam, ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat tua serta kering merata. Kemudian daun kering diblender sampai didapat bubuk simplisia dan diayak dengan ayakan 100 mesh. Tujuan pengayakan serbuk simplisia sebelum diekstraksi selain meningkatkan luas permukaan simplisia yakni untuk meningkatkan kualitas ekstrak. Ukuran simplisia yang seragam dan partikel simplisia yang halus akan terjadi interaksi antara simplisia dengan pelarut yang lebih merata, sehingga ekstrak yang dihasilkan semakin baik (Poncowati et al., 2022).

Metode yang digunakan untuk ekstraksi daun mangrove bakau yakni metode maserasi. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol

96% yang telah didestilasi sebelum digunakan. Proses maserasi membutuhkan 500 mL pelarut untuk setiap pengulangan. Terjadi 5 kali pengulangan maserasi dengan hasil maserat yang diperoleh sebanyak 2,4 liter. Selanjutnya maserat dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* dan dipanaskan kembali menggunakan hotplate dengan suhu 60°C. Ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat pekat kehitaman dengan tekstur kental dan lengket seperti pada gambar 4.1. Total ekstrak etanol daun mangrove bakau yang didapat sebanyak 58,628 gram dan total rendemen sebanyak 11,726%.



Gambar 4.1 Ekstrak kental daun Mangrove bakau

Prinsip maserasi terjadi ketika ekstrak direndam dengan pelarut akan terjadi interaksi dimana pelarut akan masuk dan mengisi rongga-rongga sel dari ekstrak. Menurut Egra et al., (2019) metode maserasi cenderung lebih aman karena tidak adanya penambahan pemanasan,

sehingga meminimalisir kerusakan zat yang terkandung dalam ekstrak . Pemilihan pelarut etanol didasarkan pada sifat kepolaran etanol yang lebih efektif dalam proses ekstraksi awal dari simplisia meskipun ekstraksi terjadi secara dingin. Pelarut etanol memiliki konstanta dielektrik sebesar 30, sehingga kepolaran etanol cenderung kuat. Semakin besar konstanta elektrik suatu pelarut maka semakin tinggi pula kepolarannya. Kepolaran dari etanol akan menembus membran sel, sehingga memungkinkan terjadinya difusi ke dalam sel ekstrak, akibatnya senyawa-senyawa metabolit sekunder akan dapat diekstrak lebih cepat (Namdes, 2024).

B. Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi Cair-cair merupakan metode pemisahan senyawa menggunakan dua pelarut dengan sifat kepolaran yang berbeda. Prinsip pemisahan ini menggunakan prinsip "*like dissolve like*", senyawa dengan sifat kepolaran yang sama akan saling larut. Metode pemisahan cair-cair dengan corong pisah memiliki ciri khusus, terbentuknya 2 fasa yang terpisah dimana fasa atas akan terisi oleh pelarut dengan polaritas yang lebih ringan, sedangkan fasa bawah oleh senyawa dengan polaritas yang lebih besar (Makalusenge et al., 2022).

Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi yakni, pelarut n-heksana sebagai pelarut non-polar, pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan pelarut polar menggunakan pelarut air. Kepolaran suatu pelarut dapat dinyatakan dengan konstanta dielektrik. Konstanta dielektrik terendah yakni pelarut n-heksana sebesar 2, pelarut etil asetat memiliki konstanta dielektrik 6, sedangkan air memiliki konstanta dielektrik terbesar yakni 80, hal tersebut menjadikan sebagai pelarut paling polar (Kurnia Dewi et al., 2021). Tahapan fraksinasi diawali dari pelarut non polar dengan tujuan agar efisiensi ekstraksi meningkat. Senyawa dengan kepolaran lebih tinggi akan tetap berada pada fasa air terdapat pada fasa bagian bawah corong pisah, sedangkan fasa atas akan terisi oleh ekstrak dari senyawa non-polar ataupun semi polar. Sehingga proses pemisahan dengan senyawa akan dengan mudah dilakukan (Eckelman et al., 2021).

Tabel 4.1. merupakan hasil dari perolehan masa tiap-tiap fraksi, beserta dengan rendemennya. Hasil fraksi tertinggi yakni fraksi air dengan berat ekstrak 6, 268 gram. Fraksi n-heksana menghasilkan sebanyak 5,321 gram dan hasil paling rendah yakni fraksi etil-asetat sebanyak 5,026 gram dari total berat awal ekstrak etanol sebanyak 50,00 gram. Karakteristik organoleptik pada

setiap ekstrak umumnya dalam bentuk cairan kental dan tekstur yang lengket. Fraksi n-heksana memiliki ekstrak kental berwarna hijau tua dengan tekstur lengket. Pada fraksi etil asetat memiliki warna hijau kecoklakan dengan tekstur lengket dan disertai bau yang menyengat, sedangkan fraksi air memiliki warna coklat muda dengan tekstur sedikit lengket.

Tabel 4. 1 Hasil fraksinasi

Sampel	Berat fraksi (gram)	Berat awal ekstrak (gram)	Persentase rendemen (%)
Fraksi N-heksana	5,321	50,00	10,642
Fraksi etil asetat	5,026	50,00	10,052
Fraksi air	6,268	50,00	12,536

Perbedaan hasil fraksinasi dipengaruhi oleh perbedaan nilai kepolaran masing-masing pelarut berdasarkan golongan senyawa kimia. Kepolaran dari pelarut juga mempengaruhi senyawa yang akan diekstrak, karena senyawa-senyawa metabolit sekunder juga memiliki kepolaran yang berbeda. Menurut Sembiring et al., (2016), perbedaan tersebut disebabkan masing-masing struktur dan ikatan kimia dari setiap senyawa yang berbeda. Senyawa polar seperti flavonoid, fenolik,

dan tanin akan terikat dengan pelarut polar dan semi-polar. Hal tersebut dikarenakan struktur senyawa tersebut terdapat cincin aromatik dan gugus hidroksil, sehingga lebih terikat dengan pelarut polar ataupun semi-polar. Sedangkan senyawa saponin ataupun turunan-Nya yang umumnya memiliki struktur yang siklik dengan satu atau lebih gugus fungsi, akan cenderung berikatan dengan pelarut non polar seperti n-heksana (Haryoto & Frista, 2019).

C. Uji Fitokimia

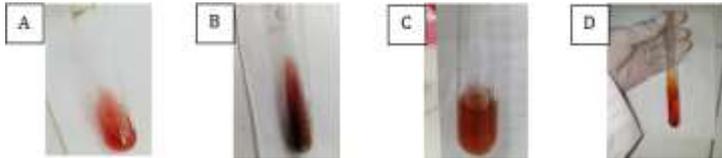
Pengujian fitokimia pada penelitian ini yakni ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan fenolik. Selanjutnya pada ekstrak dari fraksi n-heksana tidak ditemukan kandungan tanin, hasil uji positif terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan fenolik pada ekstrak sampel, sedangkan pada fraksi air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) positif terkandung senyawa flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin, akan tetapi tidak ditemukannya kandungan senyawa alkaloid. Hasil uji keberadaan senyawa fitokimia pada daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) sebagaimana terangkum pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia

Sampel	Hasil Uji fitokimia				
	Flavonoid	alkaloid	Tanin	Saponin	Fenolik
Ekstrak etanol	+	+	+	+	+
Fraksi n-heksana	+	+	-	+	+
Fraksi etil-asetat	+	+	+	+	+
Fraksi air	+	-	+	+	+

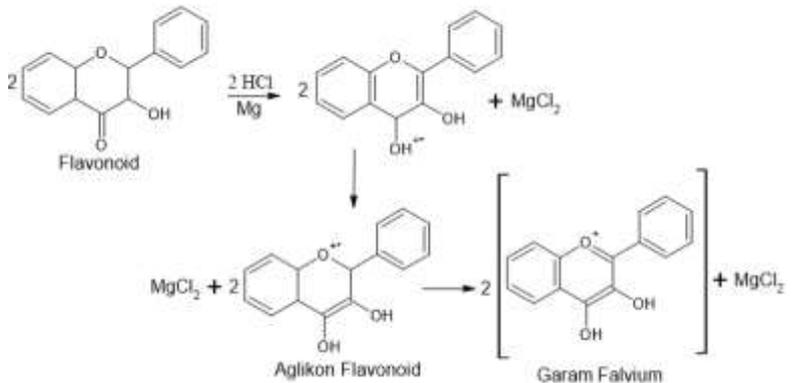
Hasil uji ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil ini telah sesuai dengan hasil penelitian Sammanta et al., (2023). Hasil uji flavonoid ditunjukkan pada gambar 4.2. Ekstrak etanol menghasilkan warna jingga kemerahan yang terindikasi senyawa flavonoid dari turunan flavon, pada fraksi air terjadi perubahan warna menjadi jingga yang terindikasi flavonoid golongan flavon, dan fraksi n-heksana serta fraksi etil asetat hasil pengujian menjadi warna merah tua kecoklatan yang terindikasi

senyawa flavonoid golongan flavanon atau flavanol (Lilik et al., 2013).



Gambar 4.2 Hasil Uji Flavonoid (a) ekstrak etanol (b) fraksi n-heksana (c) fraksi etil-asetat (d) fraksi air

Skrining fitokimia ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air menggunakan metode *Wilstater* dengan reaksi kimia sebagaimana gambar 4.2.

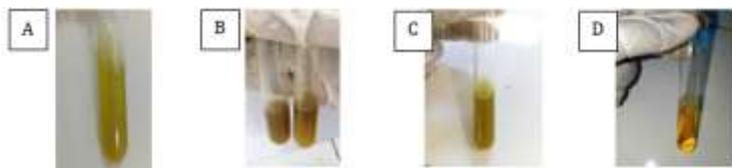


Gambar 4.3 Reaksi Uji Flavonoid (Akasia et al., 2021)

Ekstrak yang sudah dilarutkan ditambah dengan HCl pekat 2-3 tetes dan 0,2 gram bubuk magnesium. Fungsi penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis

flavonoid menjadi aglikon flavonoid karena terjadinya hidrolisis O-glikosil. glikosil yang terhidrolisis akan digantikan oleh atom H⁺ dari senyawa asam dengan keelektronegatifan tinggi. Selanjutnya dengan penambahan bubuk Mg akan terjadi ikatan ion Mg²⁺ dengan flavonoid sehingga terbentuk senyawa kompleks yang menghasilkan perubahan warna merah, jingga, atau coklat (Ligina & Sudarmin, 2022)

Pengujian alkaloid pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) didapatkan hasil positif dengan ditandai adanya endapan putih pada hasil uji sebagaimana penelitian yang telah dilakukan (Akasia et al., 2021). Hasil uji senyawa alkaloid sebagaimana dalam gambar 4.4 di bawah ini.

