

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF
DARI EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN NIPAH (*Nypa fruticans* Wurmb.)
ASAL PESISIR SUNGAI KAKAP KALIMANTAN BARAT**

Yulianti Lestari^{1*}, Puji Ardiningsih¹, Nurlina¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura

Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*email: tharielestari21@gmail.com

ABSTRAK

Secara empiris Nipah (Nypa fruticans Wurmb.) telah digunakan sebagai obat sakit gigi, sariawan dan diare. Aktivitas farmakologi Nipah tersebut berkaitan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder Nipah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi daun Nipah, serta aktivitas antibakteri Escherichia coli dan Bacillus cereus. Kandungan metabolit sekunder daun Nipah diketahui dari uji fitokimia. Ekstrak dan fraksi metanol, etil asetat dan n-heksana menunjukkan aktivitas antibakteri pada bakteri E. coli dan B. cereus dengan metode difusi sumuran (Well). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Nipah mengandung senyawa golongan polifenol, flavonoid, triterpenoid/ steroid, saponin dan alkaloid; fraksi metanol mengandung polifenol, flavonoid, saponin dan alkaloid; fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana mengandung triterpenoid/ steroid. Aktivitas antibakteri E. coli oleh fraksi etil asetat ditunjukkan dari diameter zona hambat (dalam satuan mm) berdasarkan variasi konsentrasi etil asetat yang digunakan adalah sebagai berikut 9,387 (1000 ppm); 8,275 (500 ppm); 8,487 (250 ppm); 6,662 (125 ppm); 7,462 mm (62,5 ppm); dari fraksi n-heksana sebesar 9,012 (1000 ppm); 8,825 (500 ppm); 8,512 (250 ppm). Diameter zona hambat yang menunjukkan aktivitas antibakteri B. cereus oleh variasi konsentrasi fraksi etil asetat sebesar 9,512 (1000 ppm); 8,075 (500 ppm); 7,875 (250 ppm); dari fraksi n-heksana sebesar 11,250 (1000 ppm); 10,650 (500 ppm); 9,487 (250 ppm); 8,625 (125 ppm). Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa fraksi etil asetat dan n-heksana daun Nipah dengan konsentrasi 1000 ppm dapat menghambat bakteri B. cereus.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, metabolit sekunder, *Nypa fruticans* Wurmb, *E. coli*, *B. cereus*

PENDAHULUAN

Nipah (*N. fruticans* Wurmb.) merupakan tumbuhan tropis yang termasuk dalam suku *Arecaceae*. Nipah tumbuh di sepanjang sungai yang terpengaruh pasang surut air laut pada daerah dengan suhu minimum 20°C dan maksimum 32-35°C. Tanaman Nipah dikelompokkan pula ke dalam tanaman hutan mangrove (Subiandono, dkk, 2011). Jenis ini tumbuh rapat berkelompok, seringkali membentuk komunitas murni yang luas di daerah rawa-rawa atau di sepanjang sungai dekat muara hingga sungai dengan air payau, tetapi di beberapa daerah tumbuh bercampur dengan pohon bakau lain (Kitamura dkk, 1997). Di Kalimantan Barat hampir setiap pinggir sungai di wilayah pesisir ditumbuhi pohon Nipah yang sangat subur dan rapat.

Tulang anak daun Nipah telah dimanfaatkan secara tradisional dan turun-temurun oleh masyarakat pesisir Sungai Kakap sebagai obat sakit gigi dan daun mudanya dimanfaatkan sebagai obat sariawan. Menurut Irmayeni (2010), tanaman Nipah telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti obat sakit perut, diabetes dan obat penurun panas. Penelitian yang dilakukan oleh Bakshi dan Chaudhuri (2014) menunjukkan bahwa fraksi metanol, etil asetat, dan aseton daun Nipah menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*.

Bakteri *E. coli* dan *B. cereus* sering terdapat pada makanan. Bakteri tersebut dapat mengkontaminasi makanan sehingga menyebabkan diare atau sakit perut apabila makanan tersebut dikonsumsi oleh manusia (Irianto, 2014).

