



Research article

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Rhizophora mucronata* terhadap *Shigella dysenteriae*

MUHAMMAD FIKRY NUGRAHA¹, DIAN ARDIANA², ASAMI RIETTA KUMALA³,
NITA PRANITASARI⁴

¹Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah

²Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hang
Tuah

³Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah

⁴Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah

Alamat e-mail penulis korespondensi: dian.ardiana@hangtuah.ac.id

Abstract

Shigella dysenteriae is the most common cause of diarrhea in cases of shigellosis. This bacterium can invade the epithelium of the large intestine, ileum, and rectum, causing diarrhea accompanied by blood and mucus. The disease has demonstrated resistance, reducing the effectiveness of antibiotic treatment. The mangrove *Rhizophora mucronata* contains various secondary metabolites that have the potential to be new antibacterial alternatives. This study is an in vitro laboratory study to determine the inhibitory effect of *Rhizophora mucronata* leaf extract on the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria. The study used the Kirby-Bauer drop diffusion method with Mueller-Hinton Agar medium and a digital caliper to measure the diameter of the inhibition zone. Twenty-four samples were divided into six groups: negative control (bacterial culture treated with distilled water); treatment groups (Kp) (treated with extract concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%); and positive control (treated with ciprofloxacin 5 mcg). Results: The negative control group and all treatment groups had an average inhibition zone of 6.00 mm or no inhibition zone, while the positive control group had an average of 25.845 mm. The Kruskal-Wallis test ($p=0.0001$) showed significant differences among the tested groups, and the post hoc test ($p=0.014$) indicated significant differences between the positive control group and all other groups. The leaf extract of *Rhizophora mucronata* was not found to have inhibitory activity against the growth of *Shigella dysenteriae*.

Keywords: antibacterial, inhibitory activity, mangrove, *Rhizophora mucronata*, *Shigella dysenteriae*

Abstrak

Shigella dysenteriae menjadi penyebab terbanyak diare pada kasus shigellosis. Bakteri ini dapat berinvansi ke epitel usus besar, ileum, dan rektum menimbulkan diare disertai darah serta lendir. Terapi antibiotik yang efektif untuk penyakit ini telah menunjukkan resistensi. Bakau *Rhizophora mucronata* mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi sebagai alternatif antibakteri baru. Penelitian ini adalah penelitian laboratorik uji in vitro untuk mengetahui kemampuan menghambat ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Penelitian menggunakan metode difusi tetes Kirby-Bauer dengan media Mueller-Hinton Agar serta kaliper digital untuk mengukur besar diameter zona hambat. Sampel sebanyak 24 dibagi menjadi 6 kelompok: kontrol negatif (biakan bakteri diberi akuades); kelompok perlakuan (Kp) (ditetesi ekstrak konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%), dan kontrol positif (diberi siprofloksasin 5 mcg). Hasil: Kelompok kontrol negatif dan seluruh kelompok perlakuan memiliki rerata zona hambat sebesar 6,00 mm atau tidak ada zona hambat, sedangkan kelompok kontrol positif memiliki rerata 25,845 mm. Hasil Uji Kruskal-Wallis ($p=0,0001$) menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada kelompok yang diuji dan uji post hoc ($p=0,014$) menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol positif dengan seluruh kelompok lainnya. Ekstrak daun *Rhizophora mucronata* tidak terbukti memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.

Kata Kunci: antibakteri, bakau, daya hambat, *Rhizophora mucronata*, *Shigella dysenteriae*

PENDAHULUAN

Shigella dysenteriae (*S. dysenteriae*) merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dan memiliki faktor virulensi berupa enterotoksin. Spesies *S. dysenteriae* tipe 1 menjadi patogen utama dari penyakit infeksi shigellosis yang ditularkan melalui rute fekal oral yang dapat menyebabkan invasi epitel usus besar, ileum, dan rektum (Pakbin *et al.*, 2023). Setelah seseorang terinfeksi, akan dimulai dengan masa inkubasi dalam 1 sampai 4 hari kemudian memburuk dengan ditandai peningkatan volume dan frekuensi diare disertai darah serta lendir pada feses (Dekker & Frank, 2015).

