

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGAL EKSTRAK
METANOL DAUN DAN KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora
apiculata*)**

(Skripsi)

**Oleh:
Meidiana Kartika Dewi
2018011006**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGAL EKSTRAK
METANOL DAUN DAN KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora
apiculata*)**

Oleh
MEIDIANA KARTIKA DEWI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGAL EKSTRAK METANOL DAUN DAN KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*)

Nama Mahasiswa : *Meidiana Kartika Dewi*

NPM : 2018011006

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



Syazili Mustofa
Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed
NIP. 19830713 200812 1 003

Giska Tri Putri
dr. Giska Tri Putri, S. Ked., M. Ling
NIP. 231612900307201

2. Dekan Fakultas Kedokteran

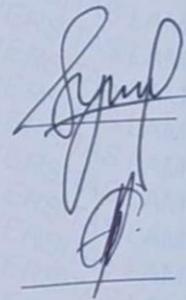


Evi Kurniawaty
Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP. 19760120 200312 2 001

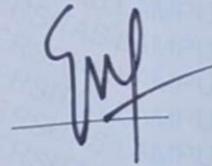
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

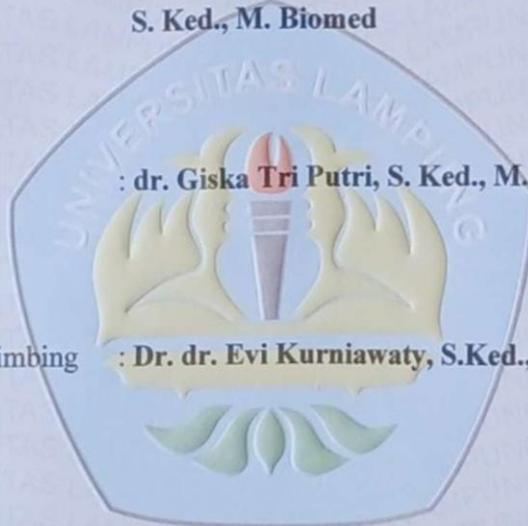
Ketua : **Dr. Si. dr. Syazili Mustofa,**
S. Ked., M. Biomed



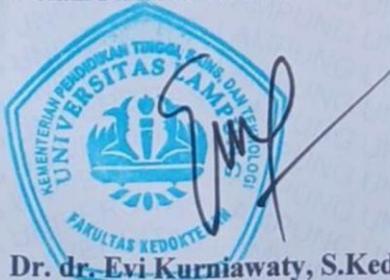
Sekretaris : **dr. Giska Tri Putri, S. Ked., M. Ling**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M. Sc**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP. 19760120 200312 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 4 Juli 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGAL EKSTRAK METANOL DAUN DAN KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*)**” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 4 Juli 2025

Pembuat pernyataan,



Meidiana Kartika Dewi

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Jakarta pada tanggal 16 Mei 2002 sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Joko Waluyo, S.T. dan Ibu Esti Wahyuningsih, S.E. Penulis mempunyai dua adik bernama Agustina Nur Rahmawati dan Kelvin Bagas Wijayanto.

Penulis menyelesaikan pendidikan dasarnya di SDN Padurenan VI pada tahun 2014, sekolah menengah pertama (SMP) di SMPN 2 Kota Bekasi pada tahun 2017, dan sekolah menengah atas (SMA) di SMAN 1 Kota Bekasi pada tahun 2020. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2020.

Selama menjalani masa studi, penulis mengikuti organisasi dalam kampus berupa Perhimpunan Mahasiswa Pecinta Alam dan Tanggap Darurat (PMPATD Pakis Rescue Team) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung periode tahun 2021-2023, lalu bergabung ke dalam divisi keuangan dan menjadi bendahara divisi keuangan PMPATD Pakis Rescue Team periode 2022-2023 serta menjadi *Fundraising and Merchandise Coordinator Center for Indonesian Medical Students' Activities* (CIMSA) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung periode 2022-2023.

*Skripsi ini persembahkan sederhana untuk
Mama, Papa, Adik, Uti, Kakung, dan
seluruh keluarga besarku*

“Apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirmu, dan apa yang
ditakdirkan untukmu tidak akan pernah melewatkanmu”

(Umar bin Khattab)

SANWACANA

Segala puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Uji Aktivitas Antibakteri dan Antifungal Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)**” ini. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Pada proses penyusunan skripsi ini, penulis memperoleh bimbingan, motivasi, bantuan, saran, doa, nasihat, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, S. Ked., M. Biomed., selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, serta motivasi kepada penulis selama proses penulisan skripsi ini.
4. dr. Giska Tri Putri, S. Ked., M. Ling., selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan masukan dalam penulisan skripsi ini.
5. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc., selaku pembahas yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran di ditengah kesibukannya untuk selalu memberikan bimbingan, saran, dan kritik yang membangun sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.