Upaya untuk mencegah dan mengobati diare saat ini adalah dengan cara pemberian obat. Pemberian obat secara terus-menerus dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap obat atau antibakteri (Utami, 2012). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai penelusuran senyawa aktif dari bahan alam dan yang lebih efektif sebagai antibakteri penyebab diare.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian antara lain: autoklaf, blender, botol vial, botol coklat, corong pisah, inkubator, jangka sorong, kawat ose, *laminary air flow*, mikro pipet, neraca analitik, oven, penangas air, penggaris, *rotary evaporator*, seperangkat alat gelas, dan *vortex*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian antara lain: daun Nipah (*N. fruticans* Wurmb.), isolat murni bakteri *E. coli* dan *B. cereus*, akuades (H_2O), alkohol 70% , aluminium foil, asam klorida (HCl), asam sulfat (H_2SO_4), Dimethyl Sulfoxide/DMSO ($(CH_3)_2SO$), etil asetat ($CH_3COOC_2H_5$), besi (III) klorida ($FeCl_3$), logam Mg, metanol (CH_3OH), *n-heksana* (C_6H_{14}), natrium klorida (NaCl), *Nutrient Agar* (NA), pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, pereaksi *Liebermann-Burchard*, kloramfenikol, kapas, kertas label, kertas *tissue*, dan plastik *wrapping*.

Prosedur Penelitian

Pengambilan dan Preparasi sampel

Sampel daun Nipah diperoleh dari Desa Sungai Kupah Kecamatan Sui. Kakap, Kabupaten Kubu Raya. Daun Nipah dibersihkan dan dipisahkan dari tulang daunnya, dipotong kecil-kecil dan dikeringanginkan, lalu dihaluskan menggunakan *blender* hingga membentuk serbuk.

Ekstraksi dan partisi sampel

Ekstraksi sampel daun Nipah dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Sebanyak 900 g Sampel halus daun Nipah direndam dengan metanol hingga terendam seluruhnya dan dibiarkan selama 24 jam. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali atau hingga maserat menghasilkan warna yang pucat. Ekstrak yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar kental daun Nipah. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dihitung persen rendemen dengan rumus:

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat sampel kering (g)}} \times 100\%$$

Ekstrak kasar kental daun Nipah ditimbang 30 g dan dilarutkan dengan metanol. Kemudian dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana dan dilanjutkan partisi dengan menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak dan fraksi yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh tiga fraksi (*n*-heksana, etil asetat dan metanol) (Harborne, 1987).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap kandungan kimia dalam ekstrak tanaman dilakukan pada senyawa-senyawa berikut: alkaloid, triterpenoid/steroid, polifenol/tanin, flavonoid dan saponin (Harborne, 1987).

a. Alkaloid

Sejumlah larutan ekstrak ditambahkan 3 tetes H_2SO_4 2N kemudian dipanaskan. Selanjutnya diuji dengan reagen Mayer dan Wagner. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan putih kekuningan pada penambahan reagen Mayer dan endapan kecoklatan pada penambahan reagen Wagner.

b. Triterpenoid/ Steroid

Larutan ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan hijau (mengandung steroid) atau terbentuk endapan merah (mengandung triterpenoid).

c. Polifenol/ Tanin

Larutan ekstrak sebanyak 2 mL ditambahkan dua tetes pereaksi $FeCl_3$ 1%. Terbentuknya warna hijau atau biru menunjukkan adanya senyawa fenol.

d. Flavonoid

Larutan ekstrak sebanyak 2 mL ditambah dengan sedikit serbuk Mg dan 2 mL HCl 2N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

e. Saponin

Larutan ekstrak ditambahkan akuades dan dikocok kuat-kuat. Adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa 1-10 cm yang stabil dan tidak kurang dari 10 menit.

Persiapan bakteri uji**Sterilisasi alat**

Sterilisasi alat yang tahan panas menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Sedangkan alat yang tidak tahan panas disterilisasi dengan alkohol 70 % (Barrow dan Feltham, 1992).

