

Analisis Fenilbutazon Dalam Jamu Pegal Linu Yang Beredar Di Daerah Cibubur, Jakarta Timur

M. Sholikha¹, & D. Anggraini¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional

Email: munawarohthus@gmail.com

ABSTRAK

Fenilbutazon merupakan bahan kimia obat yang sering ditambahkan pada jamu pegal linu. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah fenilbutazon masih ditambahkan ke dalam jamu tradisional sebagai bahan berkhasiat. Sampel penelitian adalah 5 jenis jamu pegal linu yang diperoleh dari toko obat yang berjualan di Pasar Jaya Cibubur, Pasar Jaya Kranggan dan toko obat di pinggir jalan di daerah Cibubur, Jakarta Timur. Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi fenilbutazon pada jamu pegal linu adalah metode Kromatografi Lapis Tipis dan untuk mengetahui kadar fenilbutazon dengan metode Spektrofotometri UV. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 3 dari 5 sampel positif mengandung fenilbutazon. Kadar fenilbutazon yang terkandung pada kode B (kapsul) yaitu 3,357 % (33,55 mg/1 gr), kode C (serbuk) yaitu 6,789 % (475,23 mg/7 gr), dan kode D (serbuk) yaitu 7,25 % (507,50 mg / 7 gr). Ketiga jenis jamu tersebut tidak diperbolehkan untuk beredar dan dikonsumsi karena melanggar Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No 246/Menkes/Per/V/1990 pasal 23 tentang persyaratan obat tradisional dan Permenkes Republik Indonesia No. 006 Tahun 2012 pasal 33 dan pasal 37 tentang industri dan usaha obat tradisional bahwa obat tradisional dilarang mengandung bahan kimia hasil isolasi atau sintetik yang berkhasiat obat.

Kata kunci: Fenilbutazon, jamu pegal linu, kromatografi

ABSTRACT

Phenylbutazone is a chemical substance that is often added to herbal medicine. This study was conducted to determine whether phenylbutazone is still added to the traditional herbal medicine as a nutritious ingredient. The sample of this research is 5 types of herbal medicine from medicine store selling in Jaya Cibubur Market, Jaya Kranggan Market and drug store by roadside in Cibubur area, East Jakarta. The method used to identify phenylbutazone in herbal medicine is the method of Thin Layer Chromatography and to know the level of phenylbutazone in herbal medicine by UV Spectrophotometric method. The results showed that 3 of the 5 samples of the positive contain phenylbutazone. Level of phenylbutazone contained in code B (capsule) that is 3,357% (33,55 mg/1 gr), code C (powder) that is 6,789% (475,23 mg/7 gr), and code D (powder) is 7.25% (507.50 mg/7 g). The three types of herbal medicine are not allowed to circulate and be consumed for violating the Regulation of the Minister of Health of the Republic of Indonesia No 246/Menkes/Per/V/1990 article 23 on the requirements of traditional medicine and Permenkes Republik Indonesia No 006 of 2012 chapter 33 and chapter 37 on the industry and traditional medicine business that traditional medicine is prohibited to contain chemicals from the isolation or synthetic drug efficacious.

Keyword: Fenilbutazon, herbal medicine, chromatography

PENDAHULUAN

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (KEMENKES, 2012). Menurut peraturan perundang-undangan yang berlaku, obat tradisional dilarang menggunakan bahan kimia hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat, narkotika atau psikotropika dan hewan atau tumbuhan yang dilindungi (BPOM, 2006). Seiring meningkatnya kebutuhan masyarakat, banyak produsen obat tradisional yang bermunculan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat dan banyak beberapa produsen obat tradisional yang menyalahgunakannya dengan menambahkan bahan kimia obat ke dalam obat tradisional untuk meningkatkan efek yang diinginkan.

Sampai saat ini, masih ada produsen obat yang menambahkan bahan kimia obat pada produknya. Terbukti dari tahun 2013 hingga 2014 Badan POM telah menarik 51 obat tradisional mengandung bahan kimia obat yang beredar di Indonesia (BPOM, 2014). Bahan-bahan kimia berbahaya yang digunakan meliputi metampiron, fenilbutazon, deksametason, allopurinol, CTM, sildenafil sitrat, tadalafil dan parasetamol. Obat-obat yang mengandung bahan kimia tersebut memiliki efek samping berbahaya, misalnya jamu yang mengandung fenilbutazon dapat menyebabkan peradangan lambung dan dalam jangka panjang akan merusak hati dan ginjal (BPOM, 2010).

Fenilbutazon merupakan turunan dari pirazol yang memiliki kerja analgetik, antipiretik dan antiinflamasi, karena efek samping yang sering terjadi maka indikasi untuk fenilbutazon sangat dibatasi. Senyawa ini hanya masih boleh diberikan pada serangan

pirai akut serta pada serangan akut sindrom Bechterew. Penggunaan fenilbutazon yang banyak akan mengakibatkan efek negatif yang berakibat fatal, seperti anemia aplastik, agranulositosis, dan pendarahan lambung (Mutschler, 1991).