6. dr. Risti Graharti, S. Ked., M. Ling., dr. Nurul Utami, S. Ked., M. Ling., dan dr. Winda Trijyanthi Utama, S. Ked., S. H., M.K.K., selaku pembimbing akademik atas arahan serta masukan bagi penulis selama masa perkuliahan.
7. Ibu Nuriah, A.Md., Ibu Suharyani, S. Si., M. Si., dan Bapak Lamiran yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan arahan, kritik, dan saran selama penelitian berlangsung sehingga penulis dapat menjalankan penelitian dengan baik.
8. Seluruh dosen dan civitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan membantu dalam proses penyusunan skripsi kepada penulis selama menjalani studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
9. Kedua orang tua penulis, Joko Waluyo dan Esti Wahyuningsih yang selalu memberikan dukungan, doa, dan nasihat kepada penulis.
10. Kedua adik penulis, Agustina Nur Rahmawati dan Kelvin Bagas Wijayanto yang selalu memberikan dukungan dan menyemangati penulis dalam setiap proses penyusunan skripsi ini.
11. Sahabat-sahabat penulis, Bela, Faradhila, Farah, Lyvia, Muthiihah, Puteri, dan Yona yang selalu memberikan doa, bantuan, dan dukungan dalam menyusun skripsi ini.
12. Teman-teman penelitian penulis, Putri, Pitha, Cynthia, Egi, Faridi, dan Nanda yang telah memberikan ilmu, kritik, dan saran kepada penulis.
13. Teman-teman OASIS dari CIMSA, Syiva, Rafa, Dorothy, Ganesha, Suci, Putri, Safira, Fauzan, Azizah, Kamila, Reisyah, Gatra, dan Almaina. Serta tidak lupa seluruh teman-teman dari PMPATD Pakis SC15.
14. Teman-teman Angkatan 2020 “T20MBOSIT” Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas kebersamaannya selamasa masa pre-klinik.
15. Semua pihak yang telah terlibat dan membantu penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, atas seluruh dukungan dan doa yang sangat berharga bagi penulis.

Semoga seluruh dukungan, motivasi, dan kebaikan dari seluruh pihak yang telah menyertai sepanjang proses penyusunan skripsi ini diberikan balasan yang berlipat ganda oleh Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat, khususnya bagi penulis dan para pembaca.

Bandar Lampung, 4 Juli 2025

Penulis

Meidiana Kartika Dewi

ABSTRACT

TEST OF ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF OIL MANGROVE (*Rhizophora apiculata*) LEAVES AND BARK METHANOL EXTRACT

By

MEIDIANA KARTIKA DEWI

Background: Numerous strategies have been implemented to reduce the incidence of infectious diseases. However, controlling them remains challenging due to the continuous transmission chain and the resistance of some bacterial and fungal species to antimicrobial agents. The oil mangrove plant (*Rhizophora apiculata*), found in East Lampung, contains secondary metabolites that have similar mechanisms to antimicrobial agents.

Methods: The design of this study was laboratory observational experimental methods. This study using well diffusion method, broth dilution, and agar dilution to determine the diameter of inhibition zone, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) of the methanol extract from leaves and bark oil mangrove plants (*Rhizophora apiculata*) with concentrations of 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*.

Results: The diameter of inhibition zone from oil mangrove (*Rhizophora apiculata*) bark extract against *Streptococcus pyogenes* have the most optimal result with a concentration of 12,5%, forming a diameter of $13 \pm 2,2$ mm. The MIC of the oil mangrove bark extract was determined at 1.5625% for *S. aureus*, while the MBC was found at 1.5625% for *Staphylococcus pyogenes*.

Conclusion: The oil mangrove (*Rhizophora apiculata*) leaves and bark methanol extract have antibacterial activity but does not exhibit antifungal activity.

Key words: Methanol extract of leaves and bark oil mangrove (*Rhizophora apiculata*). Antibacterial and antifungal activity, Diameter of inhibitory zones, Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC)

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGAL EKSTRAK METANOL DAUN DAN KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*)

Oleh

MEIDIANA KARTIKA DEWI

Latar Belakang: Beragam cara dilakukan untuk meminimalisir angka penyakit infeksi, namun cukup sulit untuk dikendalikan karena rantai infeksi yang terus berlangsung dan antimikroba yang digunakan mengalami resistensi pada beberapa spesies bakteri dan jamur. Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang terdapat di Lampung Timur memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang cara kerjanya mirip dengan antimikroba.

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental observasional laboratorik. Metode yang dipakai adalah sumuran, dilusi cair, dan dilusi padat untuk mengetahui diameter zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan konsentrasi 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

Hasil: Pada pengukuran diameter zona hambat ekstrak metanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap *Streptococcus pyogenes* paling optimal dengan konsentrasi 12,5% terbentuk diameter sebesar $13 \pm 2,2$ mm. Untuk KHM ekstrak kulit batang bakau minyak didapatkan pada konsentrasi 1,5625% untuk bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan KBM ekstrak kulit batang bakau minyak terdapat pada konsentrasi 1,5625% untuk bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Simpulan: Ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki aktivitas antibakteri namun tidak memiliki aktivitas antijamur.

Kata kunci: Ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak, Aktivitas antibakteri dan antijamur, Diameter zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Bagi Peneliti.....	5
1.4.2 Bagi Instansi Pendidikan	6
1.4.3 Bagi Masyarakat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Infeksi	7
2.1.1 Rantai Infeksi (<i>Chain of Infection</i>)	7
2.1.2 Agen Infeksi.....	9
2.2 Mikroba Patogen	11
2.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.2.2 <i>Streptococcus pyogenes</i>	13
2.2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.2.4 <i>Candida albicans</i>	19
2.3 Antimikroba.....	22
2.3.1 Mekanisme Kerja Antibiotik	22