Pada tahun 2016 angka kejadian shigellosis pada anak kurang dari lima tahun di dunia sekitar 446.000 dengan bakteri genus *Shigella* menjadi penyebab kedua terbanyak yang diperkirakan sekitar 63.713 atau 13% dari seluruh kematian akibat diare (Khalil *et al.*, 2018). Data menurut Riset Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (P2P) menunjukkan angka morbiditas diare pada anak tahun 2000–2010 bervariasi dan cenderung meningkat yaitu 301 hingga 411 orang per 1000 penduduk (Rasyidah, 2019). Prevalensi diare pada anak di bawah lima tahun di Indonesia meningkat dari 18,5 % pada 2013 menjadi 12,3 % pada 2018 (Sabilu *et al.*, 2021).

Antibiotika lini pertama yang direkomendasikan WHO untuk shigellosis, siprofloksasin, secara bertahap menunjukkan peningkatan resistensi dalam 20 tahun terakhir, mencapai lebih dari 70%. Oleh karena itu, diperlukan penemuan atau kombinasi bahan antibiotik baru yang lebih aman dan efek samping yang minimal untuk terapi shigellosis (Nuzhat *et al.*, 2022).

Sumber daya laut di Indonesia sangat melimpah akan keanekaragaman spesies floranya. Tumbuhan halofit atau mangrove yang tumbuh di kawasan pesisir Indonesia telah banyak digunakan masyarakat sebagai sumber bahan pangan, sandang, dan obat-obatan (Setyawan *et al.*, 2022). Spesies bakau *Rhizophora mucronata* (*R. mucronata*) telah diteliti dalam beberapa literatur ilmiah terbukti memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin (Nur, Dewi dan Kaliu, 2022). Ekstrak etanol dari daun bakau *R. mucronata* memiliki kandungan fenol dan flavonoid yang tinggi sehingga berpotensi sebagai zat antibiotik dan antioksidan yang menunjukkan hasil penghambatan positif pada bakteri gram negatif yang signifikan secara in vitro (Chelliah *et al.*, 2023).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi ekstrak daun *R. mucronata* dalam inhibisi pertumbuhan koloni bakteri spesies *Shigella dysenteriae*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian, Populasi, dan Sampel

Metodologi penelitian menggunakan desain *true experimental post-test only control group* untuk mengkaji kemampuan antibakteri dari ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* secara *in vitro*, dengan teknik difusi tetes terhadap biakan bakteri gram negatif *Shigella dysenteriae*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah pada bulan Juli 2024.

Populasi penelitian ini adalah bakteri *Shigella dysenteriae* yang diinokulasikan pada media agar Mueller-Hinton dan sampel penelitian adalah seluruh biakan bakteri *Shigella dysenteriae* yang tumbuh dalam media agar. Strain bakteri *Shigella dysenteriae* diperoleh dari kultur koleksi laboratorium mikrobiologi Universitas Hang Tuah dan telah melalui uji biokimia untuk identifikasi jenis bakteri. Penelitian menggunakan enam kelompok perlakuan (t) dan dilakukan empat kali pengulangan (n), dengan total sampel berjumlah 24 berdasarkan hasil perhitungan rumus Federer. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok kontrol negatif (K-), variasi konsentrasi ekstrak (Kp) 25%; 50%; 75%; 100%, dan kontrol positif (K+). Penelitian ini telah diuji Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah dengan izin etik pemberian ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* (No. I/044/UHT.KEPK.03/VII/2024).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator*, *laminar air flow*, *autoclave*, mikropipet, spatula, corong bucher, kertas saring, inkubator, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, rak, gelas ukur, cawan petri, ose, bunsen, timbangan digital, dan kaliper digital. Bahan yang digunakan adalah daun bakau *R. mucronata* sebanyak 500 gram dalam bentuk simplisia, bakteri *Shigella dysenteriae*, Mueller-Hinton Agar (MHA), akuades, DMSO 0,2%, etanol 96%, cakram siprofloksasin 5 mcg.

Pengambilan sampel daun bakau *R. mucronata* dilakukan di Kawasan Hutan Bakau Gunung Anyar, Kota Surabaya, Jawa Timur. Uji taksonomi dilakukan di Laboratorium Laboratorium Riset Unggulan IPB. Proses pembuatan ekstrak *R.*

mucronata dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Hang Tuah Surabaya.