Fenilbutazon memiliki kerja sebagai analgetik, antipiretika dan antiinflamasi. Penggunaan Fenilbutazon dibatasi dan sangat jarang digunakan karena memiliki banyak efek samping seperti mual, muntah, ruam kulit, retensi cairan dan elektrolit (edema), pendarahan lambung, nyeri lambung dengan pendarahan atau perforasi, reaksi hipersensitivitas, hepatitis, gagal ginjal, leukopenia dan anemia aplastik agranulositosis (Tourisma, 2011).

Salah satu metode analisis yang dapat digunakan untuk menganalisa jamu yang mengandung Fenilbutazon yaitu menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT sangat bermanfaat untuk analisis obat dan bahan lain dalam laboratorium karena hanya memerlukan peralatan sederhana, waktu cukup singkat (15-60 menit), dan jumlah zat yang di periksa cukup kecil (kira-kira 0,01 g senyawa murni atau 0,1 g simplisia) selain itu, KLT tidak memerlukan ruang yang besar dan teknik pengerjaannya juga sederhana (Harmita, 2015).

Berdasarkan berbagai uraian diatas, penulis tertarik untuk meneliti apakah fenilbutazon masih digunakan pada jamu tradisional yang biasa digunakan untuk pegal linu khususnya jamu yang beredar di daerah Cibubur, Jakarta Timur.

METODE

Fenilbutazon, metanol, aqua destilata, lempeng silika GF254 (merck), sampel jamu tradisional, sikloheksan, kloroform, asam asetat glacial, etil asetat, ammonia, N-heksan, NaOH 0,1 N.

Alat: timbangan analitik, lampu UV, sonikator, spektrofotometer UV-Vis (shimadzu 1601), bejana kromatografi, pipa kapiler, penangas air, pipet ukur, cawan uap, spatel, alumunium foil, kertas saring, labu ukur, beaker glass, erlenmeyer dan gelas ukur.

Pengumpulan Sampel

Sebanyak 5 sampel jamu tradisional dikumpulkan dalam bentuk serbuk dan kapsul yang beredar di daerah Cibubur, Jakarta Timur yang diberi label A, B, C, D dan E.

Analisis Kualitatif

Pembuatan larutan standar KLT

Fenilbutazon ditimbang sebanyak ± 50 mg dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian dilarutkan dengan metanol hingga 50,0 ml.

Pembuatan larutan uji

Sampel jamu di timbang ± 400 mg kemudian disonikasi dengan 10 ml metanol, disaring kemudian diuapkan.

Pengerjaan KLT

Larutan uji dan baku pembanding fenilbutazon dieluasi dengan menggunakan fase diam silika GF254 dengan fase gerak etil asetat : metanol : ammonia (85:10:5), jarak rambat 8 cm, volume penotolan 10 μ L dan penampak bercak sinar UV 254 nm. Data KLT diperoleh dengan menghitung Rf yang didapat (BPOM, 2005).

Analisis Kuantitatif

Pembuatan larutan uji

Sampel yang positif ditimbang sebanyak ± 400 mg kemudian ditambahkan 10 ml metanol lalu disonikasi selama 30 menit, kemudian disaring. Sampel diencerkan 50 kalinya.

Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum larutan baku fenilbutazon ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan baku fenilbutazon menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan larutan baku seri

Larutan baku seri dibuat dari larutan baku induk 1000 ppm yang diencerkan menggunakan Natrium Hidroksida 0,1 N hingga konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Larutan tersebut dihitung absorbansinya pada panjang gelombang maksimum lalu dibuat kurva bakunya (DEPKES, 1979).

Penetapan kadar fenilbutazon dalam sampel

Larutan uji diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat, lalu kadar dalam sampel dihitung berdasarkan persamaan garis lurus yaitu $Y = bX + a$, yang mana Y adalah absorbansi, X konsentrasi, a adalah intersep, dan b adalah kemiringan garis (slope).

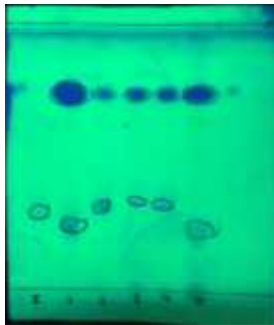
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kualitatif

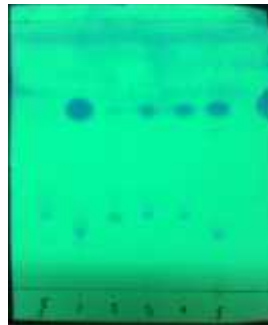
Analisis kualitatif fenilbutazon pada sediaan jamu merupakan uji identifikasi fenilbutazon yang dimungkinkan terdapat dalam sediaan jamu tradisional, dapat dilakukan dengan metode KLT. Analisis dilakukan pada 5 jenis jamu tradisional yaitu jamu pegal linu dan asam urat yang beredar di daerah Cibubur. Sampel dapat memisah berdasarkan komponen-komponen senyawa dengan memilih fase gerak yang sesuai. Pemisahan agar maksimal, Rf solute harus terletak antara 0,2-0,8 (Rohman, 2007). Alasan pemilihan metode KLT adalah pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah dibandingkan kromatografi kolom, peralatan yang digunakan lebih sederhana, banyak digunakan untuk tujuan analisis dan KLT lebih fleksibel dalam pemilihan fase gerak.