Pembuatan media Nutrient Agar (NA)

Media NA ditimbang sebanyak 11,5 g dan dilarutkan dengan 500 mL akuades, dipanaskan sambil diaduk dan disterilkan menggunakan *autoclave*. Kemudian media sebanyak 20 mL dimasukkan ke dalam cawan petri dan didinginkan hingga memadat, lalu diletakkan dalam posisi terbalik di dalam *laminary flow cabinet* (Barrow dan Feltham, 1992).

Pembuatan larutan NaCl fisiologis 0,9%

Sebanyak 0,9 g NaCl dilarutkan dalam 100 mL akuades ke dalam gelas beaker, kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya, disterilkan dengan menggunakan *autoclave*.

Peremajaan isolat bakteri uji

Isolat murni bakteri *E.coli* dan *B.cereus* diambil sebanyak 1 ose, lalu diinokulasikan secara aseptik pada media NA dan diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C (Sareong, 2015).

Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *E.coli* dan *B.cereus* masing-masing diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan secara aseptik ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl fisiologis 0,9 % dan divortex agar homogen (Sareong, 2015).

Uji aktivitas antibakteri

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara melarutkan masing-masing ekstrak metanol dan fraksi (metanol, etil asetat dan *n*-heksana) menggunakan larutan Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 10% sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Uji kadar hambat minimum (KHM) dengan variasi konsentrasi 500, 250, 125 dan 62,5 ppm. Pembuatan larutan pada konsentrasi tersebut dilakukan dengan pengenceran bertingkat. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dan kontrol negatif digunakan DMSO.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran (*well*). Setelah media NA dalam cawan petri memadat, diinokulasikan suspensi bakteri sebanyak 50 μ L dan disebar di permukaan media secara merata dengan menggunakan *cotton buds*. Selanjutnya dibuat sumur pada cawan petri dengan diameter masing-masing sumur sebesar 7 mm. Masing-masing larutan uji konsentrasi 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 ppm dimasukkan sebanyak 30 μ L ke dalam sumur, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona bening yang terbentuk. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong (Aziz, 2010). Perlakuan duplo. Hasil penelitian berupa zona bening dianalisis pengujian statistik dengan menggunakan *One-way ANOVA*. Taraf uji dari diameter zona bening yaitu 95 % ($\alpha \leq 0,05$).

PEMBAHASAN**Ekstraksi dan Partisi**

Serbuk halus daun Nipah diekstraksi melalui metode maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara merendam sampel (*simplisia*) dalam pelarut dengan atau tanpa pengadukan. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa metabolit si dalam sitoplasma akan terdesak keluar dan larut dalam pelarut organik. Sampel daun Nipah direndam menggunakan metanol selama 3x48 jam. Kemudian filtrat atau maserat daun Nipah dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga mengental. Ekstrak kasar yang diperoleh

sebanyak 39 g dengan rendemen 4,3% dan berwarna hijau pekat.

Partisi bertujuan untuk memisahkan senyawa yang ada di dalam sampel sesuai dengan kepolaran (*like dissolved like*). Pada penelitian ini dilakukan partisi bertingkat dengan metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan 3 pelarut yang berbeda kepolaran yaitu metanol (polar), etil asetat (semi polar), dan *n*-heksana (non polar). Masing-masing fraksi yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental fraksi metanol, etil asetat dan *n*-heksana. Rendemen ekstrak dan fraksi yang dari daun Nipah yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Partisi dan Rendemen Daun Nipah

Sampel	Berat Ekstrak (gram)	Persen Rendemen (%)	Keterangan
Fraksi <i>n</i> -heksana	1,08	3,59	Gel yang sedikit berminyak berwarna hijau kecoklatan
Fraksi etil asetat	1,78	5,93	Gel padat berwarna hijau pekat
Fraksi metanol	26,78	89,26	Gel hijau kecoklatan dan terdapat minyak berwarna coklat

*Keterangan: ekstrak kasar yang dipartisi sebanyak 30 g

Hasil Skrining Fitokimia

Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari daun Nipah dilakukan dengan metode skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan suatu metode kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman dengan cara penambahan suatu reagen tertentu, sehingga akan dihasilkan perubahan warna pada sampel atau terdapat endapan apabila sampel tersebut mengandung suatu senyawa tertentu. Pada penelitian ini golongan yang diidentifikasi pada ekstrak kasar dan fraksi (metanol, etil asetat dan *n*-heksana) daun Nipah yaitu golongan senyawa alkaloid, polifenol, saponin, flavonoid, dan steroid/triterpenoid. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun Nipah disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Sampel