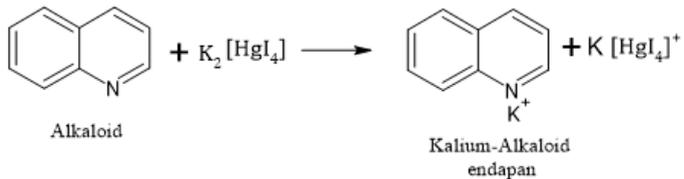
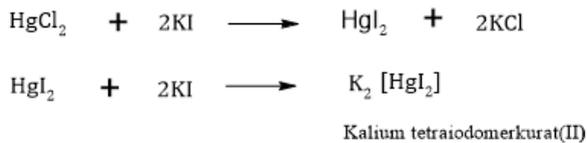


Gambar 4.4 Hasil Uji Alkaloid (a) ekstrak etanol (b) fraksi n-heksana (c) fraksi etil-asetat (d) fraksi air

Fraksi air menunjukkan hasil yang negatif hal tersebut dimungkinkan terjadi karena beberapa faktor diantaranya, kepolaran fraksi air yang cenderung lebih

tinggi, sehingga kurang efektif untuk mengekstrak senyawa alkaloid yang umumnya lebih larut dalam pelarut seperti etanol dan etil asetat, selain itu dimungkinkan juga proses ekstraksi dan kondisi ekstrak mempengaruhi keberadaan senyawa alkaloid (Kasitowati et al., 2017).

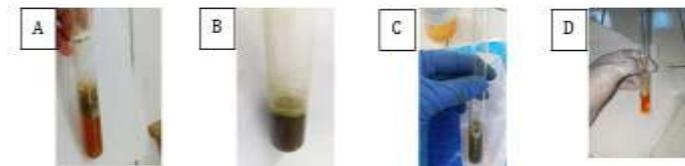
Pengujian alkaloid dilakukan penambahan HCl terlebih dahulu, karena senyawa alkaloid yang bersifat basa sehingga diperlukan zat asam untuk mengekstrak alkaloid pada sampel. Uji alkaloid pada percobaan ini menggunakan uji Mayer dengan uji positif dinyatakan dengan keberadaan endapan putih pada hasil uji. Reaksi kimia uji alkaloid sebagaimana gambar 4.5.



Gambar 4.5 Reaksi Uji Alkaloid (Yasser et al., 2022)

Pereaksi mayer merupakan pereaksi yang terbuat dari campuran larutan merkuri klorida (HgCl_2) dengan kalium iodida (KI). Unsur nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) atau (HgCl_2), sehingga membentuk senyawa kompleks kalium-alkaloid. Endapan putih berupa endapan senyawa kompleks kalium-alkaloid (Yasser et al., 2022).

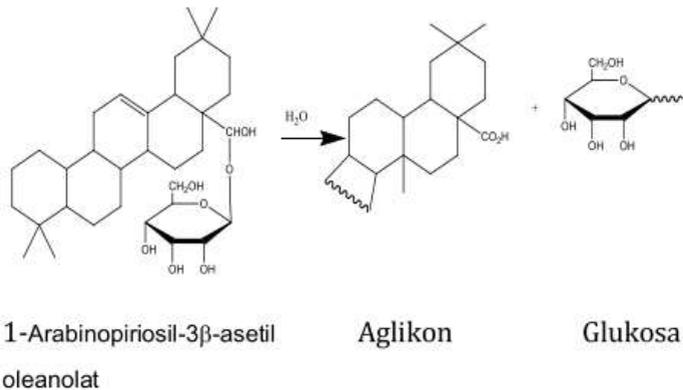
Hasil uji saponin positif akan ditandai dengan keberadaan busa pada sampel setelah dilakukan pengocokan dan stabil setelah penambahan HCl 2M. Uji saponin pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun mangrove bakau dinyatakan positif karena adanya busa yang stabil. Hasil uji saponin sebagaimana pada gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil Uji Saponin (a) ekstrak etanol (b) fraksi n-heksana (c) fraksi etil-asetat (d) fraksi air

Senyawa glikosil yang terkandung dalam dalam metabolit sekunder saponin berperan sebagai gugus polar. Kemampuan saponin membentuk busa yang stabil meskipun dilakukan penambahan asam kuat dikarenakan

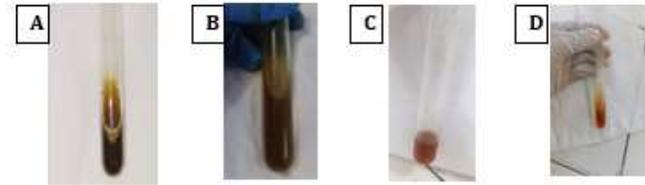
terjadinya pembentukan koloidal dalam air, hal tersebut menjadikan saponin dapat diekstrak dari senyawa polar dan nonpolar (Fadhila, 2023). Busa yang terbentuk setelah pengocokan merupakan hasil struktur gugus polar yang menghadap ke luar dan gugus nonpolar yang akan menghadap kedalam dan terbentuknya glikosida. Glikosida memiliki sifat zat sabun dan menghasilkan busa ketika bereaksi dengan air, kemudian terhidrolisis menjadi glukosa dan reaksi samping lainnya, sebagaimana dalam gambar 4.7 (Akasia et al., 2021).



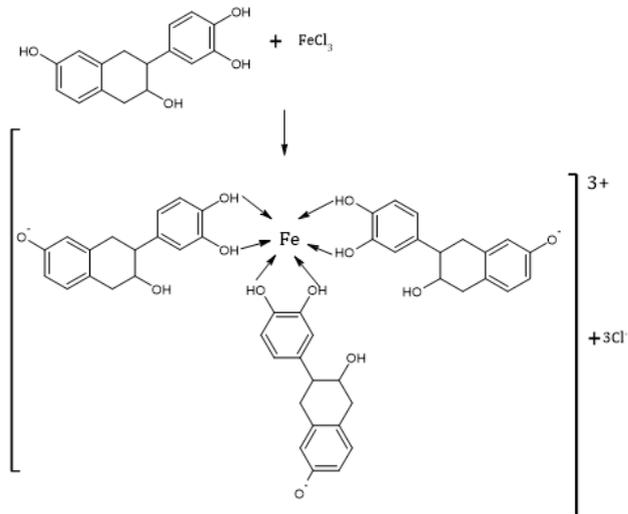
Gambar 4.7 Reaksi Uji Saponin (Fadhila, 2023)

Tanin merupakan senyawa turunan polifenol yang bersifat polar. Hasil uji tanin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol, fraksi etil-asetat, dan fraksi air, sedangkan pada fraksi n-heksana menunjukkan hasil negatif sebagaimana penelitian Alhaddad et al., (2019). Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi

coklat sampai kehitaman sebagaimana gambar 4.8. Reaksi kimia yang terjadi pada pengujian tanin dengan FeCl_3 yang terjadinya pembentukan kompleks antara ion Fe^{3+} dengan gugus hidroksil (-OH) pada tanin (Fadhila, 2023). Reaksi tersebut sebagaimana terjadi seperti pada gambar 4.9

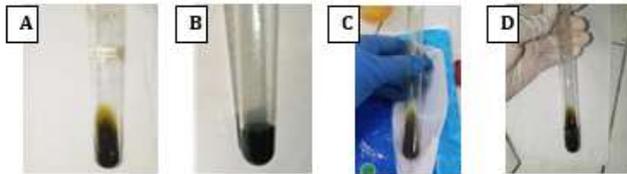


Gambar 4.8 Hasil Uji Tanin (a) ekstrak etanol (b) fraksi n-heksana (c) fraksi etil-asetat (d) fraksi air

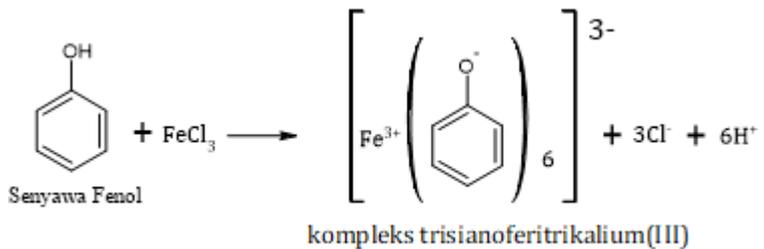


Gambar 4.9 Reaksi Uji tanin (Fadhila, 2023)

Hasil uji keberadaan senyawa fenol dalam ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil-asetat, dan fraksi air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) didapatkan hasil positif. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman. Ion Fe^{3+} dari FeCl_3 akan bereaksi dengan gugus hidroksil (-OH) dari senyawa fenol sehingga akan terbentuk kompleks trisianoferritrikalium(III) yang akan membentuk warna biru, hijau, sampai kehitaman (Nofita & Dewangga, 2022). Hasil positif uji fenolik terdapat pada gambar 4.10, serta reaksi kimia uji fenolik terdapat pada gambar 4.11.