Pembuatan Ekstrak Daun Bakau

Daun bakau *Rhizophora mucronata* dicuci, dikeringkan, dipotong-potong, dioven, kemudian diayak menjadi serbuk. Sebanyak 500 gram serbuk direndam dalam larutan etanol 96% selama 72 jam serta ditutup agar terhindar sinar matahari. Hasil rendaman disaring untuk memisahkan maserat dan residu dan proses perendaman diulang tiga kali untuk memperoleh filtrat tambahan. Filtrat tambahan yang terkumpul sebanyak 5 liter digabungkan kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 40 gram. Ekstrak ini selanjutnya ditimbang sesuai kebutuhan untuk pembuatan berbagai konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak daun bakau ditimbang dan dicampur dengan akuades steril untuk memperoleh konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan cara setiap konsentrasi ditambahkan hingga volume mencapai 1 ml menciptakan perbandingan ekstrak-akuades 1/1, 3/4, 1/2, dan 1/4 (Debari *et al.*, 2022). Konsentrasi 100% sejumlah 1 gram ekstrak ditambah 1 ml akuades; konsentrasi 75% dibuat dengan campuran 0,75 gram ekstrak dilarutkan dengan 0,25 ml akuades; konsentrasi 50% dibuat dengan campuran 0,50 gram ekstrak dilarutkan dengan 0,50 ml akuades; konsentrasi 25% dibuat dengan campuran 0,25 gram dilarutkan dengan 0,75 ml akuades.

Pembuatan Media Mueller-Hinton Agar (MHA)

Sebanyak 10 gram sediaan serbuk Mueller-Hinton Agar (MHA) dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer dan ditambahkan 250 ml akuades steril kemudian diaduk rata dan dipanaskan hingga mendidih. Campuran tersebut disterilkan ke dalam autoklaf selama 15 menit lalu ditempatkan pada inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pengambilan Bakteri

Bakteri diambil dari kultur murni pada media agar Mueller-Hinton Broth (MHB), kemudian dipindahkan ke dalam tabung yang sudah disiapkan berisi larutan DMSO 0,2% menggunakan pipet mikrometer. Kekeruhan larutan diatur sesuai dengan standar McFarland 0,5 sebanding jumlah bakteri sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU (*Colony Forming Unit*)/ml (Aviany & Pujiyanto, 2020).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji menggunakan metode difusi tetes dimulai dengan menyiapkan media MHA sebanyak 10 ml ke dalam delapan buah cawan petri. Penggoresan suspensi bakteri *S. dysenteriae* dilakukan pada permukaan media MHA. Selanjutnya, kertas saring berbentuk cakram dengan diameter 6 mm diletakkan pada setiap cawan petri sesuai dengan pembagian kelompok perlakuan. Kontrol negatif diberi tetesan 20 mikroliter larutan akuades pada kertas cakram. Sebanyak 20 mikroliter ekstrak daun bakau *R. mucronata* ditetaskan pada empat kelompok konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dan diletakkan kontrol positif dengan sediaan jadi cakram siprofloksasin 5 mcg pada media MHA (Sardjiman *et al.*, 2024). Cawan petri yang berisi suspensi bakteri dan kertas cakram sesuai kelompok perlakuan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pengamatan dilakukan dengan mengukur rerata diameter zona hambat menggunakan kaliper digital dalam tiga kali pengukuran (horizontal, vertikal, dan diagonal). Uji dilakukan empat kali pengulangan pada setiap kelompok yang ditunjukkan dalam angka romawi (I, II, III, IV).

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan program komputasi IBM SPSS Statistics 26 untuk menguji pengaruh hambatan yang diberikan oleh *R. mucronata* pada variasi konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro-Wilk, yang dipilih karena jumlah sampel data kurang dari lima puluh. Hasil distribusi normal diperoleh jika nilai $p > 0,05$, sedangkan distribusi tidak normal jika $p < 0,05$. Jika data zona hambat memenuhi syarat parametrik, analisis dilanjutkan dengan uji One-way ANOVA. Namun, jika tidak memenuhi syarat parametrik, analisis