Golongan Senyawa	Ekstrak kasar metanol	Fraksi metanol	Fraksi etil asetat	Fraksi <i>n</i> -heksana
Polifenol	++	++	-	-
Flavonoid	+	+	+	-
Triterpenoid / Steroid	+	-	++	++
Saponin	+	++	-	-
Alkaloid	Mayer	+	-	-
	Wagner	++	+	-

Keterangan : + = intensitas rendah
 ++ = intensitas sedang
 - = tidak teridentifikasi

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun Nipah positif mengandung senyawa golongan polifenol, flavonoid, triterpenoid/steroid, saponin dan alkaloid. Pada ekstrak kasar mengandung senyawa golongan polifenol, flavonoid, triterpenoid/steroid, saponin dan alkaloid, fraksi metanol mengandung senyawa polifenol, flavonoid, saponin dan alkaloid, sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana mengandung senyawa triterpenoid/steroid. Hasil yang sama diperoleh pada penelitian yang dilakukan oleh Osabor *et al* (2008) yang mengatakan bahwa Nipah mengandung polifenol dan alkaloid.

Aktivitas Antibakteri Daun Nipah terhadap Bakteri *E. coli* dan *B. cereus*

Uji aktivitas antibakteri dari daun Nipah dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar sumuran (*Well*) terhadap bakteri *E. coli* dan *B. cereus* masing-masing dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 ppm. Pada penelitian ini kontrol positif digunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 62,5 ppm sedangkan kontrol negatif digunakan pelarut DMSO 10%. Dimethyl Sulfoxide merupakan pelarut ekstrak yang baik tanpa memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji, sehingga digunakan untuk melarutkan ekstrak dan fraksi-fraksi daun Nipah. Kloramfenikol adalah antibiotik yang memiliki spektrum luas dan efektif digunakan terhadap bakteri aerob maupun anaerob. Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat proses transpeptidasi pada sintesis protein (Nugroho, 2014).

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Aktivitas Antibakteri terhadap bakteri *E. coli*

Sampel	Konsentrasi (ppm) / Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD				
	1000	500	250	125	62,5
Ekstrak kasar	0	0	0	0	0
Fraksi metanol	0	0	0	0	0
Fraksi etil asetat	9,387 \pm 0,406 ^b	8,275 \pm 0,071 ^b	8,487 \pm 0,654 ^b	6,662 \pm 0,194 ^b	7,480 \pm 0,714 ^b
Fraksi <i>n</i> -heksana	9,012 \pm 0,515 ^b	8,825 \pm 0,071 ^b	8,512 \pm 0,406 ^b	0	0
Kontrol positif					26,387 \pm 1,220 ^d

Keterangan: a) lemah, zona hambat 5 mm atau kurang; b) sedang, zona hambat 5-10 mm; c) kuat zona hambat 10-20 mm; dan d) sangat kuat, zona hambat 20 mm atau lebih (Davis dan Stout, 1971).

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Aktivitas Antibakteri terhadap bakteri *B.cereus*

Sampel	Konsentrasi (ppm) / Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD				
	1000	500	250	125	62,5
Ekstrak kasar	0	0	0	0	0
Fraksi metanol	0	0	0	0	0
Fraksi etil asetat	9,512 \pm 0,265 ^b	8,075 \pm 0,495 ^b	7,875 \pm 0,106 ^b	0	0
Fraksi <i>n</i> -heksana	11,250 \pm 0,071 ^c	10,650 \pm 0,141 ^c	9,487 \pm 1,609 ^b	8,625 \pm 0,495 ^b	0
Kontrol positif					44,487 \pm 3,023 ^d

Keterangan: a) lemah, zona hambat 5 mm atau kurang; b) sedang, zona hambat 5-10 mm; c) kuat zona hambat 10-20 mm; dan d) sangat kuat, zona hambat 20 mm atau lebih (Davis dan Stout, 1971).