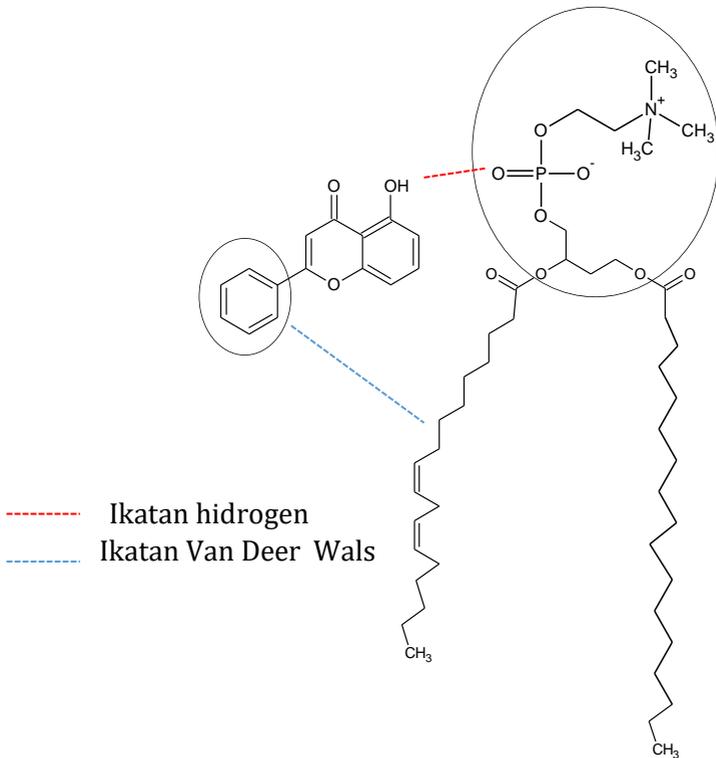


Gambar 4.10 Hasil uji Fenolik (a) ekstrak etanol (b) fraksi n-heksana (c) fraksi etil-asetat (d) fraksi air



Gambar 4.11 Reaksi Uji Fenolik (Nofita & Dewangga, 2022)

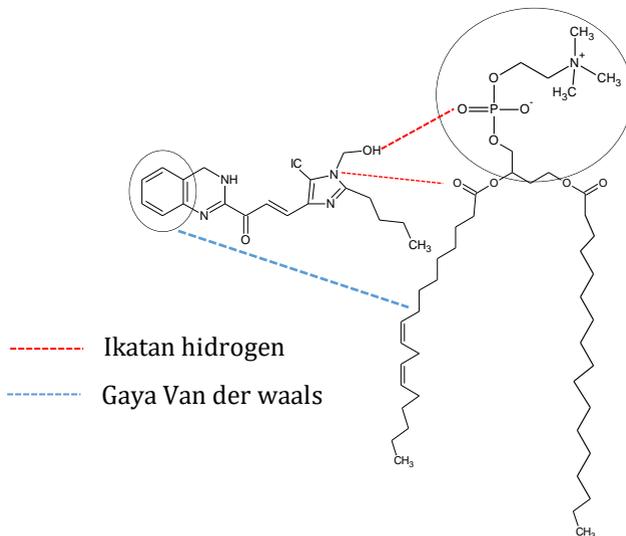
Keberadaan senyawa fitokimia aktif dalam ekstrak ataupun fraksi akan mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri. Mekanisme antibakteri senyawa flavonoid menurut Cushnie & Lamb, (2005) yakni terdapat 3 mekanisme diantaranya, Penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi sel sitoplasma, dan penghambatan metabolisme. Interaksi gugus cincin benzena dari flavonoid dengan sisi ekor hidrofobik fosfolipid membran sel bakteri *S. Aureus* akan membentuk ikatan gaya van der Waals. Dampak ikatan tersebut akan meningkatkan permeabilitas sel membran sehingga menyebabkan kebocoran molekul penting dalam bakteri, kerusakan sel, dan mengganggu keseimbangan osmotik dalam sel bakteri (Donadio et al., 2021). Ikatan hidrogen juga terbentuk dari antara gugus hidroksil (-OH) dari flavonoid dengan bagian kepala membran yang terdapat satu gugus alkohol. Ikatan tersebut tergolong kuat karena kesamaan kepolaran antara bagian kepala dari fosfolipid yang bersifat polar dan bagian polar dari flavonoid (Xie et al., 2014). Gaya van der Waals dan ikatan hidrogen antara struktur flavon dan membran sel (fosfolipid) dapat dilihat pada gambar 4.12.



Gambar 4.12 Interaksi molekuler Flavonoid dan fosfolipid membran sel

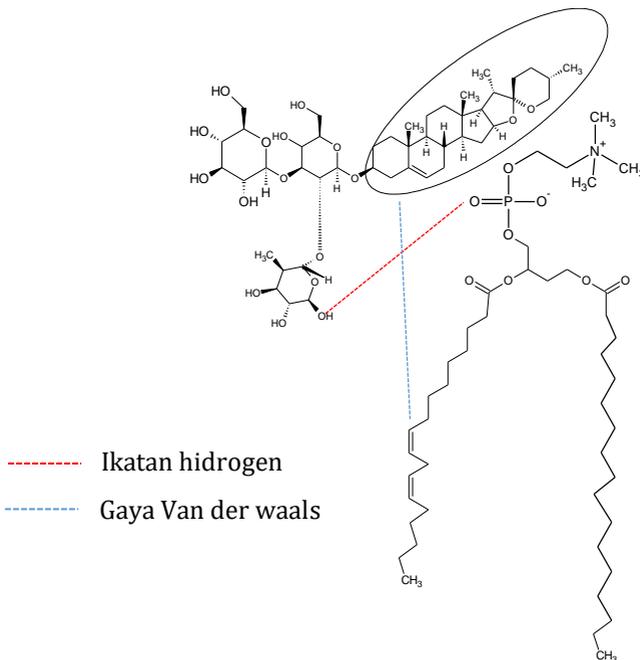
Aktivitas alkaloid sebagai antibakteri diantaranya dapat mengubah permeabilitas dari membran sel bakteri. Seperti contoh alkaloid jenis 8-hidroksikuinolin yang dapat berikatan dan menembus fosfolipid sel membran sehingga dapat merukan sel membran bakteri (Al-Busafi et al., 2014). Kuinazolon merupakan salahsatu turunan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri. Cincin benzena dalam struktur

kuinazolon dapat berikatan dengan sel membran. Cincin benzena dari kuinazolon merupakan bagian lipofilik yang akan mengikat ekor hidrofobik dari fosfolipid membran sel dan membentuk gaya van der Waals. Selain itu gugus hidroksil kuinazolon dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karboksil yang terdapat pada struktur kepala fosfolipid sel membran bakteri. Akibat dari adanya kedua ikatan tersebut kestabilan membran bakteri akan terganggu sehingga menghambat bahkan membunuh pertumbuhan bakteri (Hu et al., 2022). Ilustrasi interaksi molekuler turunan senyawa alkaloid sebagaimana gambar 4.13



Gambar 4.13 Interaksi kuinazolon dengan fosfolipid sel bakteri

Saponin memiliki gugus gula hidrofilik yang berikatan dengan aglikon lipofilik. Mekanisme saponin sebagai antibakteri terutama pada bakteri gram positif diduga dapat merusak sistem membran sel bakteri yang diakibatkan hilangnya konstituen intraseluler, kebocoran asam nukleat dan protein sehingga terjadinya malfungsi membran sel dan terjadinya kematian sel bakteri (Dong et al., 2020). Interaksi molekuler saponin dan fosfolipid membran sel sebagaimana terlihat pada gambar 4.13.

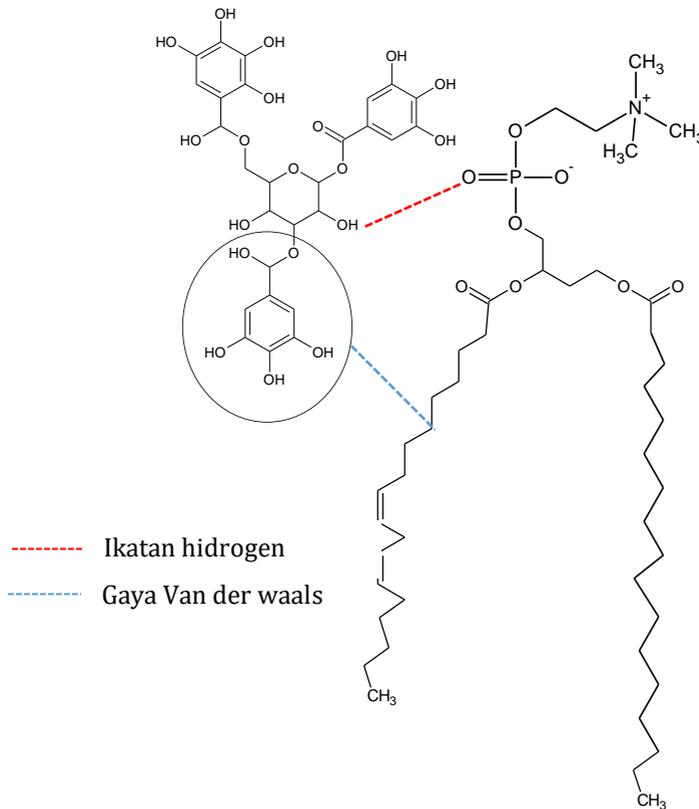


Gambar 4.14 Interaksi molekuler saponin dan fosfolipid membran sel

Aglikon lipofilik saponin berinteraksi bagian ekor dari fosfolipid membran sel yang bersifat hidrofobik membentuk gaya van der Waals. Gaya van der Waals yang terbentuk akan berdampak mengganggu fluiditas serta akan membentuk pori-pori pada membran sel yang menyebabkan lisis sel. Selain itu terbentuk juga ikatan hidrogen dari interaksi antara gugus hidroksil saponin dengan gugus karbonil dari kepala fosfolipid. Dampak dari ikatan hidrogen ini akan mengganggu keseimbangan osmotik membran sel bakteri (Sharma et al., 2021).