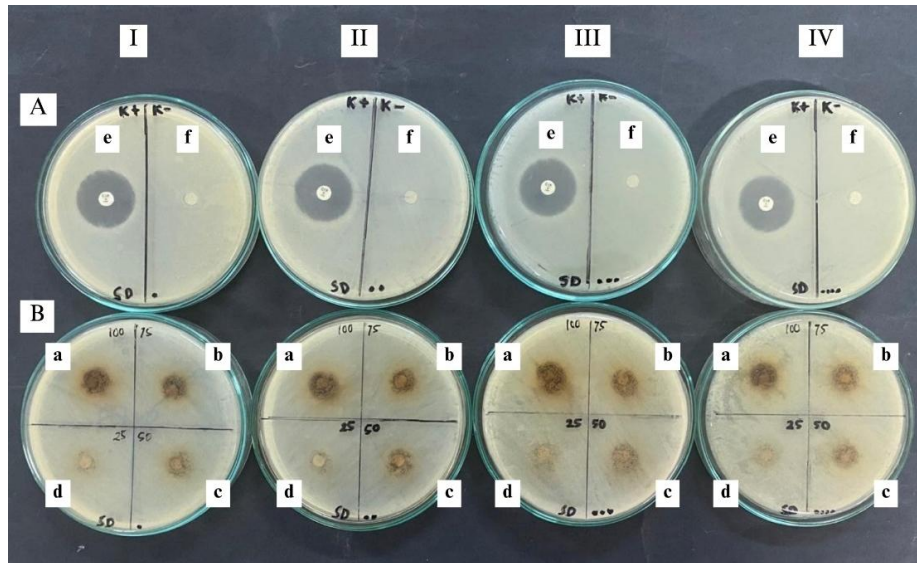
dilakukan menggunakan uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan uji post hoc Mann-Whitney U untuk mengidentifikasi perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

HASIL PENELITIAN

Hasil temuan zona hambat dari setiap perlakuan diilustrasikan pada Gambar 1 dan hasil pengukuran pada Tabel 1. Kelompok perlakuan ekstrak daun bakau *R. mucronata* pada seluruh kelompok konsentrasi mempunyai nilai hambat konstan 0,00 mm, dengan hasil pengukuran diameter 6,00 mm atau sama dengan ukuran kertas cakram yang digunakan. Kontrol positif antibiotik siprofloksasin 5 mcg menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. Dysenteriae*. Interpretasi data rerata zona hambat $\leq 6,00$ mm dapat diinterpretasikan sebagai tidak adanya zona hambat. Nilai hambatan sebesar 0,00 mm untuk tidak adanya zona hambat karena nilai 6,00 mm merupakan besar diameter kertas cakram yang digunakan.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat

Kelompok	Zona Hambat dalam satuan milimeter							
	I	II	III	IV	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	Rerata	Standar deviasi
K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	.00000
Kp 25%	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	.00000
Kp 50%	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	.00000
Kp 75%	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	.00000
Kp 100%	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	.00000
K (+)	26,46	25,45	25,68	25,79	25,45	26,46	25,8450	0,43378



Gambar 1. Zona hambat masing-masing kelompok

Keterangan:

- (A): 4 cawan petri kelompok kontrol positif dan kontrol negatif
- (B): 4 cawan petri kelompok ekstrak 25%, 50%, 75%, 100%
- (a);(b);(c);(d): Konsentrasi ekstrak daun bakau *R. mucronata* dengan konsentrasi 100%; 75%; 50%; 25%, (e): Kontrol positif siprofloksasin 5 mcg, (f): Kontrol negatif akuades
- (I);(II);(III);(IV): Pengulangan ke-1; ke-2; ke-3; ke-4.

Uji Normalitas

Uji distribusi Shapiro-Wilk digunakan untuk menguji normalitas sampel dengan jumlah kurang dari lima puluh sampel, penelitian ini melibatkan sampel yang digunakan berjumlah 24. Hasil uji normalitas yang menunjukkan nilai signifikansi (sig.) $p > 0,05$ dianggap sebagai data yang berdistribusi normal. Tabel 3 menunjukkan informasi hasil pengujian didapatkan nilai signifikan kelompok (K-) dan (Kp) pada setiap konsentrasi sangat kecil mendekati nol dan kelompok kontrol positif (K+) dengan nilai signifikansi 0,427. Data pada tabel 3 bermakna bahwa data tidak berdistribusi normal dan dilanjutkan dengan uji statistik Kruskal-Wallis atau nonparametrik.

Tabel 2. Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
K (-)	.	4	.
Kp 25%	.	4	.
Kp 50%	.	4	.
Kp 75%	.	4	.
Kp 100%	.	4	.
K (+)	0,899	4	0,427

Uji Statistik

Data penelitian menunjukkan bahwa karena tidak berdistribusi normal, analisis dilakukan menggunakan uji nonparametrik Kruskal–Wallis dan hasilnya memperlihatkan adanya perbedaan bermakna pada diameter zona hambat antar kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi $<0,001$, sehingga dilanjutkan dengan uji post hoc Mann–Whitney U untuk mengidentifikasi kelompok yang berbeda secara signifikan; hasilnya menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif serta seluruh kelompok perlakuan konsentrasi yang menghasilkan diameter zona hambat konstan 6,00 mm memiliki nilai $p=1,000$ ($p>0,05$) ketika dibandingkan satu sama lain yang mengindikasikan tidak adanya kemampuan penghambatan terhadap *Shigella dysenteriae*, sedangkan kelompok kontrol positif memiliki nilai $p=0,014$ ($p<0,05$) pada perbandingan dengan seluruh kelompok lainnya dan terbukti memberikan efek penghambatan yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri tersebut.