2.3.2 Resistensi Antibiotik.....	29
2.4 Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	30
2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	30
2.4.2 Manfaat dan Kandungan Zat Aktif Dalam Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>)	31
2.5 Ekstraksi	35
2.5.1 Ekstraksi Tanpa Pemanasan.....	36
2.5.2 Ekstraksi Dengan Pemanasan	36
2.6 Metode Uji Aktivitas Antimikroba.....	37
2.6.1 Metode Difusi	38
2.6.2 Metode Dilusi	39
2.7 Kerangka Teori.....	41
2.8 Kerangka Konsep	42
2.9 Hipotesis.....	43
BAB III METODE PENELITIAN	44
3.1 Desain Penelitian.....	44
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	44
3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian	45
3.3.1 Mikroba Uji Penelitian.....	45
3.3.2 Bahan Uji Penelitian	45
3.3.3 Media Kultur.....	46
3.4 Identifikasi Variabel	46
3.4.1 Variabel Terikat	46
3.4.2 Variabel Bebas	46
3.5 Definisi Operasional	47
3.6 Sampel Penelitian	48
3.7 Kelompok Perlakuan	49
3.8 Prosedur Penelitian.....	51
3.8.1 Uji Determinasi.....	51
3.8.2 Persiapan Penelitian.....	51
3.8.3 Sterilisasi Alat.....	52

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>)	53
3.8.5 Pengenceran Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>)	53
3.8.6 Uji Fitokimia.....	55
3.8.7 Pembuatan Media	56
3.8.8 Identifikasi Bakteri	57
3.8.9 Pembuatan Larutan <i>McFarland</i>	59
3.8.10 Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri	59
3.8.11 Uji Aktivitas Antimikroba	59
3.9 Diagram Alur Penelitian.....	62
3.10 Pengolahan dan Analisis Data	63
3.11 Aspek Etika Penelitian	64
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	65
4.1 Hasil Penelitian.....	65
4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	65
4.1.2 Hasil Rendemen Ekstrak	65
4.1.3 Hasil Uji Fitokimia	67
4.1.4 Hasil Diameter Zona Hambat	69
4.1.5 Hasil Uji Kadar Hambat Minimum (KHM)	96
4.1.6 Hasil Uji Kadar Bunuh Minimum (KBM).....	109
4.2 Pembahasan	123
4.2.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	123
4.2.2 Hasil Rendemen Ekstrak.....	123
4.2.3 Hasil Uji Fitokimia	124
4.2.4 Hasil Diameter Zona Hambat	128
4.2.5 Hasil Uji Kadar Hambat Minimum (KHM)	129
4.2.6 Hasil Uji Kadar Bunuh Minimum (KBM).....	130
4.3 Keterbatasan Penelitian	131

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	133
5.1 Simpulan.....	133
5.2 Saran.....	134
DAFTAR PUSTAKA.....	136

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kerangka Teori	41
2. Kerangka Konsep.....	42
3. Definisi Operasional	47
4. Kelompok Perlakuan Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	49
5. Kelompok Perlakuan Terhadap Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	50
6. Kelompok Perlakuan Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
7. Kelompok Perlakuan Terhadap Jamur <i>Candida albicans</i>	51
8. Kategori Diameter Zona Hambat.....	60
9. Diagram Alur Penelitian	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rantai Infeksi.....	8
2. <i>Staphylococcus aureus</i> dengan Pewarnaan Gram	11
3. <i>Streptococcus pyogenes</i> dengan Pewarnaan Gram.....	14
4. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan pewarnaan gram	17
5. <i>Candida albicans</i>	20
6. Mekanisme Kerja Antibiotik	23
7. Struktur ampicillin.....	25
8. Struktur Ciprofloxacin	26
9. Struktur Ketoconazole	28
10. Mekanisme Kerja Antijamur	28
11. Tanaman Bakau (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	31
12. Prosedur pewarnaan gram.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Surat Etika Penelitian
- Lampiran 2 Surat Hasil Determinasi Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)
- Lampiran 3 Surat Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)
- Lampiran 4 Sertifikat Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan Jamur *Candida albicans*
- Lampiran 5 Dokumentasi Pengambilan Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)
- Lampiran 6 Dokumentasi Proses Pembuatan Simplisia
- Lampiran 7 Dokumentasi Proses Pembuatan Ekstrak
- Lampiran 8 Dokumentasi Proses Pengenceran Ekstrak
- Lampiran 9 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)
- Lampiran 10 Surat Izin Penelitian di UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung
- Lampiran 11 Dokumentasi Proses Uji Diameter Zona Hambat
- Lampiran 12 Dokumentasi Proses Pengujian KHM
- Lampiran 13 Dokumentasi Proses Pengujian KBM
- Lampiran 14 Hasil Analisis Univariat SPSS
- Lampiran 15 Hasil Analisis Normalitas SPSS
- Lampiran 16 Hasil Analisis Homogenitas dan One Way Anova
- Lampiran 17 Hasil Analisis *Post-Hoc Mann Whitney*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan istilah yang mengacu pada penyakit yang diakibatkan karena mikroorganisme, seperti virus, bakteri, parasite, atau jamur. Terdapat banyak mikroorganisme yang hidup di dalam maupun di luar tubuh manusia, dan umumnya tidak membahayakan atau bahkan memberikan manfaat, namun dalam situasi tertentu, sebagian di antaranya dapat menimbulkan penyakit (Kemenkes, 2017; Joegijantoro, 2019).