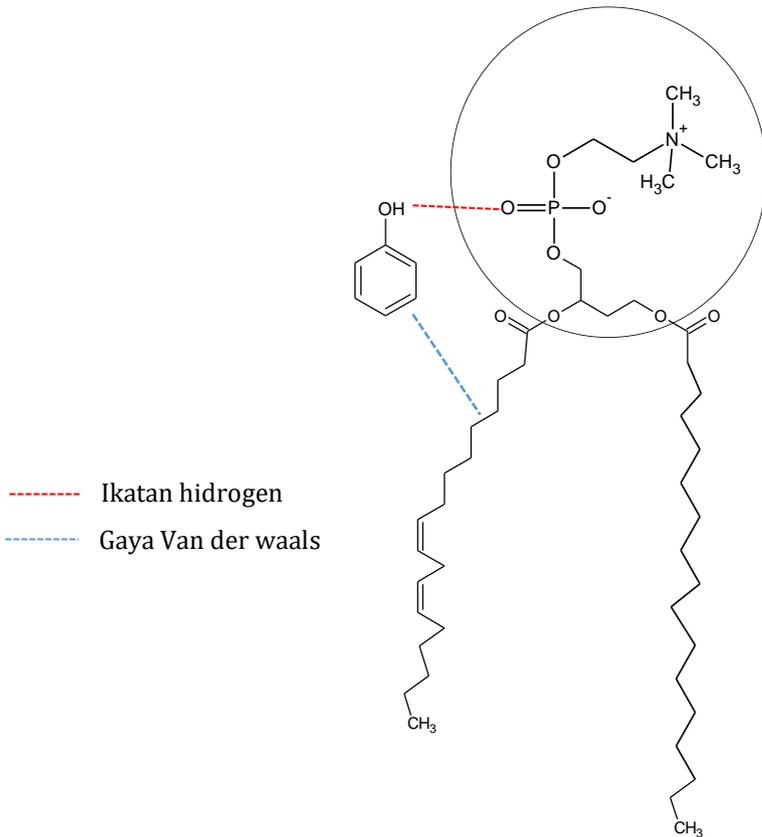
Senyawa tanin tersusun atas gugus gugus hidroksil bersifat polifenol dapat menembus komponen lipid membran sel sehingga merusak integritas dan fungsi membran sel (Huang et al., 2024). Tanin juga memiliki kemampuan mengikat langsung pada lapisan glikana peptida pada dinding sel bakteri, interaksi ini yang menyebabkan bakteri lebih rentan terhadap lisis osmotik. Senyawa tanin juga diketahui dapat mengubah struktur membran bakteri *S. Aureus* dengan mengganggu pembentukan vesikel membran virulen, hal ini menjadikan tanin potensial sebagai antibakteri (Lobiuc et al., 2023). Mekanisme interaksi molekuler senyawa tanin sebagai antibakteri yakni terjadi pada turunan tanin terhidrolisis (Gallotanin). Gugus hidroksil yang terdapat

pada struktur gallotanin berikatan dengan gugus fosfat pada bagian kepala fosfolipid membran. Selain itu juga terjadi interaksi hidrofobik dari gugus gallotanin dengan asam lemak fosfolipid yang terdapat pada bagian ekor. Efek dari kedua ikatan tersebut dapat meningkatkan fluiditas membran sehingga menyebabkan kematian pada sel membran bakteri (Olchowik-Grabarek et al., 2020).



Gambar 4.15 Interaksi molekuler gallotanin dan fosfolipid

Aktivitas fenol sebagai antibakteri diantaranya dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri sehingga mengganggu fungsi sel dan menyebabkan kematian pada sel bakteri. Interaksi antara fenol dan membran fosfolipid sebagaimana gambar 4.16



Gambar 4.16 Interaksi molekuler Fenol dan fosfolipid

Proses denaturasi protein melalui interaksi ikatan hidrogen yang terjadi antara gugus fenol dan gugus protein (Kambey et al., 2019). Fenol terusun atas gugus hidrokarbon dan gugus hidroksil. Gugus hidrokarbon fenol dapat berikatan dengan bagian ekor fosfolipid membran sel bakteri yang terdiri atas asam lemak membentuk interaksi non-polar gaya van der Waals. Sedangkan gugus hidroksil dari fenol yang bersifat polar akan mengikat kepala fosfat fosfolipid membentuk ikatan hidrogen. Dampak dari kedua ikatan tersebut dapat mempengaruhi fluiditas (bentuk) dan kestabilan dari membran sel, sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri (Hashemzadeh et al., 2023).

D. Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram

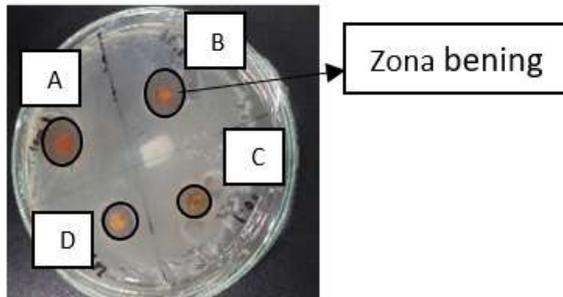
Konsentrasi bunuh minimum adalah konsentrasi terkecil dari suatu variasi ekstrak atau sampel yang diduga memiliki aktivitas antibakteri yang mampu membunuh bakteri, pada umumnya ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media agar. Hasil uji dapat dipengaruhi oleh respons jenis bakteri terhadap suatu agen antibakteri yang berbeda-beda. Metode cakram dipilih karena kemudahannya dalam aplikasi, kemampuan memberikan data kuantitatif mengenai zona hambat yang didapat dari Diameter Daerah Hambat

(DDH) pertumbuhan bakteri yang ada di sekitar kertas cakram (Inanta & Bhernama, 2023).

Biakan murni bakteri *Staphylococcus Aureus* didapatkan dari stok labolatorium biologi UIN Walisongo. Untuk meregenerasi biakan murni dilakukan peremajaan bakteri dari stok kultur murni untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Proses peremajaan menggunakan metode NA miring. Bakteri dari stok kultur diinokulasikan pada agar miring yang berisi media Nutrient Agar dan dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Tujuan inkubasi dilakukan untuk mengkondisikan bakteri berkembang dengan suhu optimum, sehingga peremajaan bakteru akan berkembang dengan baik. Pembuatan suspensi bakteri dari bakteri hasil peremajaan yang dicampur dengan NaCl 0,9% yang telah disterilkan. Setiap suspensi dibuat dalam 10 ml setiap tabung reaksi. Kekeruhan suspensi yang telah dihomogenkan dengan bantuan vortex disetarakan dengan larutan standart 0,5 *Mc. Farland* (Rifda & Lisdiana, 2022).

Media agar MHA dipilih sebagai media untuk pengujian, Sebanyak 10 mL media MHA dituangkan kedalam masing-masing cawan yang sudah dibagi menjadi 4 garis pada permukaan luar cawan dan ditunggu hingga membentuk padatan agar, setelah media agar mengeras

dituangkan ke atas media agar sebanyak 100 μ L suspensi bakteri kemudian diratakan menggunakan *glass drill* dan ditunggu sampai sedikit mengering. Kertas cakram direndam beberapa saat dalam masing-masing variasi ekstrak yang sudah dibuat, kemudian diangin-anginkan dan diletakkan diatas media yang telah terisi suspensi bakteri. Setiap cawan akan terisi dengan kertas cakram dengan variasi konsentrasi setiap ekstrak dan fraksi dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan juga kontrol berupa amoxicilin. Hasil uji antibakteri metode cakram terdapat pada gambar 4.17.



Gambar 4.17 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun

Mangrove Bakau Terhadap Bakteri *S. Aureus* Metode Cakram

A : Variasi konsentrasi ekstrak etanol 100%

B : Variasi konsentrasi ekstrak etanol 75%

C : Variasi konsentrasi ekstrak etanol 50%

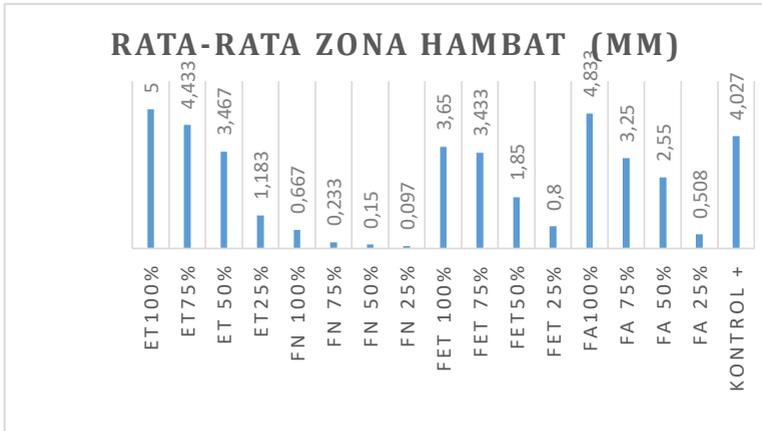
D : Variasi konsentrasi ekstrak etanol 25%

Hasil pengukuran diameter zona bening merupakan daerah hambat yang terbentuk setelah diinkubasi pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak etanol pada konsentrasi 25% lebih tinggi dibandingkan ekstrak dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Diameter daya hambat yang didapatkan secara berturut-turut sebesar $1,183 \pm 0,266$ mm; $0,097 \pm 0,071$ mm; $0,800 \pm 0,579$ mm; $0,508 \pm 0,351$ mm sebagaimana tercantum pada tabel 4.3. Terjadi penurunan pada daya hambat yang dihasilkan sesuai dengan penurunan variasi konsentrasi yang telah diujikan. Variasi konsentrasi 100% pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun mangrove *Rhizophora mucronata* menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan variasi konsentrasi lainnya (75; 50; dan 25%). Sejalan dengan penelitian Karundeng et al., (2022), Perbedaan konsentrasi Pada ekstrak yang akan diuji menunjukkan hasil daya hambat yang berbeda. Semakin tinggi variasi konsentrasi yang akan diujikan, maka semakin banyak zat aktif yang terkandung, sehingga terjadi peningkatan dalam proses penghambatan bakteri (Syahputra et al., 2022). Konsentrasi 100% ekstrak etanol daun mangrove bakau *Rhizophora mucronata* serta fraksi-

fraksinya merupakan konsentrasi optimal dalam membunuh bakteri *S. Aureus*. Grafik Hasil pengukuran rata-rata diameter daya hambat terdapat pada gambar 4.18

Tabel 4.3 Daya Hambat Uji Antibakteri ekstrak daun mangrove bakau terhadap bakteri

Sampel	Kon (%)	Daya hambat (mm)	Keterangan
	100	5,000 ± 0,163	Sedang
Ekstrak etanol	75	4,433 ± 0,205	Sedang
	50	3,467 ± 0,125	Sedang
	25	1,667 ± 0,499	Lemah
Ekstrak fraksi n-heksana	100	0,667 ± 2,435	Lemah
	75	0,233 ± 0,330	Lemah
	50	0,150 ± 0,212	Lemah
	25	0,097 ± 0,071	Lemah
Ekstrak fraksi etil asetat	100	3,650 ± 0,512	Sedang
	75	3,433 ± 0,249	Sedang
	50	1,850 ± 0,378	Lemah
	25	0,800 ± 0,579	Lemah
Ekstrak fraksi air	100	4,833 ± 0,312	Sedang
	75	3,250 ± 1,339	Sedang
	50	2,550 ± 0,668	Lemah
	25	0,508 ± 0,351	Lemah
Kontrol +	-	4,027 ± 0,233	Sedang



Gambar 4.18 Grafik Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Daya Hambat

Perbedaan pelarut yang digunakan dalam pengolahan ekstrak termasuk faktor yang mempengaruhi intensitas aktivitas antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Fazila, (2022), efektivitas ekstrak etil asetat daun bakau (*Rhizpora mucronata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil yang cukup baik. Daya hambat yang dihasilkan dari variasi konsentrasi ekstrak 20% yang merupakan konsentrasi minimum yakni sebesar $8,30 \pm 1,33$. Sedangkan daya hambat yang didapat dari uji ekstrak dengan konsentrasi yang sama terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* sebesar $5,92 \pm 1,76$. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri dari jenis gram negatif.