Tabel 3. Uji Statistik Kruskal-Wallis

	Diameter Zona Hambat
Kruskal-Wallis	22,763
df	5
Asymp. Sig.	0.000

Tabel 4. Uji Post Hoc Mann-Whitney U

Kelompok	K (-)	Kp 25%	Kp 50%	Kp 75%	Kp 100%	K (+)
K (-)	-	1,000	1,000	1,000	1,000	0,014*
Kp 25%		-	1,000	1,000	1,000	0,014*
Kp 50%			-	1,000	1,000	0,014*
Kp 75%				-	1,000	0,014*
Kp 100%					-	0,014*
K (+)						-

PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pada uji in vitro yang diperoleh berupa diameter zona hambat transparan di sekitar mengelilingi kertas cakram yang diukur dalam satuan milimeter (mm). Peneliti mengamati zona hambat pada kontrol negatif dan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, 100%, hasil pengukuran menunjukkan angka 6,00 mm atau zona hambat 0,00 mm, menunjukkan tidak ada daya hambat dan hanya kontrol positif saja yang berhasil menghambat dengan rerata diameter sebesar 25,8450 mm.

Penelitian ini bertentangan dengan penelitian yang dilakukan Howlader (2013) yang menyatakan terdapat adanya daya hambat ekstrak etanol 80% dari ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* dengan hasil sensitifitas ringan terhadap *Shigella dysenteriae* (6,5 mm) dan *Shigella boydii* (7,0 mm) (Howlader *et al.*, 2013). Penelitian ekstrak etanol bakau yang didapat di kawasan hutan bakau Lampung Timur menunjukkan hasil penghambatan minimal *Shigella dysenteriae* dengan diameter 6,75 mm dan 7,6 mm pada konsentrasi 50% dan 100% (Alnisrina, 2021). Bakau *Rhizophora mucronata* dalam beberapa literatur di Indonesia telah banyak diuji sebagai antimikroba untuk bakteri Gram negatif penyebab diare lainnya, seperti pada *Helicobacter pylori* menunjukkan hasil penghambatan minimal dengan rerata diameter sebesar 6,3 mm (konsentrasi 25%) dan 6,7 mm (konsentrasi 50%). Penelitian ini menggunakan media dilusi agar dengan ekstrak etanol 96% (Pertiwi *et al.*, 2024). Ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* yang diambil dari Hutan Bakau Angke Kapuk, Jakarta Utara menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab diare dan menghasilkan zona hambat berkisar antara 6 hingga 9 milimeter bergantung pada konsentrasi ekstrak yang digunakan (Tarman *et al.*, 2013).

Penelitian Rajeswari (2017) menyatakan hasil yang linier terhadap ekstrak daun dan buah dari *Rhizophora mucronata* yang dapat menghambat spesies bakteri *Shigella flexneri* pada konsentrasi 500 mg/ml dan 250 mg/ml. Namun, tidak terdapat zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Staphylococcus aureus* (Rajeswari *et al.*, 2017). Menurut penelitian Sabu (2022) penggunaan ekstrak (etanol) daun spesies bakau lain seperti *Excoecaria agallocha* dengan pelarut etil asetat (EtOAc) terbukti memiliki fungsi antibakteri yang lebih kuat menunjukkan zona hambat $12,4 \pm 1,2$ mm terhadap *Shigella flexneri* (Sabu *et al.* 2022). Berbagai penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengevaluasi potensi tanaman bakau dari genus *Rhizophoraceae* sebagai antibakteri, khususnya pada spesies *Rhizophora mucronata*. Penelitian mengenai bioaktivitas *Rhizophora mucronata* yang mengandung tanin, terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, dan saponin dianggap sebagai dasar digunakannya tanaman herbal bakau sebagai alternatif antibakteri (Pertiwi *et al.*, 2024). Uji fitokimia terkait senyawa fraksi etil pelarut metanol ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* dari sediaan sebesar 172,8 gram semisolid pasta mengandung sebagian besar senyawa alkaloid (74,76%) yang menjadi komponen utama dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri gram negative (Sandhya *et al.*, 2022). Adanya senyawa metabolit sekunder seperti saponin dan flavonoid yang terdapat dalam jumlah lebih tinggi berperan dalam memperlambat pembentukan asam nukleat serta mengganggu fungsi membran sel dalam proses produksi energi bakteri (Pertiwi *et al.*, 2024).