Table 1. Hasil Perhitungan Nilai Rf

No	Sampel	Nilai Rf		Hasil
		Pengulangan 1	Pengulangan 2	
1	Fenilbutazon	0,31	0,3	Fenilbutazon (+)
2	A	0,26 : 0,8	0,25 : 0,7	Fenilbutazon (-)
3	B	0,32 : 0,8	0,3 : 0,7	Fenilbutazon (+)
4	C	0,34 : 0,8	0,31 : 0,7	Fenilbutazon (+)
5	D	0,32 : 0,8	0,3 : 0,7	Fenilbutazon (+)
6	E	0,25 : 0,8	0,25 : 0,7	Fenilbutazon (-)



Ulangan 1



Ulangan 2

Gambar 1. Hasil plat kromatografi lapis tipis

Berdasarkan hasil analisis kualitatif secara kromatografi lapis tipis yang dilakukan terhadap 5 jenis jamu, 3 diantaranya positif mengandung fenilbutazon dengan kode sampel jamu B, C dan D. Ketiga jenis jamu tersebut mempunyai harga Rf yang hampir sama dengan Rf baku pembanding fenilbutazon, yaitu 0,32; 0,34 dan 0,32 pada pengulangan 1, dimana Rf fenilbutazon yaitu 0,31. Pada pengulangan 2 sampel B dan D memiliki Rf yang sama dengan baku pembanding fenilbutazon yaitu 0,3, sedangkan C memiliki nilai Rf yang hampir sama dengan baku pembanding fenilbutazon, yaitu 0,31.

Analisis Kuantitatif

5 jamu tradisional yang dianalisis secara kromatografi lapis tipis 3 diantaranya positif mengandung fenilbutazon sehingga penelitian dilanjutkan pada analisis kuantitatif secara Spektrofotometri UV.

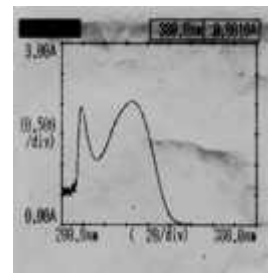
Penentuan panjang gelombang maksimum

Tabel 2. Hasil Analisis Kuantitatif Fenilbutazon secara Spektrofotometri UV

Kode Jamu	Bentuk	Kadar Rata-Rata (%)	Kadar Tiap Sekali Minum (Mg)
B	Kapsul	3,357	33,55
C	Serbuk	6,789	475,23
D	Serbuk	7,25	507,50

Dari tabel 2 menunjukkan kadar rata-rata dalam dari sampel B adalah 3,357 % (33,55 mg/1 gr), C adalah 6,785 % (474,77 mg / 7 gr) dan sampel D adalah 7,245 % (507,50 mg / 7 gr). Kadar fenilbutazon tertinggi terdapat pada jamu kode D sebesar 7,245 %, sedangkan kadar fenilbutazon terendah terdapat pada jamu kode B yaitu sebesar 3,357 %.

Menurut Farmakope Indonesia III, dosis maksimum yang ditentukan untuk fenilbutazon dalam sekali minum yaitu 200 mg, hal ini menandakan bahwa untuk sampel C dan D telah melebihi dosis maksimum yang ditentukan (DEPKES, 1979). Jamu tersebut sangat berbahaya untuk dikonsumsi mengingat jamu adalah bahan alam yang dikonsumsi secara rutin tanpa pengawasan dari tenaga medis, jika di dalam jamu terdapat bahan kimia obat dan dikonsumsi secara rutin dapat merusak organ tubuh manusia, serta efek samping dari penggunaan fenilbutazon yang berlebihan yaitu akan mengakibatkan efek negatif yang berakibat fatal seperti anemia aplastik, agranulositosis, dan pendarahan lambung.

**Gambar 2.** Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum larutan baku standar fenilbutazon yaitu 265,2 nm (Gambar 1). Panjang gelombang ini tidak berbeda jauh dengan yang tercantum pada Farmakope Indonesia IV yaitu 264 nm berbeda tidak lebih dari 2,0 %.