Faktor lain yang mempengaruhi daya hambat diantaranya, media, agen atau sampel yang digunakan sebagai antibakteri, serta bakteri uji. Faktor perlakuan merupakan faktor eksternal dari aktivitas antibakteri. Faktor perlakuan dapat terjadi dari munculnya kontaminan saat pengujian, perbedaan kondisi saat inokulasi sampai inkubasi, perbedaan pengaplikasian cakram. Sehingga besaran daya hambat yang dihasilkan akan berbeda (Fadhila, 2023).

E. Uji Antibakteri Metode Dilusi

Hasil uji dilusi secara fisik dapat diamati dari perubahan kekeruhan sebelum dan sesudah diinkubasi. Pengukuran secara kuantitatif uji dilusi menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* sebelum dan sesudah inkubasi berturut-turut. Pertumbuhan dikatakan terhambat apabila nilai absorbansi sebelum inkubasi lebih besar daripada nilai absorbansi setelah inkubasi. Pengujian dilusi menggunakan variasi konsentrasi dengan pengenceran bertingkat. Variasi larutan uji sebelum inkubasi sebagaimana gambar 4.19 dan variasi larutan uji setelah dilakukan inkubasi sebagaimana gambar 4.20



Gambar 4.19 Variasi Larutan Uji KHM Sebelum diinkubasi



Gambar 4.20 Variasi Larutan Uji KHM Setelah diinkubasi

Beberapa larutan uji terjadi perubahan menjadi lebih keruh setelah diinkubasi. Hal ini terjadi dikarenakan terdapat beberapa variasi konsentrasi yang tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga koloni bakteri menjadi lebih banyak dan nilai absorbansi setelah inkubasi meningkat. Untuk mengetahui hasil perbedaan secara kuantitatif dilakukan pengukuran yang

diperlihatkan dalam *optical density* (OD) pada spektrofotometer Uv-Vis. Berikut hasil pengukuran larutan uji KHM terhadap bakteri *S. Aereus* dalam tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Uji KHM

Sampel	Kons (%)	Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi	Ket
Ekstrak etanol	100	1,493 ± 0,043	1,476 ± 0,040	Turun
	50	0,644 ± 0,020	0,575 ± 0,057	Turun
	25	1,118 ± 0,015	1,077 ± 0,042	Turun
	12,5	0,939 ± 0,044	0,913 ± 0,036	Turun
	6,25	0,682 ± 0,004	0,672 ± 0,007	Turun
	3,125	0,334 ± 0,006	0,350 ± 0,009	Naik
	1,56	0,270 ± 0,004	0,277 ± 0,005	Naik
	0,78	0,198 ± 0,006	0,204 ± 0,006	Naik
	0,36	0,386 ± 0,004	0,403 ± 0,005	Naik
	0,195	0,375 ± 0,005	0,388 ± 0,011	Naik
	K(-)	1,295 ± 0,201	1,235 ± 0,124	Turun
Fraksi Etil asetat	100	0,372 ± 0,004	0,363 ± 0,004	Turun
	50	0,378 ± 0,005	0,373 ± 0,002	Turun
	25	0,421 ± 0,003	0,389 ± 0,033	Turun
	12,5	0,264 ± 0,006	0,253 ± 0,010	Turun
	6,25	0,120 ± 0,002	0,133 ± 0,004	Naik
	3,125	0,078 ± 0,007	0,089 ± 0,007	Naik
	1,56	0,087 ± 0,004	0,097 ± 0,004	Naik
	0,78	0,092 ± 0,004	0,101 ± 0,005	Naik
	0,36	0,064 ± 0,005	0,070 ± 0,003	Naik
	0,195	0,250 ± 0,007	0,263 ± 0,006	Naik
K(-)	2,047 ± 0,003	2,030 ± 0,012	Turun	
kontrol (+)	-	0,327 ± 0,006	0,374 ± 0,025	Naik

Hasil uji KHM menunjukkan pada variasi konsentrasi 6,25% ekstrak etanol dan pada ekstrak fraksi etil asetat terdapat pada variasi konsentrasi 12,5%. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi

terendah dari suatu variasi sampel ekstrak yang terindikasi sebagai agen antibakteri yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian. Konsentrasi ekstrak yang rendah dapat mempengaruhi penghambatan bakteri, menyebabkan proses penghambatan bakteri menjadi kurang kuat sehingga masih terdapat pertumbuhan bakteri selama proses inkubasi (Assauqi et al., 2023).

Penentuan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menggunakan metode *spread plate* (Muchtarmah et al., 2020). Variasi sampel uji KHM yang positif dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. Aureus* selanjutnya dikultur pada media NA dalam sebuah cawan dan diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37⁰C. Hasil uji KBM menghasilkan data sebagaimana pada tabel 4.6. Uji positif ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media agar. Hasil uji menunjukkan konsentrasi minimum ekstrak etanol daun mangrove bakau dalam membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yakni pada konsentrasi 25%, sedangkan pada ekstrak fraksi etil asetat nilai KBM yang didapat yakni pada konsentrasi 50%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 6,25% merupakan hasil uji yang positif

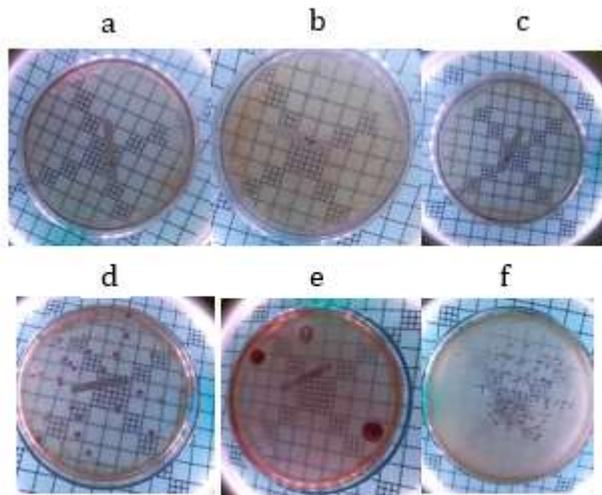
pada pengujian KHM, akan tetapi masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri.

Tabel 4.5 Hasil Uji KBM

Variasi Sampel	Kode	Pertumbuhan Koloni
Ekstrak etanol 100%	A ₁	Tidak Tumbuh
Ekstrak etanol 50%	A ₂	Tidak Tumbuh
Ekstrak etanol 25%	A ₃	Tidak Tumbuh
Ekstrak etanol 12,5%	A ₄	Tumbuh
Ekstrak etanol 6,25%	A ₅	Tumbuh
fraksi etil asetat 100%	B ₁	Tidak Tumbuh
fraksi etil asetat 50%	B ₂	Tidak Tumbuh
fraksi etil asetat 25%	B ₃	Tumbuh
fraksi etil asetat 12,5%	B ₄	Tumbuh
Kontrol (+)		Tumbuh
Kontrol (-) ekstrak etanol	K(-)A	Tidak Tumbuh
Kontrol (-) fraksi etil asetat	K(-)B	Tidak Tumbuh

Hasil penelitian Karundeng et al., (2022), konsentrasi ekstrak daun mangrove bakau dengan pelarut aquades konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *S. Aureus* yakni pada konsentrasi 6,25%. Sejalan dengan hasil penelitian Muchtaromah et al., (2020), konsentrasi minimum ekstrak etanol daun Mangga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. Aureus* yakni pada konsentrasi 12,5%. Hasil pada penelitian ini yakni nilai

KHM yang dihasilkan ekstrak etanol daun mangrove bakau yakni 6,25% dan nilai KBM sebesar 25%, sedangkan nilai KHM untuk fraksi etil asetat pada konsentrasi 12,% dan nilai KBM sebesar 50%. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangrove bakau beserta etil asetat selain dipengaruhi oleh senyawa fitokimia yang terkandung dalam setiap ekstrak, pelarut yang digunakan juga mempengaruhi aktivitas antibakteri suatu ekstrak (Mulia et al., 2023).



Gambar 4.21 Hasil Uji KHM. (a). Variasi konsentrasi 100%, (b). Variasi konsentrasi 50%, (c). Variasi konsentrasi 25%. (d). Variasi konsentrasi 12,5%, (d) Variasi konsentrasi 6,25%, (e) Variasi kontrol (+)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) yakni, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan fenolik. Fraksi n-heksana menunjukkan hasil positif pada uji senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan fenolik, sedangkan pada fraksi air ditemukan kandungan senyawa flavonoid, tanin, saponin dan fenolik.
2. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) lebih potensial dibandingkan dengan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, serta fraksi air. Hasil pengujian diameter daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 100% didapatkan hasil berturut-turut 5,00 mm, 0,667 mm, 3,65 mm, dan 4,83 mm.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun mangrove bakau (*Rhizophora mucronata*) lebih rendah dibandingkan nilai KHM fraksi etil asetat, yakni pada konsentrasi 6,25 dan

konsentrasi 12,5%. Begitupun dengan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yakni konsentrasi 12,5% dan 50%. Maka ekstrak etanol lebih potensial terhadap aktivitas antibakteri metode dilusi.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri dengan menggunakan pelarut ataupun fraksi-fraksi pelarut yang berbeda serta metode ekstraksi yang berbeda terhadap bakteri *S. Aereus*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pengujian antibakteri ekstrak etanol fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun mangrove bakau terhadap bakteri *S. Aereus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Akasia, A. I., Nurweda Putra, I. D. N., & Giri Putra, I. N. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.24843/jmrt.2021.v04.i01.p03>
- Akhsanita, M. (2012). Uji sitotoksik ekstrak, fraksi, dan sub-fraksi daun jati (*Tectonagrandis*Linn. f.) dengan metoda brine shrimp lethality bioassay. *Universitas Andalas*, 1-52. <http://scholar.unand.ac.id/6558/>
- Al-Busafi, S. N., Suliman, F. E. O., & Al-Alawi, Z. R. (2014). ChemInform Abstract: 8-Hydroxyquinoline and Its Derivatives: Synthesis and Applications. *ChemInform*, 45(49), 1-10. <https://doi.org/10.1002/chin.201449252>
- Alhaddad, Z. A., Tanod, W. A., & Wahyudi, D. (2019a). Bioaktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia* sp. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 12(1), 12. <https://doi.org/10.21107/jk.v12i1.4752>
- Alhaddad, Z. A., Tanod, W. A., & Wahyudi, D. (2019b). Bioaktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia* sp. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 12(1), 12.