Tidak adanya zona hambat pada sebagian besar sampel kemungkinan disebabkan oleh faktor ekosistem dan habitat bakau mempengaruhi kandungan dari senyawa metabolit aktif yang terkandung. Biodiversitas spesies makhluk hidup yang hidup di kawasan mangrove seperti keanekaragaman serangga sangat mempengaruhi kualitas kandungan senyawa daun bakau genus *Rhizophoraceae* (*R. mucronata*, *R. stylosa*). Tingkat kerusakan pada daun berpengaruh dalam berkurangnya kandungan senyawa nitrogen, fosfor, kalium dan air yang digunakan tanaman bakau sebagai bahan penyusun komponen metabolit aktif. Total kalium pada daun bakau muda yang normal lebih banyak dibandingkan dengan bakau tua, sedangkan kandungan air dan nitrogen relatif sama (Trisnawati, Muryono dan

Desmawati, 2019). Feller (2017) menyebutkan bahwa sifat kimia daun bakau berkembang dan bervariasi seiring bertambah usia (Feller *et al.* 2017). Tingkat kadar CO₂ yang dinilai melalui 'Indeks stok karbon' di tempat diambilnya sampel bakau atau di sepanjang hutan pantai pesisir timur Surabaya tergolong tinggi, yang pada akhirnya dapat mempengaruhi proses maturasi bakau dan menyebabkan penurunan kandungan senyawa aktif yang terdapat pada batang, kulit batang, akar, dan daun bakau *R. Mucronata* (Trisnawati, Muryono dan Desmawati, 2019) Efektifitas antibakteri yang berasal dari herbal dan bahan sintetis sangat bergantung pada kemampuan untuk menembus membran bakteri. Beberapa senyawa antibakteri dari tanaman bekerja melalui interaksi dengan membran sehingga hambatan permeabilitas yang mencegah penetrasi ke membran atau target intraseluler dapat menyebabkan efektivitas antimikroba menurun (Khameneh *et al.*, 2019).

Perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi komposisi metabolit sekunder daun bakau. Pelarut etanol 96% dipilih karena bersifat universal sehingga mampu melarutkan sebagian besar metabolit sekunder dalam simplisia, memiliki toksisitas lebih rendah dibandingkan pelarut organik lainnya, stabil dan mudah menguap sehingga sesuai untuk proses ekstraksi (Thaib *et al.*, 2022). Penggunaan ekstrak etanol juga dinilai dapat menyebabkan penurunan kualitas metabolit di dalam daun bakau (Debari *et al.*, 2022). Metode ekstraksi dengan pelarut etanol 96% pada penelitian ini diduga berpotensi mengurangi jumlah kandungan metabolit sekunder ekstrak daun bakau. Sampel dibuat dengan metode ekstraksi sederhana tanpa mengisolasi metabolit aktif seperti alkaloid, tanin, flavonoid, dan triterpenoid dengan kadar tertentu sehingga berpengaruh terhadap kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri (Nur, Dewi & Kaliu, 2022).

Keterbatasan Penelitian yang menyebabkan tidak adanya zona hambat mungkin disebabkan oleh beberapa alasan diantaranya, pemilihan bahan baku pembuatan ekstrak tidak memisahkan daun bakau yang muda atau tua sehingga menyebabkan zat antibakteri yang terkandung di dalam bahan daun bakau mempengaruhi aktivitas antibakteri. Peneliti menduga senyawa aktif pada daun *Rhizophora mucronata* mengalami degradasi pada waktu pembuatan ekstrak yang menyebabkan penurunan potensi antimikroba turun atau menghilang. Namun,