Berdasarkan hasil perhitungan persamaan regresi kurva diperoleh persamaan garis $y = 0,062974x + 0,12422$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,997. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan. Hal ini berarti dengan meningkatnya konsentrasi, maka serapan juga akan meningkat. Konsentrasi fenilbutazon dalam sampel dihitung dengan memasukkan data absorbansi kedalam nilai "y" dari persamaan regresi linier. Hasil analisis kuantitatif fenilbutazon pada sampel secara Spektrofotometri UV dapat dilihat pada tabel berikut:

Menurut Farmakope Indonesia III, dosis maksimum yang ditentukan untuk fenilbutazon dalam sekali minum yaitu 200 mg, hal ini menandakan bahwa untuk sampel C dan D telah melebihi dosis maksimum yang ditentukan.⁽⁷⁾ Jamu tersebut sangat berbahaya untuk dikonsumsi mengingat jamu adalah bahan alam yang dikonsumsi secara rutin tanpa pengawasan dari tenaga medis, jika di dalam jamu terdapat bahan kimia

obat dan dikonsumsi secara rutin dapat merusak organ tubuh manusia, serta efek samping dari penggunaan fenilbutazon yang berlebihan yaitu akan mengakibatkan efek negatif yang berakibat fatal, seperti anemia aplastik, agranulosis, dan pendarahan lambung (Mutschler, 1991).

Sampel B, C dan D dinyatakan melanggar Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No 246/Menkes/Per/V/1990 pasal 23 tentang persyaratan obat tradisional dan Permenkes Republik Indonesia No. 006 Tahun 2012 pasal 33 dan pasal 37 tentang industri dan usaha obat tradisional bahwa obat tradisional dilarang mengandung bahan kimia hasil isolasi atau sintetik yang berkhasiat obat (KEMENKES, 1990&2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis fenilbutazon pada 5 sampel jamu yang beredar di daerah Cibubur, Jakarta Timur, maka dapat disimpulkan:

1. Sebanyak 3 dari 5 sampel jamu positif mengandung fenilbutazon.
2. Kadar fenilbutazon yang terkandung pada kode B dalam bentuk kapsul yaitu 3,357 % (33,55 mg / 1 gr), untuk sampel jamu kode C dalam bentuk serbuk yaitu 6,789 % (474,77 mg / 7 gr), dan sampel jamu kode D dalam bentuk serbuk yaitu 7,25 % (507,50 mg / 7 gr).

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. KH.00.01.1.5116 Tahun 2006 Tentang Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat. Jakarta : BPOM; 2006.
- BPOM. Lampiran Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Public Warning No. HM 04.01.1.43.11.14.74.7054. Tentang Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat. Jakarta : BPOM; 2014.
- BPOM. Public Warning/Peringatan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia HM.03.03.1.43.08.10.8013 Tahun 2010, Tentang Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat. Jakarta : BPOM; 2010.
- Mutschler, E. Dinamika Obat. Diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto dan Anna Setiadi Ranti. Bandung : ITB; 1991. Hal. 201.
- BPOM. Penuntun Metode Analisis. Jakarta : BPOM; 2005.
- Depkes RI. Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1979.
- Depkes RI. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995. Hal. 665
- Harmita, 2015. Analisis Fisikokimia Kromatografi volume 2. EGC. Jakarta
- KEMENKES. Permenkes No. 246/Menkes/SK/VII/1994 tentang Peryaratan Obat Tradisional. Jakarta : Kemenkes RI; 1990.
- KEMENKES. Peraturan Kementrian Kesehatan RI No 006 Tahun 2012 Tentang Industri dan Usaha Obat Tradisional Bab IV, Pasal 33. Jakarta : Kementrian Kesehatan; 2012.
- KEMENKES. Peraturan Kementrian Kesehatan RI No 007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional BAB I, Pasal 1. Jakarta : Kementrian Kesehatan; 2012.
- Rohman, A. Kimia Farmasi Analis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007. Hal. 260-260, 353-367.
- Tourisma, 2011. Identifikasi dan Penentuan Kadar Parasetamol dan Fenilbutazon Dalam Jamu Pegalinu yang Beredar di Surabaya Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. Fakultas Farmasi-Unika Widya Mandala. Surabaya.

Potensi Tumbuhan Mangrove Sebagai Obat Alami Antimikroba Patogen

Mardiansyah¹, & S. Bahri²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

²Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta

Korespondensi: ymar.assuyuti@uinjkt.ac.id

ABSTRAK

Tumbuhan mangrove memiliki fungsi yang diantaranya sebagai sumber bahan antibakteri patogen. Daun mangrove diambil dari kawasan ekosistem mangrove, Muara Gembong, Kabupaten Bekasi, Jawa Barat. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui daya hambat mikroba patogen dari ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata* dan *Avicennia alba* dengan larutan methanol dan etil asetat. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa daun mangrove tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella thypimurium*). Ekstraksi daun mangrove menggunakan konsentrasi larutan rendah tidak dapat menghasilkan daya hambat bakteri patogen.

Kata Kunci: mangrove, antibakteri, gram negatif, gram positif

ABSTRACT

Mangroves provide functions such as source of pathogens antibacterial. Mangrove leaves collected from the mangrove ecosystem, Muara Gembong, Bekasi, West Java. The purpose of this study was to determine the inhibition of microbial pathogens on the leaf extract mangrove *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata* and *Avicennia alba* with a solution of methanol and ethyl acetate. Results from the study showed the mangrove leaf does not have inhibitory against gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) and gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella thypimurium*). Extraction of mangrove leaves using a low concentration of the solution can not produce inhibition of pathogenic bacteria.