<https://doi.org/10.21107/jk.v12i1.4752>

Arbidar, E., Sahari, M. A., Mirzaei, H., Kashaninejad, M., & Molaee, M. (2022). Evaluation of the effect of gamma and microwave irradiation and high temperature on the antioxidant properties of the *Avicennia marina* leaf extract. *Radiation Physics and Chemistry*.

<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2022.109970>

Assauqi, N. F., Hafshah, M., & Latifah, R. N. (2023). Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia Dan Terapannya*, 7(1).

<https://doi.org/10.17977/um0260v7i12023p001>

Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551.

<https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of

microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy. *Applied Microbiology*, 22(4), 666–670. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.666-670.1971>

Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S., & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent Advances in Natural Products Analysis*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00015-9>

Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>

Donadio, G., Mensitieri, F., Santoro, V., Parisi, V., Bellone, M. L., De Tommasi, N., Izzo, V., & Piaz, F. D. (2021). Interactions with microbial proteins driving the antibacterial activity of flavonoids. *Pharmaceutics*, 13(5). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050660>

Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, 149(August 2019), 112350. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350>

- Eckelman, M. J., Moroney, M. S., Zimmerman, J. B., Anastas, P. T., Thompson, E., Scott, P., McKeever-Alfieri, M., Cavanaugh, P. F., & Daher, G. (2021). Applying green chemistry to raw material selection and product formulation at The Estée Lauder Companies. *Green Chemistry*, 24(6), 2397–2408. <https://doi.org/10.1039/d1gc03081g>
- Egra, S., Mardhiana, ., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), 26. <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v12i1.5143>
- Fadhila, S. N. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun (*Jathropa Multifida*) Terhadap Antibakteri *Propionibacterium acnes*. *Respository Uin Walisongo*, 107.
- Fauzi, A., Suroso, E., Utomo, T. P., & Rasyid, H. Al. (2022). Kering Redestilasi Dan Lama Perendaman Ikan Lele (*Clarias Sp.*) Terhadap Karakteristik Ikan Lele Asap The Effect Of Concentration Of Redestillated Dried Banana Leaves Liquid Smoke And Immersion Time Of Catfish (*Clarias Sp.*). *Agroindustri Berkelanjutan*, 1(1), 1–11.
- Fauziningrum, E., Sutini, S., Ngaijan, N., & Hermawati, R. (2023). Sosialisasi Konservasi Mangrove di Pantai Tirang. *Jurnal Pengabdian Dan Kemitraan Masyarakat (ALKHIDMAH)*,

1(2), 22–30.
<https://ejurnalqarnain.stisnq.ac.id/index.php/ALKHIDM>
AH22

Fazila, P. N. (2022). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (Rhizophora Mucronata) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Ikan.*

Francis, J., Arivarasu, L., Sivaperumal, P., & Thangavelu, L. (2021). Screening of Antibacterial Activity from Mangrove Plants (Rhizophora mucronata) Leaf Associated Actinobacterium of Streptomyces Species. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(Mic), 524–533.
<https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i62a35698>

Ganesan, N., Mishra, B., Felix, L., & Mylonakis, E. (2023). Antimicrobial Peptides and Small Molecules Targeting the Cell Membrane of Staphylococcus aureus. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 87(2).
<https://doi.org/10.1128/membr.00037-22>

Haryoto, H., & Frista, A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Non Polar dari Daun Mangrove Kacangan (Rhizophora apiculata) dengan Metode DPPH dan FRAP. *J. Sains Kes.*, 2(2), 131–138.

Hashemzadeh, H., Hanafi-Bojd, M. Y., Iranshahy, M., Zarban, A., & Raissi, H. (2023). The combination of polyphenols and phospholipids as an efficient platform for delivery of

- natural products. *Scientific Reports*, 13(1), 1–20.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-29237-0>
- Hersila, N., Chatri, M., Vauzia, & Irdawati. (2023). Senyawa Metabolit Sekunder (Tanin) Pada Tanaman Sebagai anti Fungi. *Jurnal Embrio*, 15(1), 16–22.
<https://doi.org/1031317/embrio>
- Hidayah, Mustikaningtyas, & Bintari, S. H. (2017). Aktivitas antibakteri infusa simplisia sargassum muticum terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus. *Life Science*, 6(2), 40–54.
- Hu, J., Zhu, Z., Xie, Z., & Le, Z. (2022). Recent Advances in Visible-Light-Induced Decarboxylative Coupling Reactions of α -Amino Acid Derivatives. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 42(4), 978–1001.
<https://doi.org/10.6023/cjoc202110020>
- Huang, J., Zaynab, M., Sharif, Y., Khan, J., Al-Yahyai, R., Sadder, M., Ali, M., Alarab, S. R., & Li, S. (2024). Tannins as antimicrobial agents: Understanding toxic effects on pathogens. *Toxicon*, 247, 107812.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.107812>
- Ibrahim, W., Mutia, R., Nurhayati, N., Nelwida, N., & Berliana, B. (2016). Penggunaan Kulit Nanas Fermentasi dalam Ransum yang Mengandung Gulma Berkhasiat Obat Terhadap Konsumsi Nutrient Ayam Broiler. *Jurnal*

Agripet, 16(2), 76–82.
<https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>

Ifadah, R. A., Wiratara, P. R. W., & Afgani, C. A. (2022). Ulasan Ilmiah: Antosianin dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3(2), 11–21.
<https://doi.org/10.35308/jtpp.v3i2.4450>

Inanta, N. S., & Bhernama, B. G. (2023). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Dan Konsentrasi Bunuh Minimum (Kbm) Dari Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. 5(3), 127–140.

Indriani, R., & Agustina, S. (2019). Uji Bioaktivitas Rf<0,5 Ekstrak Metanol Daun Mangrove *Rhizophora Mucronata L.* (Rhizophoraceae) Terhadap Bakteri Resisten *Escherichia Coli* Bioactivity Test Rf<0,5 of Methanol Extract From Mangrove Leaf *Rhizophora Mucronata L.* (Rhizophoracea) for Bacteria R. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah*, 4, 1–8.

Jaradat, Z. W., Ababneh, Q. O., Sha'aban, S. T., Alkofahi, A. A., Assaleh, D., & Al Shara, A. (2020). Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* and public fomites: a review. *Pathogens and Global Health*, 114(8), 426–450.
<https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1824112>

Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia. In *Jakarta penerbit buku*

kedokteran EGC (Vol. 53, Issue 9).

- Kambey, B., Sudewi, S., & Jayanto, I. (2019). Analisis Korelasi Antara Kandungan Fenol Total Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi *Abelmoschus Manihot* L. Terhadap *Escherichia Coli*. *Pharmacon*, 8(2), 472. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29315>
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Agustin, A. T. (2013). *Staphylococcus* sp. Pada Ikan Layang (*Decapterus russelii*) Asap Pinekuhe Produk Khas Sangihe. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(2), 59–63. <https://doi.org/10.35800/mthp.1.2.2013.2928>
- Karundeng, E. D. B., Hanizar, E., & Sari, D. N. R. (2022). Potensi Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* Sebagai Antibakteri Pada *Staphylococcus aureus*. *BIOSAPPHIRE: Jurnal Biologi Dan Diversitas*, 1(1), 10–18. <https://doi.org/10.31537/biosapphire.v1i1.642>
- Kasitowati, R. D., Yamindago, A., Studi, P., Kelautan, I., & Brawijaya, U. (2017). *Potensi Antioksidan Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove Rhizophora Mucronata, Pilang Probolinggo*.
- Kregiel, D., Joanna, B., Antolak, H., Proestos, C., Babic, M., Babic, L., Zhang, B., & Additional. (2018). Saponin-Based, Biological-Active Surfactants from Plants. *Intech*, 2016, 267–322.
- Kurnia Dewi, L., Hendra Sarosa, A., Wahyu, C., Hayati, N.,

- Parasu, R., & Amalia, E. (2021). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Daya Antibakteri Hasil Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) pada Aktivitas *Staphylococcus Epidermidis*. *Journal of Innovation and Applied Technology*, 7(1), 1161–1165.
<https://doi.org/10.21776/ub.jiat.2021.007.01.6>
- Lajoie, L., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2022). Water as Green Solvent: Methods of Solubilisation and Extraction of Natural Products—Past, Present and Future Solutions. *Pharmaceuticals*, 15(12).
<https://doi.org/10.3390/ph15121507>
- Li, J., & Monje-Galvan, V. (2023). In Vitro and In Silico Studies of Antimicrobial Saponins: A Review. *Processes*, 11(10).
<https://doi.org/10.3390/pr11102856>
- Ligina, A. S., & Sudarmin, S. (2022). Isolation and Identification of Secondary Metabolic Compounds from Mangrove (*Rhizophora mucronata*) and their Bioactivity Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(1), 62–68.
<https://doi.org/10.15294/ijcs.v11i1.53296>
- Lilik, Andayani, Y., & Gunawan, R. (2013). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Chemistry Progress*, 6(2), 50–55.
- Listiana, F. I. (2022). *Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.)*

*Terhadap Streptococcus Mutans Potensi Antimikroba
Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia Sappan L .)
Terhadap Streptococcus Mutans.*

- Lobiuc, A., Pavăl, N. E., Mangalagiu, I. I., Gheorghită, R., Teliban, G. C., Amăriucăi-Mantu, D., & Stoleru, V. (2023). Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. *Molecules*, 28(3).
<https://doi.org/10.3390/molecules28031114>
- Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 64–78. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n1.p64-78>
- Makagansa, C., Mamuaja, C. F., & Mandey, L. C. (2015). Kajian Aktivitas Anti-Bakteri Ekstrak Biji Pangi (Pangium edule Reinw) Terhadap Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa Dan Escherichia coli Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 3(1), 19.
- Makalusenge, M. O., Yudisthira, A., & Rumondor, E. M. (2022). Antioxidant Activity Test Of Extracts And Fractions Of Callyspongia Aerizusa Obtained From Manado Tua Island. *Journal Pharmacon*, 11(4), 1679–1684.
- Muchtaromah, B., Safitri, E. S., & Juju, P. D. F. (2020). Antibacterial activities of Curcuma mangga Val. extract in some solvents to Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *International Conference on Life Sciences and*