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun Nipah dalam menghambat bakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran yang berisi ekstrak uji. Zona bening menandakan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antibakteri. Hasil pengukuran pada pengujian dari ekstrak kasar, fraksi metanol, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana daun Nipah sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram negatif dan positif diperoleh hasil perhitungan rata-rata diameter zona bening disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Berdasarkan hasil pengujian dapat diketahui bahwa fraksi yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri adalah fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana, sedangkan pada ekstrak kasar dan fraksi metanol tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri yang diperoleh berbeda-beda terhadap masing-masing bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa spektrum penghambatan tergantung pada jenis dan kekuatan senyawa antibakteri dari masing-masing komponen yang terekstrak serta jumlah komponen aktif yang terekstrak oleh pelarut yang digunakan. Menurut Jawetz, dkk (1996) menyatakan aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh 4 faktor, yaitu: konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat.

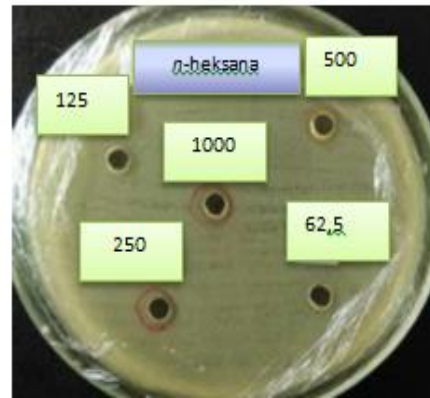
Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan hasil uji yang berbeda, hal ini dapat dipengaruhi oleh daya difusi ekstrak. Ekstrak dan fraksi (metanol, etil asetat dan *n*-heksana) daun Nipah di dalam sumur (*Well*) akan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara berdifusi ke media yang telah diberi bakteri uji. Konsentrasi fraksi dan jenis bakteri dapat berpengaruh dalam berdifusi. Selain itu, tebal media dan diameter sumur (*Well*) dapat mempengaruhi kecepatan senyawa metabolit untuk berdifusi (Jawetz, dkk, 1996).

Aktivitas antibakteri pada bakteri Gram negatif (*E. coli*) menunjukkan hasil diameter zona hambat pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 1000 ppm yaitu 9,387 mm \pm 0,041. Hasil uji pada bakteri Gram positif (*B. cereus*) yaitu 9,512 mm \pm 0,026. Sedangkan pada fraksi *n*-heksana dengan konsentrasi 1000 ppm Gram negatif (*E. coli*) menunjukkan diameter zona hambat yaitu 9,012 mm \pm 0,051. Hasil uji pada bakteri Gram positif (*B. cereus*) yaitu 11,250 mm \pm 0,007. Diameter zona hambat terhadap bakteri *B. cereus* lebih besar dibandingkan bakteri *E. coli*. Hasil yang berbeda ini dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua bakteri, dimana bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri gram positif.

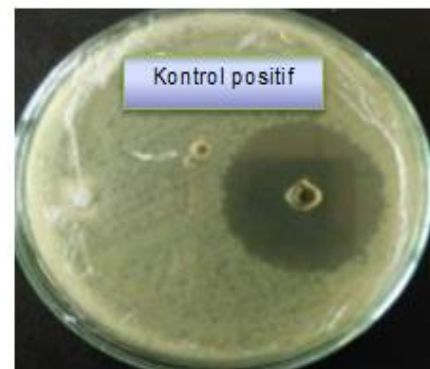
Uji aktivitas penghambatan antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*B. cereus*) lebih kuat dibandingkan bakteri Gram negatif (*E. coli*). Hal ini sesuai dengan sifat

dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Menurut Pelczar (1986) struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. Sedangkan bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Siswandono (2000) menambahkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Zona bening yang terbentuk berkaitan dengan golongan senyawa metabolit sekunder pada setiap fraksi daun Nipah. Fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana memiliki kandungan metabolit sekunder berupa steroid. Steroid memiliki kemampuan aktivitas sebagai antibakteri. Menurut Putra (2007) dalam Wiyanto (2010) menyatakan mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba, adalah dengan merusak membran plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel. Hal tersebut disebabkan karena molekul steroid memiliki gugus nonpolar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik) sehingga memiliki efek surfaktan yang dapat melarutkan komponen fosfolipid membran plasma. Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3 menunjukkan zona bening yang diperoleh pada aktivitas antibakteri Gram negatif (*E. coli*):