Keywords: Mamgrove, Antibacterial, Concentration

PENDAHULUAN

Ekosistem pesisir memiliki tumbuhan tingkat tinggi seperti mangrove dan lamun. Mangrove didefinisikan sebagai pohon-pohon kayu dan semak belukar yang berkembang di habitat mangrove (Hogarth, 2007) yang berada di pantai tropis dan subtropis yang didominasi oleh beberapa jenis pohon yang mampu tumbuh dan berkembang pada daerah yang dibatasi temperatur dan memiliki variasi pasang-surut, gelombang, salinitas dan masukkan dari sungai (Alongi, 2009). Ekosistem mangrove berfungsi sebagai antroposentris, biogeokimia dan ekologi yang saling mempengaruhi satu sama lain (Field *et al.*, 1998).

Fungsi mangrove berdasarkan antroposentris, diantaranya digunakan sebagai bahan pakan ternak, cindramata, bahan bangunan, bahan kayu bakar, sumber makanan manusia (Bandaranayake, 1998; Noor *dkk*, 2006) dan bahan obat-obatan tradisional pada zaman dahulu (Bandaranayake, 1998). Mangrove yang digunakan sebagai bahan obat-obatan berasal dari buah, daun, kulit batang dan akar mangrove (Noor *dkk*, 2006). Indonesia adalah negara yang memiliki distribusi mangrove terbesar di dunia (Polidoro *et al.*, 2010), akan tetapi terdapat jenis mangrove yang belum diketahui penggunaannya dalam hal sumber obat alami (Noor *dkk*, 2006).

Tumbuhan mangrove mayor, minor dan asosiasi

telah digunakan sebagai bahan medis di wilayah Asia, Arab dan Amerika Latin. Negara Arab telah mengembangkan dari berbagai jenis mangrove yang berbeda untuk bahan medis, orang yang mengembangkannya adalah Ibnu Sina atau Avicennia (Bandaranayake, 1998). Mangrove digunakan sebagai bahan medis karena mengandung alkaloid, fenol flavonoid dan saponin (Bandaranayake, 2002) yang dihasilkan dari metabolit sekunder atau yang berasal dari mikroorganisme simbiosis (endofit) mangrove (Maria *et al.*, 2005; Joel dan Bhimba, 2013; Ramasubburayan *et al.*, 2015). Mangrove (buah, daun, batang, kulit batang dan akar) secara medis digunakan untuk mengobati asma, diabetes, rematik, hepatitis, penyakit kulit, penangkal racun ular, leukemia, kanker, penyakit mata, tumor, kolera, malaria, disentri, demam, analgesik, antiseptik dan sebagai antibiotik (Bandaranayake, 1998).

Penelitian antimikroba dari ekstrak mangrove telah banyak dilakukan, akan tetapi data penelitian tentang antimikroba mangrove yang berasal dari kawasan mangrove Muara Gembong belum dilaporkan, maka tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui daya hambat mikroba patogen dari ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata* dan *Avicennia alba* dengan larutan metanol dan etil asetat.

METODE

Penelitian dan pengambilan contoh mangrove dilakukan di Muara Gembong - Bekasi. Identifikasi, ekstraksi dan uji antimikroba patogen dilakukan di Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata* dan *Avicennia alba*. Bakteri uji yang digunakan meliputi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Salmonella thypimurium* ATCC 14028 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UI dan PT. DIPA PUSPA. Larutan yang digunakan untuk maserasi adalah methanol dan etil asetat dengan konsentrasi 70%, dan control uji hambat menggunakan antibiotik kloramfenikol.

Koleksi contoh mangrove

Contoh mangrove *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata* dan *Avicennia alba* diambil secara acak dan pada waktu surut terendah. Contoh mangrove yang telah diambil dimasukkan kedalam plastik contoh (Ziploc® plastic bags) kemudian dimasukkan kedalam *cool box* selanjutnya dibawa ke laboratorium (Cseke *et al.*, 2006). Daun mangrove yang digunakan untuk uji antimikroba adalah daun yang matang (*mature leaves*). Mangrove diidentifikasi menggunakan petunjuk buku Noor *dkk* (2006).

Ekstraksi Mangrove

Contoh daun mangrove dengan akuades untuk menghilangkan kotoran, selanjutnya di cuci kembali dengan akuades mengalir. Contoh yang telah di cuci, dikeringkan dengan cara dijemur. Kemudian contoh mangrove di potong-potong menjadi bagian kecil dan telah siap diekstraksi. Contoh mangrove ditimbang masing-masing seberat 50 gr kemudian direndam dengan pelarut methanol dan etil asetat menggunakan botol kaca selama 48 jam (Cseke *et al.*, 2006). Setelah 24 jam, masing-masing larutan mangrove disaring dengan kertas *Whattman*.