- Technology (ICoLiST)*, 26(2), 58–63.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1063/5.0002490>
- Mukhtarini. (2014). Mukhtarini, “Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif,” *J. Kesehat.*, vol. VII, no. 2, p. 361, 2014. *J. Kesehat.*, VII(2), 361.
<https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>
- Mulia, D. S., Rahayu, S. D., Suyadi, A., Mujahid, I., & Isnansetyo, A. (2023). Antibacterial activity of mangrove plant extract of *Rhizophora apiculata* in inhibiting the growth of various strains of *Aeromonas hydrophila*. *Biodiversitas*, 24(9), 4803–4810.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d240921>
- Namdes, F. C. (2024). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol 96% Daun dan Kulit Batang Bakau (*Rhizophora apiculata*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*. *Http://Digilib.Unila.Ac.Id/*, 15(1), 37–48.
- Nofita, D., & Dewangga, R. (2022). Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin pada Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) Secara Spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 9(3), 102–106.
<https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36768>
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Serta Aktivitas

- Antibakteri Terhadap *Vibrio Cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2), 216.
<https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12>
- Novaryatlin, S., Handayani, R., & Chairunnisa, R. (2018). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Hati Tanah (*Angiotepris* Sp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika*, 3(1), 430–439.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41.
<https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Olchowik-Grabarek, E., Sekowski, S., Bitiucki, M., Dobrzynska, I., Shlyonsky, V., Ionov, M., Burzynski, P., Roszkowska, A., Swiecicka, I., Abdulladjanova, N., & Zamaraeva, M. (2020). Inhibition of interaction between *Staphylococcus aureus* α -hemolysin and erythrocytes membrane by hydrolysable tannins: structure-related activity study. *Scientific Reports*, 10(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-68030-1>
- Poncowati, S., Soenardjo, N., Taufiq-Spj, N., & Sibero, M. T. (2022). Profil Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Mangrove *Lumnitzera racemosa* Asal Perairan Teluk awur, Jepara. *Journal of Marine Research*, 11(4), 794–804.
<https://doi.org/10.14710/jmr.v11i4.34325>

- Prayoga, E. (2013). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*, 1–46.
- Rahayuningsih, S. R., Patimah, S. S., Mayanti, T., & Rustama, M. M. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana Daun Mangrove (*Rhizospora stylosa* Griff) Terhadap Bakteri Patogen Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Marine Research*, 12(1), 1–6. <https://doi.org/10.14710/jmr.v12i1.35657>
- Rifda, & Lisdiana, L. (2022). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kersen dan Kunyit sebagai Antibakteri *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio*, 11(2017), 586–593.
- Safitri, M. (2022). *emaran Bakteri Coliform Dan Staphylococcus Aureus Pada Tahu Putih Dari Beberapa Produsen Di Bandar Lampung*.
- Sammanta, R. V., Muliastari, H., Rachmalia, N., & Mukhlisah, I. (2023). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Mangrove (*Rhizopora mucronata*). *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*, 1(1), 1–25.
- Saragih, G., Tamrin, Marpongahtun, Nasution, D. Y., & Abdillah. (2020). Phytochemical screening and toxicity of ethanolic extract of mangrove (*Rhizophora mucronata*) leaves from

- Langsa, Aceh Timur. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(1), 476–480. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1315524>
- Sembiring, E., Sangi, M. S., & Suryanto, E. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari Biji Jagung (*Zea mays L.*). *Chemistry Progress*, 9(1), 14–20.
- Sharma, P., Tyagi, A., Bhansali, P., Pareek, S., Singh, V., Ilyas, A., Mishra, R., & Poddar, N. K. (2021). Saponins: Extraction, bio-medicinal properties and way forward to anti-viral representatives. *Food and Chemical Toxicology*, 150(December 2020), 112075. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112075>
- Shihab, M. Q. (2005). *Tafsir Al-Mishbah* (W. Hisbullah (ed.); Cetakan ke). Lentera Hati.
- Suroso, R. (2022). Analisis kesehatan mangrove berbasis algoritma NDVI menggunakan citra sentinel 2A di Kecamatan Tugu Kota Semarang. *Jurnal Geo Image*, 11(1), 1–7. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/geoimage>
- Sutriani. (2018). Pengujian *Staphylococcus aureus* Pada Ikan Layang Segar (*Decapterus Sp.*). *Repository.Polipangkep*.
- Syahputra, S. T., Sapar, A., & Widiyantoro, A. (2022). Karakterisasi Metabolit Sekunder Dari Daun Mangrove *Rhizophora Stylosa* Sebagai Antioksidan (Characterization Of Secondary Metabolite Mangrove Leaves *Rhizophora Stylosa* Species As Antioxidants). *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5(1), 55.

<https://doi.org/10.26418/indonesian.v5i1.53566>

Triwanda, A., & Hastuti, Y. P. (2023). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Mangrove (Rhizophora Stylosa) Terhadap Bakteri Vibrio Parahaemolyticus Antibacterial Activities Of Mangrove Plant Extract (Rhizophora Stylosa) To The Growth Of Bacteria Vibrio parahaemolyticus*. 5(April), 47–54.

WHO. (2014). Global Report on Surveillance 2014. *WHO 2014 AMR Report*, 1–8.
http://www.who.int/drugresistance/documents/AMR_report_Web_slide_set.pdf

Winterton, N. (2021). The green solvent: a critical perspective. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 23(9), 2499–2522. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02188-8>

Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149.
<https://doi.org/10.2174/092986732166614091611344>

Yasser, M., Ilham, N. M., Amri, Herman, B., Ninin, A., & Ririn, U. S. (2022). Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Steroid Dan Terpenoid Dari Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.). *Bidang Ilmu Teknik*

Kimia, Kimia Analisis, Teknik Lingkungan, Biokimia Dan Bioproses , 90–94.

Yennie, Y., Dewanti-Hariyadi, R., Kusumaningrum, H. D., & Poernomo, A. (2022). Contamination of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in Sushi at Retail Level in Jabodetabek Area. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 331–344.
<https://doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.42066>

LAMPIRAN

Lampiran 1 Preparasi dan pembuatan ekstrak

A. Pengambilan dan Preparasi Sampel



Lokasi pengambilan sampel



Preparasi pengeringan sampel



Proses pengeringan daun dengan oven



Sampel daun yang sudah diekeringkan

B. Pengambilan ekstrak dan fraksinasi



Penyaringan hasil maserasi



Penguapan ekstrak etanol dengan *rotary evaporator*



Penguapan pelarut etanol dengan *waterbath*



Hasil ekstrak etanol daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata*



Proses fraksinasi fasa air dan n-heksana



Proses fraksinasi fasa air dan etil asetat



Hasil ekstrak etanol daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata* fraksi n-heksana



Hasil ekstrak etanol daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata* fraksi etil asetat



Hasil ekstrak etanol daun
Mangrove bakau *Rhizophora
mucronata* fraksi air

Lampiran 2 Uji Fitokimia

- a. Ekstrak etanol daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata*



Uji flavonoid (+)



Uji Alkaloid (+)



Uji saponin (+)



Uji tanin (+)



Uji fenolik (+)

- b. Ekstrak daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata* fraksi n-heksana



Uji flavonoid (+)



Uji Alkaloid (+)



Uji saponin (+)



Uji tanin (-)



Uji fenolik (+)

c. Ekstrak etanol daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata* fraksi etil asetat



Uji flavonoid (+)



Uji Alkaloid (+)



Uji saponin (+)



Uji tanin (+)



Uji fenolik (+)

- d. Ekstrak daun Mangrove bakau *Rhizophora mucronata* fraksi air



Uji flavonoid (+)



Uji Alkaloid (-)



Uji saponin (+)



Uji tanin (+)



Uji fenolik (+)

Lampiran 3 Preparasi dan Pengujian Antibakteri

a. Preparasi alat dan bahan



Preparasi sterilisasi



Pembuatan media
Nutrient Agar



Pembuatan media
Muller Hilton Agar
(MHA)



Pembuatan media
Nutrient Borth (NB)



Peremajaan bakteri dengan Na miring



Pembuatan larutan NaCl 0,9 %



Pengocokan suspensi dengan *vortex*



Pembuatan suspensi bakteri yang setara dengan larutan standar Mc farland 0,5



Preparasi variasi konsentrasi ekstrak etanol



Preparasi variasi konsentrasi ekstrak fraksi n-heksana



Preparasi variasi konsentrasi ekstrak fraksi etil-asetat



Preparasi variasi konsentrasi ekstrak fraksi air

b. Pengujian konsentrasi bunuh minimum (KBM)



Sebelum diinkubasi ekstrak etanol



Setelah diinkubasi ekstrak etanol 1



Sebelum diinkubasi ekstrak fraksi n-heksana



Setelah diinkubasi ekstrak fraksi n-heksana 1



Sebelum diinkubasi
ekstrak fraksi etil
asetat



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi etil asetat
1



Sebelum diinkubasi
ekstrak fraksi air 1



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi air 1



Setelah diinkubasi
ekstrak etanol 2



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi n-heksana
2



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi etil
asetat 2



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi air 2



Setelah diinkubasi
ekstrak etanol 3



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi n-heksana
3



Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi etil
asetat 3

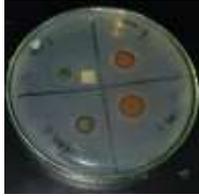


Setelah diinkubasi
ekstrak fraksi air 3



Hasil uji variasi
sampel 100% dan
kontrol +

Hasil uji variasi sampel
100% dan kontrol +



Hasil uji variasi sampel konsentrasi 100%

c. Pengujian antibakteri metode dilusi

Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi
 <p>variasi konsentrasi ekstrak etanol</p>	 <p>variasi konsentrasi ekstrak etanol</p>
 <p>variasi konsentrasi ekstrak etanol dan K(-)</p>	 <p>variasi konsentrasi ekstrak etanol dan K(-)</p>