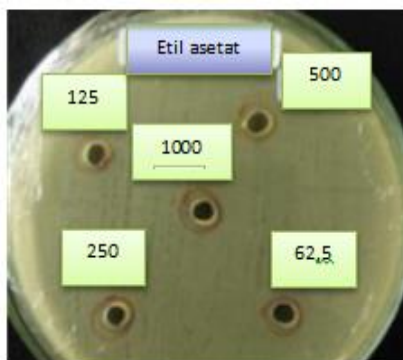


Gambar 2. Zona hambat yang terbentuk pada fraksi *n*-heksana terhadap *E. coli*.

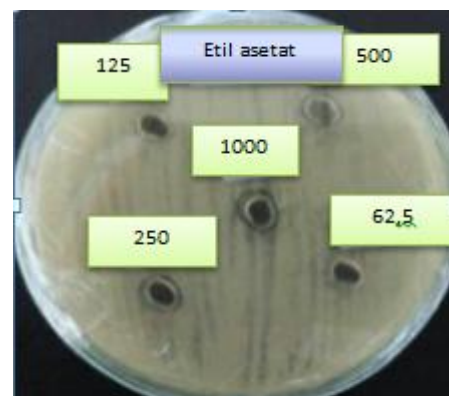


Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif terhadap *E. coli*

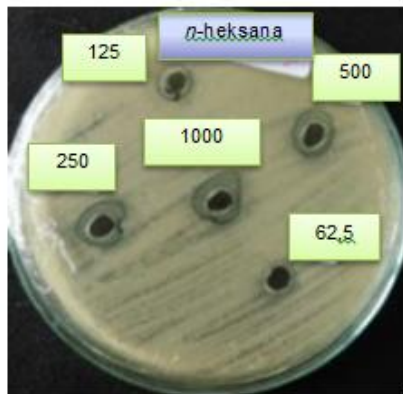
Gambar 1, Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan zona bening yang diperoleh pada aktivitas antibakteri Gram positif (*B. cereus*):



Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk pada fraksi etil asetat terhadap *E. coli*. (angka pada gambar merupakan variasi konsentrasi yang digunakan pada penelitian)



Gambar 4. Zona hambat yang terbentuk pada fraksi etil asetat terhadap *B. cereus*.



Gambar 5. Zona hambat yang terbentuk pada fraksi *n*-heksana terhadap *B. cereus*



Gambar 6. Zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif terhadap *B. cereus*.

Diameter zona bening dari fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana dianalisis menggunakan metode *one-way* ANOVA untuk melihat apakah variasi konsentrasi yang dilakukan memiliki nilai berbeda signifikan atau tidak. Hasil uji *one-way* ANOVA menunjukkan bahwa semua variasi konsentrasi yaitu 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 ppm memiliki aktivitas yang berbeda signifikan dalam menghambat antibakteri. Taraf uji dari diameter zona bening yang dihasilkan ekstrak uji yaitu 95 % ($\alpha \leq 0,05$), sedangkan kontrol positif terhadap bakteri dengan nilai signifikasinya $0,000 < \alpha$. Hasil uji tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada taraf uji 95 % ($\alpha \leq 0,05$) dari diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak uji dan kontrol positif terhadap bakteri *E. coli*, dan *B. cereus* dengan nilai signifikasinya $0,000 < \alpha$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi dari daun Nipah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi juga berpengaruh terhadap kemampuan ekstrak

untuk menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar pula kemampuan ekstrak tersebut untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan kekuatan daya antimikroba dengan diameter zona hambat dapat dikelompokkan menjadi 4 bagian yaitu: a) lemah, zona hambat 5 mm atau kurang; b) sedang, zona hambat 5-10 mm; c) kuat zona hambat 10-20 mm; dan d) sangat kuat, zona hambat 20 mm atau lebih (Davis dan Stout, 1971).