Menurut penelitian yang telah dilakukan, kasus infeksi masih terjadi secara signifikan, baik di negara maju ataupun berkembang. Penyakit infeksi menduduki peringkat kedua dalam daftar sepuluh penyebab kematian utama di rumah sakit. Pada tahun 2021, penyakit infeksi juga menjadi penyebab kematian terbanyak pada masa post neonatal (29 hari – 11 bulan), dengan prevalensi 14,4% kematian karena pneumonia dan 14% kematian karena diare. Pada kelompok anak balita (12-59 bulan), penyakit infeksi juga menjadi penyebab kematian terbanyak dengan rincian kematian akibat diare 10,3% dan kematian akibat pneumonia sebesar 9,4% (Kemenkes RI, 2022). Penyakit infeksi juga mendominasi di daftar sepuluh besar penyakit di Provinsi Lampung Tahun 2022 dan kejadian Nasopharyngitis Akut (*common cold*) menduduki peringkat pertama (Dinkes Provinsi Lampung, 2023).

Berbagai pengobatan sudah dijalankan untuk meminimalisir angka peristiwa penyakit infeksi, tetapi masalah penyakit infeksi cukup sulit dikendalikan akibat adanya rantai infeksi yang terus berlangsung. Salah satu pengobatan

yang diberikan saat tubuh terkena infeksi yang penyebabnya bakteri adalah antibiotik (Ariyanti *et al.*, 2014). Antibiotik yang berfungsi untuk mengobati infeksi pada tubuh manusia harus memiliki tingkat toksisitas yang sangat tinggi, artinya obat tersebut harus sangat beracun bagi mikroba, namun tetap aman bagi manusia sebagai hospes (Gunawan, *et al.* 2016). Tetapi, pemakaian antibiotika yang tidak terkontrol dan tidak adekuat dapat memicu resistensi terhadap pemberian antibiotik (*multidrug-resistance*). Resistensi bakteri terhadap antibiotik menyebabkan bakteri semakin kebal dan berkurangnya efektivitas terapi sehingga berdampak pada meningkatnya morbiditas dan mortalitas serta pengeluaran perawatan kesehatan yang berlebihan (Rukmini *et al.*, 2019).

Saat ini, pengobatan klinis yang tersedia, tidak efektif untuk melawan resistensi antibiotik yang dikembangkan oleh beberapa spesies bakteri seperti *Methiciline-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Pratiwi, 2017). Oleh karena itu, penemuan antibiotik baru menjadi sangat penting untuk melawan bakteri yang resisten terhadap obat. Antimikroba nabati memiliki potensi besar untuk memerangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri, jamur, protozoa, dan virus tanpa diketahui adanya efek samping (Chandra *et al.*, 2017). Hal ini menyebabkan peningkatan minat terhadap tanaman obat karena saat ini 25–50% obat-obatan berasal dari tanaman. Ekstrak tanaman obat dapat berfungsi sebagai sumber alternatif agen pengubah resistensi karena beragamnya metabolit sekunder. Metabolit tumbuhan tersebut antara lain kina, alkaloid, lektin, polipeptida, flavon, flavonoid, flavonol, kumarin, terpenoid, minyak atsiri, dan tannin (Gupta dan Birdi, 2017).

Indonesia adalah negara dengan ekosistem bakau terluas di dunia yaitu sekitar 42.550 km² dan populasinya mencapai 75% dari seluruh populasi bakau di dunia. Tanaman bakau banyak ditemukan di Irian (Papua), Jawa, Sumatra, Sulawesi, Kalimantan, Nusa Tenggara, dan Maluku. Salah satu tempat budidaya bakau yaitu di daerah Lampung Timur. Tanaman bakau mempunyai fungsi ekologi yang penting untuk lingkungan, seperti untuk sekuestrasi karbon, menyaring dan menangkap bahan pencemar, menjaga stabilitas pantai dari erosi, intrusi air laut, dan tekanan badai, menjaga habitat alami, dan

menjadi tempat bersarang, memijah, serta membesarkan anak-anak berbagai jenis fauna, seperti ikan, udang, kerang, dan burung (Duke, 2014; Setyawan, 2015).

Rhizophora apiculata, *Rhizophora mucronata*, dan *Rhizophora mangle* termasuk ke dalam spesies bakau yang sering ditemukan. *Rhizophora apiculata*, juga dikenal sebagai bakau minyak adalah salah satu tumbuhan bakau yang paling umum terdapat di daerah pesisir pantai (Purnobasuki, 2014). Spesies ini termasuk dalam subfamili *Rhizophoraceae*, genus *Rhizophora*, dan spesies *Rhizophora apiculata* sp. (Hadi *et al.*, 2016). Selain memiliki fungsi ekologi untuk lingkungan, bagian tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) seperti daun, kulit batang, dan akar banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat beri-beri, febrifige, haematoma, hepatitis, serta borok (Afizia WM, 2014). Tumbuhan ini kaya akan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin dan tanin. Kandungan senyawa metabolit tersebut, mempunyai mekanisme kerja yang mirip dengan antibiotik (Berawi KN, Marini D, 2018).