Variasi konsentrasi ekstrak etil asetat



Variasi konsentrasi ekstrak etil asetat



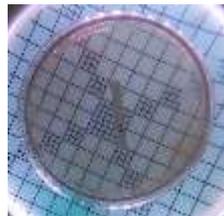
Variasi konsentrasi ekstrak etil asetat



Variasi konsentrasi ekstrak etil asetat



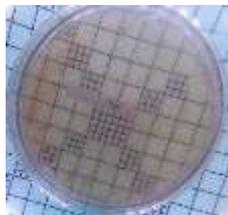
Kons 100% Ekstrak etanol



Kons 100 % Ekstrak etanol



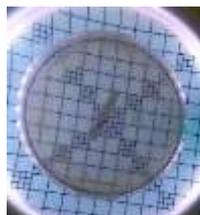
Kons 50% Ekstrak etanol



Kons 50% Ekstrak etanol



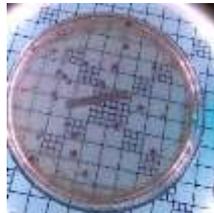
Kons 25 Ekstrak Etanol



Kons 25 Ekstrak etanol



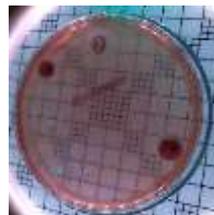
Kons 12,5 Ekstrak Etanol



Kons 12,5 Ekstrak Etanol



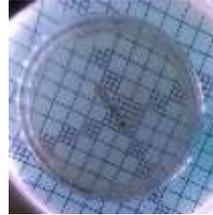
Kons 6,25 Ekstrak Etanol



Kons 6,25 Ekstrak etanol



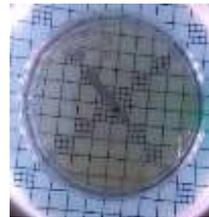
Kontrol - Ekstrak etanol



Kontrol - Ekstrak Etanol



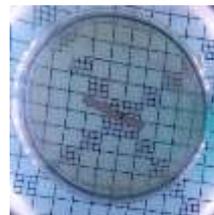
Kons 100 Ekstrak Fraksi
etil asetat



Kons 100 Ekstrak Fraksi
etil asetat



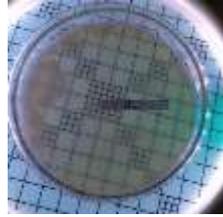
Kons 50 Ekstrak Fraksi
etil asetat



Kons 50 Ekstrak Fraksi etil
asetat



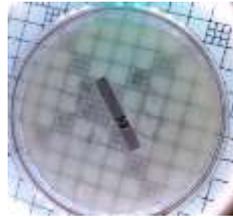
Kons 25 Ekstrak Fraksi etil asetat



Kons 25 Ekstrak Fraksi etil asetat



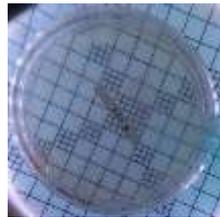
Kons 12,5 Ekstrak Fraksi etil asetat



Kons 12,5 Ekstrak Fraksi etil asetat



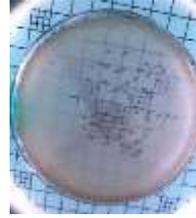
Kontrol - Ekstrak Fraksi etil asetat



Kontrol - Ekstrak Fraksi etil asetat



Kontrol (+)



Kontrol (+)

Lampiran 4 Perhitungan preparasi bahan

1. Pembuatan larutan BaCl₂ 1%

$$\begin{aligned}\text{BaCl}_2 \text{ 1\%} &= \frac{1}{100} \times 50 \text{ ml} \\ &= 0,5 \text{ gram}\end{aligned}$$

Pembuatan larutan BaCl₂ 0,9% dibuat dengan mencampurkan 0,5 gram padatan BaCl₂ kedalam labu ukur dan ditambah 50 mL akuades sampai tanda batas kemudian dihomogenkan.

2. Pembuatan larutan H₂SO₄ 1% 50 mL dari H₂SO₄ 98%

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 98\% &= 50 \text{ mL} \cdot 1\% \\ V_1 &= 0,51 \text{ mL}\end{aligned}$$

3. Pembuatan NaCl Fisiologis 0,9%

$$\begin{aligned}\% \text{ (b/v)} &= \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 100 \\ &= 0,9\%\end{aligned}$$

Sehingga pembuatan larutan NaCl fisiologis 0,9% dibuat dengan mencampurkan 0,9 gram padatan NaCl kedalam 100 mL akuades.

4. Pembuatan varian konsentrasi larutan Uji

- a. Konsentrasi 100% (b/v)

Konsentrasi 100% (b/v) digunakan sebagai larutan induk dan dibuat dalam labu ukur 100 mL.

$$\begin{aligned}\% (b/v) &= \frac{(\text{massa zat terlarut (g)})}{(\text{volume larutan (mL)})} \times 100\% \\ &= (5 \text{ g}) / (5 \text{ mL}) \times 100\% \\ &= 100\%\end{aligned}$$

b. Konsentrasi 75% (b/v)

Larutan dibuat dalam labu ukur 5 mL

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100 \cdot V_1 = 75 \cdot 5$$

$$V_1 = 3,75 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 50% (b/v)

Larutan dibuat dalam labu ukur 5 mL

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$75 \cdot V_1 = 50 \cdot 5$$

$$V_1 = 3,33 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 25% (b/v)

Larutan dibuat dalam labu ukur 5 mL

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$50 \cdot V_1 = 25 \cdot 5$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

5. Pembuatan variasi konsentrasi larutan uji KHM

- a. Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 100% antara lain:

$$\begin{aligned}\% (b/v) &= \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\% \\ &= \frac{5 \text{ g}}{5 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 100\%\end{aligned}$$

- b. Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 50%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100 \cdot V_1 = 50 \cdot 5$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

- c. Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 25%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$50 \cdot V_1 = 25 \cdot 5$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

- d. Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 12,5%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$25 \cdot V_1 = 12,5 \cdot 5$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

- e. Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 6,25%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$12,5 \cdot V_1 = 6,25 \cdot 5$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

6. Hasil Uji Daya Hambat Metode Difusi Cakram

Jenis ekstrak	Konsentrasi ekstrak (%)	Zona hambat (mm)	Rata-rata (mm)	Standar deviasi
Ekstrak etanol	100	5,2	5,000	0,163
		4,8		
		5		
	75	4,7	4,433	0,205
		4,4		
		4,2		
	50	3,5	3,467	0,125
		3,3		
		3,6		
	25	0,85	1,183	0,266
		1,5		
		1,2		
fraksi n-heksana	100	0	0,667	0,499
		0,8		
		1,2		
	75	0	0,233	0,330
		0,7		
		0		
50	0	0,150	0,212	
	0,45			
	0			
25	0,17	0,097	0,071	
	0,12			

		0		
		4,25		
	100	3	3,650	0,512
		3,7		
		3,5		
	75	3,7	3,433	0,249
		3,1		
		2,7		
	50	0,9	1,850	0,738
		1,95		
		1,35		
	25	1,05	0,800	0,579
		0		
		5,25		
	100	4,5	4,833	0,312
		4,75		
		3,5		
	75	1,5	3,250	1,339
		4,75		
		3,25		
	50	2,75	2,550	0,668
		1,65		
		0,65		
	25	0,025	0,508	0,351
		0,85		
		3,7		
	Kontrol +	4,23	4,027	0,233
		4,15		

7. Hasil Uji KHM

Sampel	Kons (%)	Sebelum inkubasi	Rata-rata	Setelah inkubasi	Rata-rata
Ekstrak etanol	100	1,520	1,493	1,492	1,476
		1,432		1,421	
	50	1,528	0,644	1,514	0,575
		0,671		0,494	
		0,634		0,619	
		0,626		0,611	
	25	1,123	1,118	1,02	1,077
		1,098		1,093	
		1,134		1,119	
	12,5	0,971	0,939	0,912	0,913
		0,877		0,869	
		0,969		0,958	
	6,25	0,687	0,682	0,681	0,672
		0,677		0,665	
		0,682		0,671	
	3,125	0,332	0,334	0,339	0,350
		0,329		0,361	
		0,342		0,351	
	1,56	0,265	0,270	0,277	0,277
		0,275		0,283	
0,269		0,271			
0,78	0,198	0,198	0,202	0,204	
	0,206		0,212		
0,36	0,191	0,386	0,197	0,403	
	0,391		0,41		
			0,399		

		0,385		0,401	
		0,377		0,398	
	0,195	0,38	0,375	0,392	0,388
		0,369		0,373	
		0,372		0,36	
	100	0,377	0,372	0,369	0,363
		0,366		0,361	
		0,379		0,373	
	50	0,371	0,378	0,371	0,373
		0,383		0,376	
		0,421		0,344	
	25	0,417	0,421	0,402	0,389
		0,424		0,422	
		0,267		0,241	
	12,5	0,269	0,264	0,266	0,253
		0,255		0,251	
		0,120		0,139	
	6,25	0,123	0,120	0,133	0,133
		0,117		0,128	
		0,078		0,093	
	3,125	0,086	0,078	0,095	0,089
		0,069		0,079	
		0,082		0,093	
	1,56	0,089	0,087	0,102	0,097
		0,091		0,097	
		0,098		0,101	
	0,78	0,091	0,092	0,107	0,101
		0,088		0,094	
		0,062		0,07	
	0,36	0,059	0,064	0,066	0,070

		0,071		0,074	
		0,257		0,266	
	0,195	0,241	0,250	0,254	0,263
		0,251		0,268	
		0,325		0,395	
Kontrol (+)	-	0,336	0,327	0,387	0,374
		0,321		0,339	
		1,157		1,146	
Kontrol (-) Etanol	-	1,149	1,295	1,149	1,235
		1,58		1,41	
		2,05		2,029	
Kontrol (-) Etil		2,043	2,047	2,016	2,030
		2,049		2,045	

Lampiran 5 Daftar Riwayat Hidup

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

Nama : Laily Sakinatul Afiddah
Tempat, Tanggal Lahir : Gresik, 27 Oktober 2001
Alamat Rumah : Ds. Petung RT/RW 16/06
Panceng, Gresik
Nomor HP : 085546660973
E-mail : lailysakinatulafiddah@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

Pendidikan Formal

1. RAM Tarbiyatus Shibyan
2. MI Tarbiyatus Shibyan
3. MTs Tarbiyatut Tholabah
4. MA Tarbiyatut Tholabah