Pada fraksi *n*-heksana konsentrasi 1000 ppm memiliki daya aktivitas antibakteri dalam kategori kuat terhadap bakteri *B. cereus*, serta memiliki daya aktivitas antibakteri kategori sedang terhadap bakteri *E. coli*. Fraksi etil asetat pada konsentrasi 1000 ppm menunjukkan daya aktivitas antibakteri sedang terhadap bakteri *E. coli* dan bakteri *B. cereus*.

Diameter zona hambat bakteri *B. cereus* pada fraksi *n*-heksana dengan konsentrasi 1000, 500, 250, dan 125 ppm menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif. Bakteri *E. coli* pada fraksi etil asetat pada konsentrasi 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 ppm juga menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: golongan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kasar daun Nipah yaitu polifenol, flavonoid, triterpenoid/ steroid, saponin dan alkaloid. Fraksi metanol memiliki senyawa metabolit yg sama dg ekstrak kasar, kecuali senyawa triterpenoid/ steroid. Triterpenoid/ steroid terdistribusi pada fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana. Fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif dan positif. Fraksi *n*-heksana merupakan fraksi dengan daya aktivitas paling baik, yaitu memiliki diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, S., 2010, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Umbi Bakung Putih (Crinum aiaticum L.) terhadap bakteri penyebab jerawat*, UIN, Jakarta.
- Bakshi, M dan Chaudhuri, P., 2014, Antimicrobial Potential of Leaf Extracts of Ten Mangrove Species from Indian Sundarban, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 5(1): 294-304.
- Barrow, G.I and R.K.A. Feltham, 1993, *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*, 3rd Edn, Cambridge University Press, Cambridge, London.
- Davis, W.W dan T.R. Stout, 1971, Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay, *J. Applied Microbiology*, 22(4): 659-665.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tanaman*, K. Padmawinata dan I. Soediro. (alih bahasa), ITB, Bandung.
- Irmayeni, C. 2010. *Model Alometrik Biomassa dan Pendugaan Simpanan Karbon Rawa Nipah (Nypa fruticans)*, Universitas Sumatera Utara, Departemen Kehutanan Fakultas pertanian. Medan, (Skripsi).
- Irianto, K., 2014, *Bakteriologi Medis, Mikologi Medis dan Virologi Medis*, Alfabeta, Bandung.
- Jawetz, E., J. Melnick dan E. Adelberg, 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edi Nugroho dan R.F. Maulan. (alih bahasa), Ed ke-20, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kitamura, S., C. Anwar, A. Chaniago, dan S. Baba, 1997, *Handbook of mangroves in Indonesia : Bali and Lombok*, Ministry of Indonesia and JICA, Jakarta.
- Nugroho, A, E., 2014, *Farmakologi Obat-Obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Osabor, V.N, G.E Egbung dan P.C Okafor. 2008. *Chemical Profile of Nypa fruticans From Cross River Estuary, South Eastern Nigeria*, Pakistan Journal of Nutrition, 7(1): 146-150.
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan, 1993, *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*, (alih bahasa), Hadioetomo, Katna, S, Imas, T, Tjitroso S.S dan Angka S.L., Persada, Jakarta.
- Putra, I.N.K., 2007, *Study Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya*, Universitas Brawijaya, Program Pascasarjana, Malang, (Disertasi).
- Sareong, W., 2015, *Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah Eucheuma cottonii Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen*, Universitas Hasanuddin, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Makassar.
- Siswandono Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, Ed ke-2, Airlangga University Press, Surabaya.
- Subiandono, E., N. M. Heriyanto dan Endang Karlina, 2011, *Potensi Nipah (Nypa fruticans Wurmb.) sebagai Sumber Pangan dari Hutan Mangrove*, *Buletin Plasma Nutfah*. 17(1).
- Utami, R.E., 2012, *Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi*, *Saintis*, Fakultas Sain dan Teknologi UIN Maliki Malang, Malang.
- Wiyanto, Budi, D., 2010, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Kappaphycus alvarezii dan Eucheuma denticullatum terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila dan Vibrio harvayii*, *Jurnal Kelautan*, 3(1):12.