Larutan contoh mangrove hasil filtrasi kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* yang diaplikasikan pada suhu 50 °C, sehingga diperoleh ekstrak kasar mangrove dalam bentuk pasta. Pasta ekstrak kasar mangrove kemudian ditimbang agar dapat diketahui prosentase rendemen yang diperoleh. Setelah diperoleh ekstrak mangrove, ekstrak kemudian disimpan di lemari es, sampai digunakan untuk uji antibakteri.

Identifikasi Bakteri Uji

Identifikasi bakteri uji secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram. Bakteri uji standar pada agar miring diambil sebanyak satu ose diletakkan di atas kaca objek yang telah ditetesi dengan NaCl fisiologis. Sebarkan bakteri pada kaca objek dengan menggunakan ose bulat kemudian dilewatkan di atas api (difiksasi).

Larutan gentian violet ditetaskan diatas preparat yang telah disiapkan kemudian dibiarkan selama 1

menit. Preparat dicuci dengan akuades. Kemudian cairan lugol ditetaskan pada preparat dan dibiarkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan akuades, Preparat ditetaskan dengan alkohol 96%, digoyang-goyangkan selama 30 detik. Preparat dicuci dengan akuades. Terakhir, preparat ditetaskan dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan akuades dan dikeringkan dengan menggunakan tissue. Preparat ditetesi dengan minyak imersi dan diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 1000x.

Uji Aktivitas Antimikroba

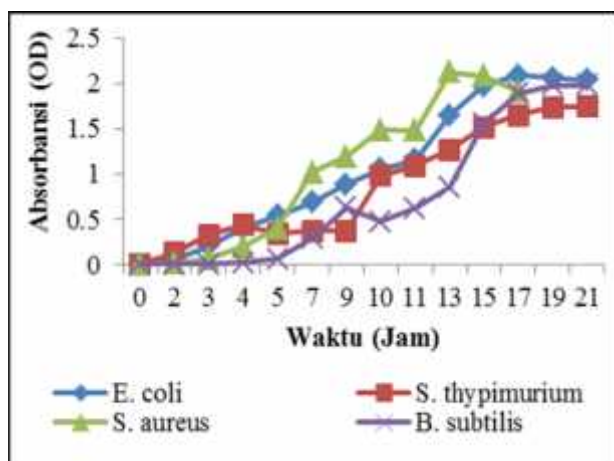
Inokulum bakteri uji ($OD_{600nm} \sim 0.1$) setara 10^7 CFU/mL diambil sebanyak 1 mL, kemudian dituang pada permukaan cawan petri. Kemudian pada cawan dituangkan media MHA yang masih cair dengan suhu sekitar 45°C – 50°C. Campur antara media dengan suspensi bakteri uji dengan cara cawan dimiringkan dan diputar. Tunggu hingga media memadat.

Masing-masing ekstrak mangrove berbagai konsentrasi diserapkan ke cakram steril sebanyak 20 µl. Kontrol positif yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri yaitu kloramfenikol. Cakram lalu diletakkan pada permukaan media uji. Kontrol negatif yaitu media steril *Nutrient Broth*. Sebanyak 20 µl larutan kontrol negatif diserapkan ke cakram steril. Cakram isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif yang sudah kering diletakkan pada permukaan media uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C, selama 24 jam. Amati zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella thypimurium*). Tujuan pembuatan kurva pertumbuhan ini adalah untuk mengetahui fase logaritmik dari masing-masing bakteri uji. Fase logaritmik merupakan fase yang cocok untuk pengujian antibakteri, karena pada fase ini mikroorganisme tumbuh dan membelah secara konstan. Kurva pertumbuhan bakteri uji tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Berdasarkan hasil kurva yang didapatkan, diketahui bahwa bakteri Gram negatif *Escherichia coli* mengalami fase logaritmik pada jam ke-4 sampai jam ke-15. Untuk melakukan uji aktivitas antibakteri, maka *E. coli* ditumbuhkan sampai jam ke-4. Sedangkan untuk bakteri *Salmonella thypimurium* mengalami fase logaritmik pada jam ke-10 sampai jam ke-15. Untuk melakukan uji aktivitas antibakteri, maka *S. thypimurium* ditumbuhkan sampai jam ke-10.