peneliti belum memastikan di mana letak tahapan yang menyebabkan hal tersebut. Penggunaan pelarut etanol dalam pembuatan ekstrak daun bakau berperan penting dalam mempertahankan stabilitas metabolit sekunder. Selain etanol, pelarut seperti metanol, aseton, dan fraksi etil asetat dapat digunakan untuk meningkatkan aktivitas antibakteri karena kemampuan ekstraksinya yang lebih efektif terhadap senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid yang berperan dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri (Lee *et al.*, 2024). Penelitian ini masih terdapat keterbatasan dalam pembuatan ekstrak yang menggunakan daun bakau utuh, yang diambil dari tanaman bakau *Rhizophora mucronata* secara langsung dan dibuat dalam bentuk simplisia tanpa melalui uji fitokimia terlebih dahulu sehingga peneliti sulit untuk mengetahui senyawa antimikroba yang terkandung. Penelitian ini tidak memasukkan uji fitokimia karena tujuan utama penelitian adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak secara biologis dalam kaitan pengembangan kandidat antibakteri baru. Namun, dengan pertimbangan bahwa habitat bakau dapat mempengaruhi kandungan senyawa di dalamnya. Maka untuk meningkatkan validitas dan ketepatan interpretasi aktivitas antibakteri *Rhizophora mucronata*, maka akan lebih baik apabila penelitian berikutnya disertai dengan uji kandungan senyawa seperti uji fitokimia atau lainnya.

Ekstrak daun bakau *Rhizophora mucronata* yang telah dilakukan pengujian tidak menunjukkan hasil penghambatan yang signifikan karena penggunaan ekstrak kasar tanpa analisis fitokimia, sehingga penelitian berikutnya disarankan melakukan karakterisasi senyawa aktif untuk meningkatkan validitas dan ketepatan interpretasi aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian uji daya hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang diberi ekstrak etanol daun *Rhizophora mucronata* dalam berbagai macam konsentrasi menunjukkan tidak terdapat aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Alnisrina OD., 2021. Pengaruh aktivitas antimikroba ekstrak kulit batang bakau (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap *Shigella* sp. Digilib UNILA, pp. 28–30.
- Aviany HB, Pujiyanto DS., 2020. Analisis efektivitas probiotik di dalam produk kecantikan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Berkala Bioteknologi, 3, 2.
- Chelliah CK, Murugan M, Rajivgandhi G, Gnanasekaran C, Govindan R, Maruthupandy M, Quero F, Arulraj A, Viswanathan MR, Alharbi NS, Alshammary NH., 2023. Phytochemical derivatives and secondary metabolites rich *Rhizophora mucronata* as an active anti-oxidant and anti-bacterial agent against multi drug resistant bacteria. Journal of King Saud University – Science, 35, 8. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102912>
- Debari E, Karundeng B, Hanizar E, Nur D, Sari R., 2022a. Potensi ekstrak daun *Rhizophora mucronata* sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Jurnal Biosapphire.
- Debari E, Karundeng B, Hanizar E, Nur D, Sari R., 2022b. Potensi ekstrak daun *Rhizophora mucronata* sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Jurnal Biosapphire.
- Dekker JP, Frank KM., 2015. Salmonella, Shigella, and Yersinia. Clinics in Laboratory Medicine, 35, 2, 225–246. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.002>
- Feller IC, Ball MC, Ellis JI, Lovelock CE, Reef R 2017. Interactive effects of climate and nutrient enrichment on patterns of herbivory by different feeding guilds in mangrove forests. Global Ecology and Biogeography, 26, 11, 1326–1338. <https://doi.org/10.1111/geb.12644>
- Howlader SI, Ahmed MJ, Kabir ANMH, Uddin MG, Hossain MK 2013. Antibacterial, cytotoxic, analgesic and diuretic activities of *Rhizophora mucronata* Lam. bark. Vol. 4, pp. 229–232.
- Khalil IA, Troeger C, Blacker BF, Rao PC, Brown A, Atherly DE, Brewer TG, Engmann CM, Houghton ER, Kang G, Kotloff KL, Levine MM, Luby SP, MacLennan CA, Pan WK, Pavlinac PB, Platts-Mills JA, Qadri F, Riddle MS, Ryan ET, Shoultz DA, Steele AD, Walson JL, Sanders JW, Mokdad AH, Murray CJL, Hay SI, Reiner RC., 2018. Morbidity and mortality due to *Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea, the Global Burden of Disease Study 1990–2016. The Lancet Infectious Diseases, 18, 11, 1229–1240. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30475-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30475-4)

- Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly Bazzaz BS., 2019. Review on plant antimicrobials, a mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8, 118, 1–28.
- Lee JE, Jayakody JTM, Kim JI, Jeong JW, Choi KM, Kim TS, Seo C, Azimi I, Hyun JM, Ryu BM., 2024. The influence of solvent choice on the extraction of bioactive compounds from Asteraceae, a comparative review. *Foods*, 13, 19, 1–24.
- Nur RM, Dewi R, Kaliu S., 2022. Antibacterial activity of methanol extract *Rhizophora mucronata* leaves toward *Salmonella typhi*, leading the typhoid fever. *Pharmaciana*, 12, 3, 364. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v12i3.22475>
- Nuzhat S, Das R, Das S, Islam SB, Palit P, Haque MA, Chakraborty S, Khan SH, Ahmed D, Alam B, Ahmed T, Chisti MJ, Faruque ASG., 2022. Antimicrobial resistance in shigellosis, a surveillance study among urban and rural children over 20 years in Bangladesh. *PLoS ONE*, 17, 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277574>
- Pakbin B, Brück WM, Brück TB, Siemens Chair W., 2023. Molecular mechanisms of *Shigella* pathogenesis, recent advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 3, 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms>
- Pertiwi R, S SY, Wibowo RH, Notriawan D, Nasution RP, Azhar AW., 2024. Aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove (*Rhizophora mucronata*) pada bakteri *Helicobacter pylori* penyebab tukak lambung. *Bioscientist, Jurnal Ilmiah Biologi*, 12, 1, 202. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.9957>
- Rajeswari K, Rao TB, Sharma GVR, Krishna RM., 2017. Antimicrobial activities of extracts of some species of mangrove plants and a new compound isolated towards some selected strains. *Oriental Journal of Chemistry*, 33, 2, 1011–1016. <https://doi.org/10.13005/ojc/330256>
- Sabilu Y, Ilyas M, Swaidatul, Masluhiyah., 2021. Prevalensi dan determinan kejadian diare pada balita di daerah pesisir Kabupaten Buton Utara, the prevalence and determinants of diarrhea in toddlers in coastal area, North Buton Regency. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 7, 3, 420–426. <http://journal.ummgl.ac.id/index.php/pharmacy>
- Sabu KR, Sugathan S, Idhayadhulla A, Woldemariam M, Aklilu A, Biresaw G, Tsegaye B, Manilal A., 2022. Antibacterial, antifungal, and cytotoxic activity of *Excoecaria agallocha* leaf extract. *Journal of Experimental Pharmacology*, 14, 17–26. <https://doi.org/10.2147/JEP.S339383>
- Sandhya A, Sudarmin L, Kimia J, Matematika F, Ilmu D, Alam P., 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.
- Sardjiman, Rahardjoputro R, Santoso J, Ernawati, Widyaningrum NR., 2024. Efektivitas antibakteri kurkumin dan asam tanat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* in vitro. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 7, 1, 32–40. <http://jurnal.unw.ac.id/index.php/ijpnp>
- Setyawan AD, Ragavan P, Basyuni M, Sarno S., 2022. *Rhizophora mucronata* as source of foods and medicines, a review. *International Journal of Bonorowo Wetlands*, 9, 1, 42–55. <https://doi.org/10.13057/bonorowo/w090105>
- Tarman, Kustiariyah, Sri Purwaningsih, Anak Agung, Ayu Putu, and Puspita Negara., 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (Rhizophora Mucronata) Terhadap Bakteri Penyebab Diare. Antibacterial Activity of Rhizophora Mucronata Against Diarrhea Causing Bacteria*. 16(3). pp.249-258
- Thaib, Khairunnisa M., Herny, E. I. Simbala, and Antasionasti, Irma., 2022. *Acute Toxicity Test Of Combination Of Dayak Onion (Eleutherine Americana Merr.) And Pinang Yaki (Areca Vestitaria Giseke) Extracts Against Lung Organs Of Wistar Male White Rats (Rattus Norvegicus)*. 11 (4). pp.1700-1706.
- Trisnawati, I., Muryono, M. and Desmawati, I., 2019. The impact of herbivorous insect on leaves of mangrove species *Rhizophora stylosa* and its relation to leaf nutrient level. *Biodiversitas*, 20(5), pp.1409–1415. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200533>.
- Ummy Maisarah Rasyidah, 2019. Diare Sebagai Konsekuensi Buruknya Sanitasi Lingkungan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, [online] 1(1), pp.31–36. <https://doi.org/10.24123/jkkd.v1i1.19>.