Hasil fitokimia dari ekstrak daun *Rhizophora apiculata* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa tannin, steroid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Hasil dari diameter zona hambat yang terbentuk, pelarut etanol dengan konsentrasi 20.000 ppm membentuk diameter zona hambat tertinggi yaitu sebesar 11,6 mm dan yang terendah adalah pelarut N-heksan dengan konsentrasi 5.000 ppm yang membentuk diameter zona hambat sebesar 5,3 mm. Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 2.500 ppm dan hasil uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah ekstrak etanol daun *Rhizophora apiculata* tidak memiliki aktivitas bakterisidal dan mempunyai aktivitas bakteriostatik karena masih terdapat koloni bakteri yang tumbuh lebih dari 8 koloni (Balun, 2018). Pada penelitian lain, kombinasi dari pelarut metanol, etanol, dan kloroform dengan perbandingan 60 : 20 : 20 yang digunakan untuk membuat ekstrak kulit batang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Candida albicans*. Hasil diameter zona hambatnya merupakan yang tertinggi yaitu sebesar 20,42 mm dan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 2,12 µg/ml (Acharya S, 2023).

Prevalensi penyakit infeksi yang relatif tinggi dan ketersediaan tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang cukup banyak di daerah pesisir Lampung maka penulis tertarik untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*. Konsentrasi dari metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang digunakan adalah 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang penelitian, maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah terdapat efektivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*?
2. Apakah terbentuk diameter zona hambat dengan pemberian ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*?
3. Berapa konsentrasi terendah dari ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* yang menunjukkan hambatan dari pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*?
4. Berapa konsentrasi terendah dari ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* yang dapat membunuh pertumbuhan dari *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Streptococcus pyogenes*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan jamur *Candida albicans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui diameter zona hambat ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
2. Mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
3. Mengetahui konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk menambah pengetahuan, pemahaman dan wawasan peneliti mengenai aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

1.4.2 Bagi Instansi Pendidikan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi dan bacaan bagi Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung serta referensi mengenai informasi ilmiah terkait aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Untuk menampah pengetahuan khususnya bagi Masyarakat yang ingin mengetahui manfaat dari ekstrak daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* sebagai pengobatan alternatif penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Streptococcus pyogenes*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan jamur *Candida albicans*.

BAB II

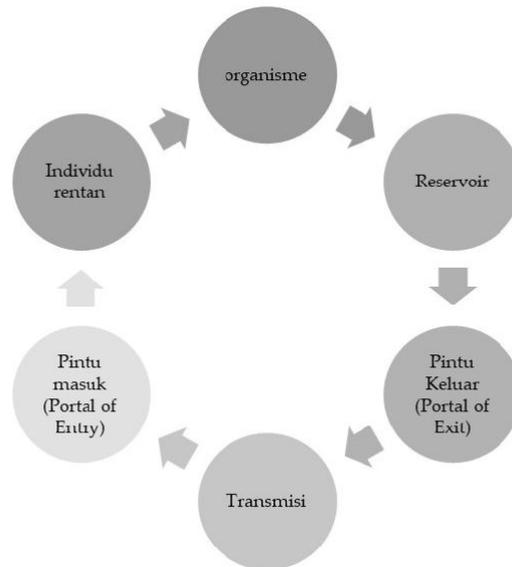
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infeksi

Infeksi adalah kondisi yang diakibatkan oleh mikroorganisme patogen yang dapat menimbulkan gejala klinik atau tidak. Penyakit infeksi adalah istilah yang mengacu pada penyakit yang diakibatkan karena mikroorganisme, seperti virus, bakteri, parasite, atau jamur. Terdapat banyak mikroorganisme yang hidup di dalam maupun di luar tubuh manusia, dan umumnya tidak membahayakan atau bahkan memberikan manfaat, namun dalam situasi tertentu, sebagian di antaranya dapat menimbulkan penyakit (Kemenkes, 2017; Joegijantoro, 2019).

2.1.1 Rantai Infeksi (*Chain of Infection*)

Rantai infeksi merupakan rangkaian proses yang harus terjadi agar suatu penyakit infeksi dapat muncul. Pemahaman terhadap rantai infeksi sangat diperlukan agar upaya pencegahan dan pengendalian penyakit infeksi dapat dilakukan secara efektif (Kemenkes, 2017).



Gambar 2.1 Rantai Infeksi (Joegijantoro, 2019)

Berikut enam komponen rantai penularan infeksi menurut Kemenkes (2017).

1) Agen infeksi (*infectious agent*)

Mikroorganisme yang menyebabkan infeksi disebut agen infeksi. Agen infeksi dapat berupa bakteri, virus, jamur dan parasit. Terdapat tiga faktor pada agen penyebab yang memiliki dampak terhadap perkembangan infeksi yaitu: patogenitas, virulensi dan jumlah (dosis, atau “*load*”). Semakin cepat agen infeksi diketahui melalui dengan pemeriksaan klinis atau laboratorium mikrobiologi, maka semakin cepat pula proses pencegahan dan penanggulangannya bisa dilaksanakan.

2) *Reservoir*

Agen infeksi dapat hidup, tumbuh, berkembang-biak dan siap ditularkan kepada pejamu atau manusia. Penelitian menunjukkan bahwa *reservoir* terbanyak adalah pada manusia, alat medis, binatang, tumbuh-tumbuhan, tanah, air, lingkungan dan bahan organik lainnya. *Reservoir* dapat ditemukan pada orang sehat, permukaan kulit, selaput lendir mulut, saluran napas atas, usus dan vagina juga merupakan *reservoir*.

3) *Portal of exit* (pintu keluar)

Merupakan tempat di mana agen infeksi (mikroorganisme) keluar dari *reservoir*, seperti melalui saluran pernapasan, pencernaan, dan kemih, maupun melalui plasenta.