Untuk bakteri Gram positif, yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* mengalami fase logaritmik pada jam ke-3 sampai jam ke-9. Untuk melakukan uji aktivitas antibakteri, maka *S. aureus* ditumbuhkan sampai jam ke-3. Sedangkan untuk bakteri *Bacillus subtilis* mengalami fase logaritmik pada jam ke-13 sampai jam ke-15. Untuk melakukan uji aktivitas antibakteri, maka *Bacillus subtilis* ditumbuhkan sampai jam ke-13. Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan hingga nilai OD_{600nm} (Optical Density) mencapai 0.08 – 0.1 atau setara dengan 10⁷ CFU/mL (Cappucino & Sherman, 2011).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak mangrove *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata* dan *Avicennia alba* berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella thypimurium*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengujian aktivitas antibakteri digunakan ekstrak daun mangrove yang telah dibuat berbagai konsentrasi (12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm). Pada pengujian, ekstrak mangrove ini diserapkan pada kertas cakram steril sebanyak 20 µL. Kontrol positif yang

Tabel 1. Zona Hambat Ekstrak Etil asetat daun mangrove (*R. mucronata*) terhadap Bakteri Uji

Uji	Rata-rata diameter zona hambat (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
12, 5 ppm	0	0	0	0
25 ppm	0	0	0	0
50 ppm	0	0	0	0
100 ppm	0	0	0	0
Kloramfenikol	9.5	16.1	16.5	9.4
Kontrol negatif	-	-	-	-

digunakan adalah antibiotik Kloramfenikol 30 µg, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah media NB steril. Kertas cakram yang telah diserapkan, lalu dibiarkan kering selama kurang lebih 30 menit. Kertas cakram yang telah kering lalu diletakkan diatas media agar yang sudah berisi bakteri uji, lalu diinkubasi pada suhu 35°C.

Berdasarkan hasil uji zona hambat bakteri *E. coli*, *S. thypimurium*, *B. subtilis*, dan *S. aureus* terhadap daun mangrove *R. mucronata* yang telah di ekstrak dengan etil asetat (Tabel 1) dan metanol (Tabel 2) dengan konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm menunjukkan tidak ada zona hambat (0 mm) jika dibandingkan dengan kloramfenikol. Hal ini diduga karena kandungan fitokimia dari daun mangrove tidak menunjukkan daya hambat atau tidak keluar pada saat ekstraksi.

Hasil yang berbeda ditujukan dari penelitian sebelumnya, bahwa ekstrak kulit batang *R. mucronata* dapat menghambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Ravikumar *et al.*, 2010). Selain itu, bakteri *S. aureus* resisten metisilin (MRSA) dapat dihambat dari ekstrak daun *Sonneratia caseolaris*, *Acanthus ilicifolius*, *Rhizophora mucronata* and *Excoecaria agallocha* (Prihanto *et al.*, 2012).

Daun mangrove *R. apiculata* dengan ekstrak methanol dan etil asetat dengan konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm menunjukkan tidak ada zona hambat (0 mm) jika dibandingkan dengan kloramfenikol (Tabel 3 dan 4). Hal ini diduga karena kandungan fitokimia dari daun mangrove *R. apiculata* tidak menunjukkan daya hambat atau tidak keluar pada saat ekstrak. Hasil yang berbeda dari penelitian sebelumnya (Seepana *et al.*, 2016) bahwa *R. apiculata* dapat menghambat bakteri dan fungi.

Berdasarkan hasil uji zona hambat bakteri *E. coli*, *S. thypimurium*, *B. subtilis*, dan *S. aureus* terhadap daun mangrove *Avicennia alba* yang telah di ekstrak dengan metanol (Tabel 5) dengan konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm menunjukkan tidak ada zona hambat (0 mm) jika dibandingkan dengan kloramfenikol. Hal ini diduga karena kandungan fitokimia dari daun mangrove tidak menunjukkan daya hambat atau tidak keluar pada saat ekstrak. Hasil yang berbeda ditujukan penelitian sebelumnya, bahwa *A. alba* dapat menghambat bakteri *S. aureus* (Vadlapudi, 2012) dan bakteri patogen di oral (Vadlapudi dan Naidu, 2009).

Tabel 2. Zona hambat ekstrak metanol daun mangrove (*R. mucronata*) terhadap Bakteri Uji

Rata-rata diameter zona hambat (mm)				
Uji	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
12,5 ppm	0	0	0	0
25 ppm	0	0	0	0
50 ppm	0	0	0	0
100 ppm	0	0	0	0
Kloramfenikol	9.5	16.1	16.5	9.4
Kontrol negatif	-	-	-	-

Tabel 3. Zona Hambat Ekstrak metanol daun mangrove (*R. apiculata*) terhadap Bakteri Uji

Rata-rata diameter zona hambat (mm)				
Uji	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
12, 5 ppm	0	0	0	0
25 ppm	0	0	0	0
50 ppm	0	0	0	0
100 ppm	0	0	0	0
Kloramfenikol	9.5	16.1	16.5	9.4
Kontrol negatif	-	-	-	-

Tabel 4. Zona Hambat Ekstrak Etil asetat daun mangrove (*R. apiculata*) terhadap Bakteri Uji

Rata-rata diameter zona hambat (mm)				
Uji	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
12, 5 ppm	0	0	0	0
25 ppm	0	0	0	0
50 ppm	0	0	0	0
100 ppm	0	0	0	0
Kloramfenikol	9.5	16.1	16.5	9.4
Kontrol negatif	-	-	-	-

Tabel 5. Zona hambat ekstrak metanol daun mangrove (*Avicenia alba*) terhadap bakteri uji

Rata-rata diameter zona hambat (mm)				
Uji	<i>E. coli</i>	<i>S. thypimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
12, 5 ppm	0	0	0	0
25 ppm	0	0	0	0
50 ppm	0	0	0	0
100 ppm	0	0	0	0
Kloramfenikol	9.5	16.1	16.5	9.4
Kontrol negatif	-	-	-	-

Hasil yang berbeda dari penelitian sebelumnya karena menggunakan metode yang berbeda. Penelitian Ravikumar *et al.* (2010) menggunakan ekstrak etanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Larutan metanol untuk ekstrak daun mangrove menghasilkan konsentrasi daya hambat lebih tinggi dibandingkan dengan klorofom (Vadlapudi dan Naidu, 2009; Vadlapudi, 2012), heksan, etanol dan air (Seepana *et al.*, 2016). Selain itu, penggunaan larutan etanol sebagai bahan ekstraksi dapat menghasilkan konsentrasi daya hambat bakteri patogen (Abeyasinghe, 2012). Konsentrasi daya hambat yang dihasilkan oleh tumbuhan selain dipengaruhi larutan, penggunaan anatomi tumbuhan seperti daun tua, pucuk dan kulit batang dapat mempengaruhi uji daya hambat antibakteri (Abeyasinghe, 2012).

KESIMPULAN

Uji antibakteri daun mangrove menggunakan etanol dan etil asetat dengan konsentrasi rendah tidak dapat menghasilkan daya hambat bakteri patogen. Sehingga, bakteri gram negatif dan positif tidak dapat dihambat oleh daun mangrove.

DAFTAR PUSTAKA

- Alongi DM. 2009. *The Energetics of Mangrove Forests*. Springer Science + Business Media B.V. xi+213 pp.
- Abeyasinghe PD. 2012. Antibacterial activity of aqueous and ethanol extracts of mangrove species collected from Southern Sri Lanka. *Asian*

- Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. 2:79-83.
- Bandaranayake WM. 1998. Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangroves and Salt Marshes*. 2:133-148.
- Bandaranayake WM. 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wetlands Ecology and Management*. 10:421-452.
- Cappuccino JG, N Sherman. 2011. Microbiology: A Laboratory Manual. 11th Edition. USA.
- Cseke LJ, A Kirakosyan, PB Kaufman, SL Warber, JA Duke, HL Brielmann. 2006. Natural Products from Plants. Second Edition. Taylor & Francis Group, LLC. USA.
- Field CB, JG Osborn, LL Hoffman, JF Polsenberg, DD Ackerly, JA Berry, O Bjorkman, A Held, PA Matson, HA Mooney. 1998. Mangrove biodiversity and ecosystem function. *Glob Ecol and Biogeograp Lett*. 7:3-14.
- Joel EL, BV Bhimba. 2013. Evaluation of secondary metabolites from mangrove associated fungi *Meyerozyma guilliermondii*. *Alexandria Journal of Medicine*. 49:189-194.
- Maria GL, KR Sridhar, NS Raviraja. 2005. Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural Technology*. 1: 67-80.
- Noor YR, M Khazali, INN Suryadiputra. 2006. Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia. HKA/WI-IP. Bogor. vii+143 hlm.
- Polidoro BA, KE Carpenter, L Collins, NC Duke, AM Ellison, JC Ellison, EJ Farnsworth, ES Fernando, K Kathiresan, NE Koedam, *et al*. 2010. The Loss of Species: Mangrove Extinction Risk and Geographic Areas of Global Concern. *PLoS ONE*. 5:1-10.
- Prihanto AA, M Firdaus, R Nurdiani. 2012. Anti-Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) of Methanol Extract of Mangrove Plants Leaf: Preliminary Report. *Drug Invention Today*. 4:439-440.
- Ramasubburayan R, S Sumathi, DM Bercy, G Immanuel, A Palavesam. 2015. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of mangrove associated bacterium *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* RG. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Inpress.
- Ravikumar S, M Gnanadesigan, P Suganthi, A Ramalakshmi. 2010. Antibacterial potential of chosen mangrove plants against isolated urinary tract infectious bacterial pathogens. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2:94-99.
- Seepana R, K Perumal, NM Kada, R Chatragadda, M Raju, V Annamalai. 2016. Evaluation of antimicrobial properties from the mangrove *Rhizophora apiculata* and *Bruguiera gymnorrhiza* of Burmanallah coast, South Andaman, India. *Journal of Coastal Life Medicine*. 4(6): 475-478.
- Vadlapudi V. 2012. In vitro antimicrobial activity of plant extracts of *Avicennia alba* against some important pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. S408-S411.
- Vadlapudi V, KC Naidu. 2009. Bioactivity of Marine Mangrove Plant *Avicennia alba* on Selected Plant and Oral Pathogens. *International Journal of ChemTech Research*. 1(4):1213-1216.