4) Metode transmisi

Metode transmisi adalah proses di mana mikroorganisme berpindah dari sumber atau *reservoir* ke inang yang rentan. Penularan dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung, melalui *droplet*, *airborne*, media perantara seperti makanan, minuman, air, atau darah (vehikulum), serta melalui vektor seperti serangga atau hewan pengerat.

5) *Portal of entry* (pintu masuk)

Agen infeksi masuk ke dalam tubuh inang yang rentan melalui berbagai jalur seperti saluran pernapasan, pencernaan, kemih, kelamin, maupun melalui luka atau kulit yang tidak utuh.

6) *Susceptible host*

Individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah sehingga lebih mudah terinfeksi oleh mikroorganisme. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kerentanan ini antara lain usia, status gizi, riwayat imunisasi, penyakit kronis, luka bakar parah, trauma, pasca operasi, serta penggunaan obat-obatan immunosupresan.

2.1.2 Agen Infeksi

Berikut merupakan beberapa agen infeksi (Joegijantoro, 2019).

- 1) Prion merupakan singkatan dari *proteinaceous infectious particle* atau partikel protein infeksius. Prion merupakan agen infeksi yang hanya terdiri dari protein tanpa genom asam nukleat. Semua agen infeksi lainnya, seperti bakteri, virus, jamur memiliki genom yang terdiri dari DNA atau RNA yang mengarahkan sintesis progeninya, sedangkan Prion tidak punya.

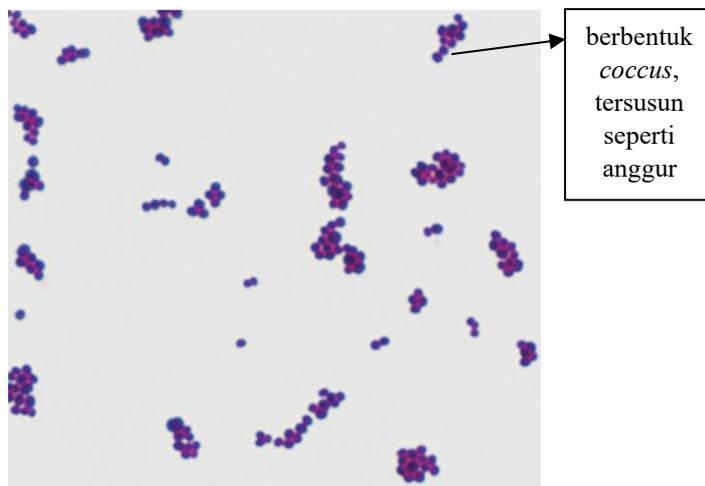
- 2) Virus merupakan agen infeksi berukuran sangat kecil dengan struktur yang sederhana, yang hanya mampu berkembang biak di dalam sel hidup (manusia, hewan, tumbuhan, atau bakteri). Semua virus mengandung asam nukleat —baik DNA (*deoxyribonucleic acid*) atau RNA (*ribonucleic acid*)— dan protein. Asam nukleat mengodekan informasi genetik yang unik untuk setiap virus.
- 3) Bakteri adalah organisme bersel satu mikroskopis yang tumbuh subur di lingkungan yang beragam. Bakteri termasuk ke dalam prokariota. Organisme yang terdiri dari sel tunggal dengan struktur internal yang sederhana. Tidak seperti DNA eukariotik, yang dikemas dengan rapi ke dalam kompartemen seluler yang disebut nukleus, DNA bakteri mengapung bebas, dalam massa seperti benang yang disebut sebagai nukleoid.
- 4) *Chlamydia*, *Rickettsia*, dan *Mycoplasma* dianggap secara terpisah dari kelompok bakteri lainnya karena mereka tidak memiliki struktur tertentu (misalnya *Mycoplasma* kekurangan dinding sel) atau dalam kemampuan melakukan metabolisme, *Chlamydia* tidak dapat mensintesis ATP, sehingga membedakan mereka dari bakteri
- 5) Jamur adalah organisme eukariotik. Jamur dapat menyebabkan infeksi pada tempat yang superfisial maupun yang dalam. Infeksi superfisial biasanya melibatkan kulit, rambut, atau kuku sedangkan infeksi jamur yang dalam biasanya tetap laten pada inang yang normal; mereka dapat menyerang jaringan, dan menghancurkan organ-organ vital.
- 6) Protozoa adalah organisme mikroskopis bersel satu yang dapat hidup bebas atau parasit di alam. Mereka dapat berkembang biak pada manusia, yang berkontribusi terhadap kelangsungan hidup mereka dan juga memungkinkan berdampak terjadi infeksi serius.

- 7) *Helminthes* atau Cacing adalah organisme multisel dengan siklus hidup yang kompleks; bergantian antara reproduksi seksual di host definitif, dan reproduksi aseksual dalam tubuh host atau vektor perantara.
- 8) Ektoparasit adalah kelompok artropoda, khususnya dari kelas serangga, yang berperan sebagai vektor dalam penularan berbagai penyakit menular. Ketika organisme ini hidup dan berinteraksi di permukaan tubuh atau kulit, mereka disebut sebagai ektoparasit.

2.2 Mikroba Patogen

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, di mana dalam bahasa Yunani kata *staphyle* berarti anggur, sedangkan *coccus* berarti bulat. Bakteri ini mempunyai bentuk bulat menyerupai telur atau bola dengan ukuran diameter berkisar antara 0,5µm-1µm. Bentuknya tersusun seperti anggur atau *irregular* atau tidak teratur. Bakteri *Staphylococcus aureus* ini dapat tumbuh pada suhu antara 18°C hingga 40°C, dengan suhu optimal pertumbuhannya pada suhu 37°C (Radji, 2016; Murray *et al.*, 2016).



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* dengan Pewarnaan Gram (Jawetz, 2019)

Bakteri *Staphylococcus aureus* biasanya ditemukan pada kulit dan membran mukosa manusia sebagai flora normal. Namun, *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai salah satu spesies yang memiliki kemampuan patogenik lebih tinggi dibandingkan dengan spesies *staphylococcus* lainnya (Radji, 2016; Murray *et al.*, 2016).

2.2.1.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Menurut Brooks *et al.* (2017), klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut.

Kingdom : Eubacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Coccus

Ordo : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.2.1.2 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah anggota flora normal kulit, saluran napas, dan saluran cerna tubuh manusia. Bakteri ini dapat ditemukan pada pakaian, seprai tempat tidur, dan barang lain yang terkontaminasi pada lingkungan manusia. Patogenesis dari *Staphylococcus aureus* adalah kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. Spektrum penyakitnya adalah keracunan makanan yang berkaitan dengan ingesti enterotoksin yang belum terbentuk, bakterimia *Staphylococcus*, dan abses diseminata pada semua organ. *Staphylococcus aureus* bersifat invasif dan patogenik yang menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik (Jawetz *et al.*, 2019).

2.2.1.3 Manifestasi Klinis dari Infeksi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus menyebabkan penyakit melalui produksi toxin atau melalui invasi langsung dan penghancuran jaringan. Manifestasi klinis dari beberapa penyakit *Staphylococcus* hampir sama yaitu akibat dari aktivitas toksin (misalnya *staphylococcal scalded skin syndrome, staphylococcal food poisoning, and toxic shock syndrome*), sedangkan penyakit lain disebabkan oleh proliferasi organisme, menyebabkan pembentukan abses dan kerusakan jaringan (misalnya infeksi kulit, endokarditis, pneumonia, empiema, osteomielitis, septic arthritis). Jika terdapat benda asing (misalnya serpihan, kateter, shunt, katup atau sendi prostetik) dan terdapat bakteri *Staphylococcus* meskipun sedikit tetap dapat menimbulkan penyakit. Pasien dengan penyakit bawaan yang berhubungan dengan gangguan respons kemotaktik atau fagositik (misalnya Job syndrome, Wiskott-Aldrich syndrome, chronic granulomatous disease) lebih rentan terhadap penyakit *Staphylococcus* (Murray *et al.*, 2016).

2.2.2 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes, juga dikenal sebagai Grup A Streptococcus (GAS) adalah bakteri gram positif dengan sifat katalase negatif dan termasuk bakteri β -hemolitik. Bakteri ini tumbuh dalam bentuk sel bulat atau *coccus* dengan diameter 0,6-0,1 μm dan terlihat seperti rantai pendek atau kumpulan bakteri. *Streptococcus pyogenes* bersifat anaerobik fakultatif, tidak bergerak, dan tidak membentuk spora. Dengan rentang pH 7,4-7,6, organisme ini tumbuh dengan baik pada suhu 37°C (Bryant dan Stevens, 2020).



Gambar 2.3 *Streptococcus pyogenes* dengan Pewarnaan Gram (Murray *et al.*, 2016).

Streptococcus pyogenes sering membentuk rantai yang mirip dengan diplokokus. Faktor lingkungan mempengaruhi panjang rantai yang sangat bervariasi. Dinding sel *Streptococcus pyogenes* terdiri dari protein, karbohidrat dan peptidoglikan. *Streptococcus pyogenes* juga memiliki rambut yang berbentuk seperti pili yang keluar melalui kapsul bakteri ini, (Brooks *et al.*, 2017).

2.2.2.1 Klasifikasi *Streptococcus pyogenes*

Klasifikasi bakteri *Streptococcus pyogenes* menurut Krieg (2014) sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Lactobacillales
 Famili : Streptococcaceae
 Genus : Streptococcus
 Spesies : *Streptococcus pyogenes*

2.2.2.2 Patogenesis *Streptococcus pyogenes*

Terjadi kolonisasi bakteri yang berkembang biak pada mukosa saluran pernapasan bagian atas atau kulit manusia merupakan

langkah awal terjadinya penyakit infeksi akibat *Streptococcus pyogenes* (Bryant dan Stevens, 2014).

Protein M, kapsul asam hialuronat, dan protein pengikat fibrinektin adalah beberapa faktor penting yang dikaitkan dengan patogenesis *Streptococcus pyogenes* pada tubuh manusia. Selama infeksi invasif, sejumlah besar protein M dilepaskan dari permukaan sel melalui proteolisis sehingga dapat membentuk kompleks proinflamasi seperti bekuan dengan fibrinogen manusia yang dapat menyebabkan aktivasi neutrofil tidak terkontrol, kebocoran pembuluh darah, dan gejala syok toksik. Selain itu, protein M bersama dengan kapsul asam hialuronat dan protein permukaan lainnya, membantu *Streptococcus pyogenes* menghindari fagositosis (Nizet dan Arnold, 2018; Peters *et al.*, 2017; Snelling dan Carapetis, 2019).

2.2.2.3 Manifestasi Klinis dari Infeksi *Streptococcus pyogenes*

Penyakit yang disebabkan *Streptococcus pyogenes* disebabkan oleh strain bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada faring (faringitis) atau infeksi kulit. Faringitis yang disebabkan *Streptococcus pyogenes* merupakan penyakit anak-anak yang berusia sekitar 5 sampai 15 tahun, namun bayi dan orang dewasa juga rentan terhadap penyakit ini. Patogen ini dapat menyebar dari orang ke orang melalui droplet pernapasan. Kerumunan seperti di ruang kelas dan fasilitas penitipan anak atau daycare akan meningkatkan peluang untuk penyebaran organisme (Murray *et al.*, 2016).

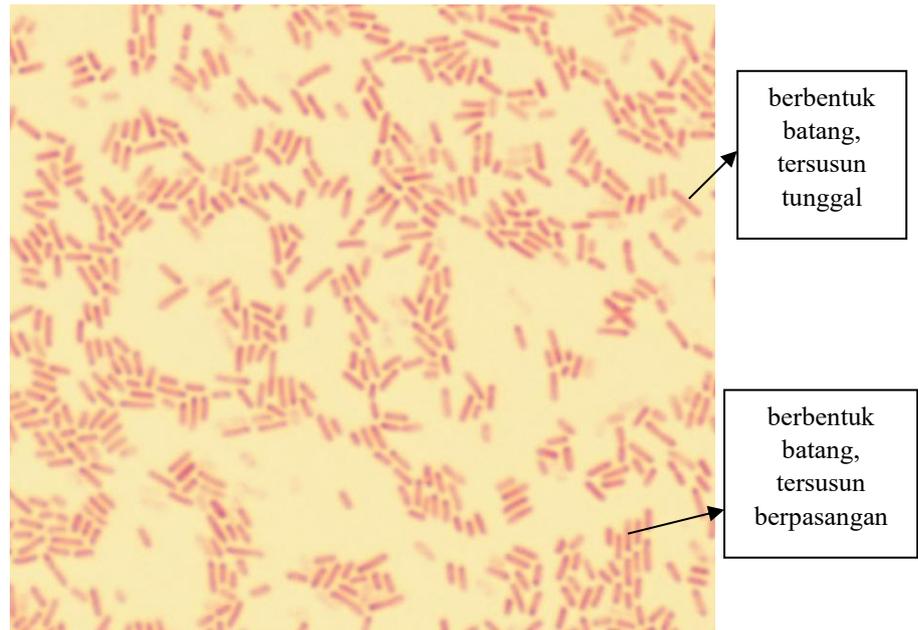
Infeksi jaringan lunak seperti pyoderma, erysipelas, cellulitis, dan necrotizing fasciitis biasanya didahului oleh kolonisasi bakteri *Streptococcus pyogenes* di kulit, setelah itu organisme masuk ke dalam jaringan superfisial atau dalam melalui luka di kulit yang menjadi *port de entry*. Lebih parahnya lagi infeksi

akibat *Streptococcus pyogenes* ditakuti bukan hanya karena penyakit infeksi yang sedang berlangsung tetapi juga karena kemampuan bakteri ini untuk mengakibatkan glomerulonefritis (radang nefron glomerulus) dan demam rematik akut yang terjadi akibat dari kelanjutan pasca infeksi *Streptococcus pyogenes* pada tenggorokan dan kulit (Bryant dan Stevens, 2014; Murray *et al.*, 2016; Joegijantoro, 2019).

2.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas di alam dan umumnya terdapat di lingkungan lembab sebuah rumah sakit. Bakteri ini tidak termasuk microbiota biasa yang ditemukan pada manusia, namun *Pseudomonas aeruginosa* dapat berkolonisasi di berbagai tempat di tubuh manusia, misalnya selaput lendir, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan. Kemampuannya menyebabkan berbagai infeksi baik pada individu yang imunokompeten maupun yang imunokompromais. Kecenderungannya untuk menyebabkan infeksi pada individu yang sistem kekebalannya lemah, fleksibilitasnya yang ekstrem, resistensi antibiotik, dan berbagai pertahanan dinamis menjadikannya organisme yang sangat menantang dalam pengobatan medis modern (Jawetz *et al.*, 2019; Wilson dan Pandey, 2023).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri berbentuk batang, berukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$, dan bersifat gram negatif. Bakteri ini terlihat dalam bentuk tunggal, berpasangan, kadang-kadang rantai pendek dan memiliki kemampuan untuk bergerak (motil) karena adanya satu flagel. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur dan kadang-kadang menghasilkan aroma manis dan berbau seperti anggur atau jagung taco (Jawetz *et al.*, 2019).



Gambar 2.4 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan pewarnaan gram (Murray *et al.*, 2016)

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu 37°C hingga 42°C. Kemampuannya untuk tumbuh pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain yang termasuk dalam grup fluoresens. Bakteri tersebut bersifat oksidase positif. *Pseudomonas aeruginosa* mengoksidasi glukosa, tetapi tidak memfermentasi karbohidrat. Untuk mengidentifikasi *Pseudomonas aeruginosa*, morfologi koloni biasanya digunakan. Adanya oksidase positif ditunjukkan dengan adanya pigmen khas dan pertumbuhan pada suhu 42°C (Jawetz *et al.*, 2019).

2.2.3.1 Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menurut Todar (2018) sebagai berikut.

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gamma Proteobacteria
 Ordo : Pseudomonadales
 Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.3.2 Patogenesis *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa bersifat patogen hanya ketika dimasukkan ke area tanpa pertahanan normal, seperti ketika membran mukosa dan kulit terganggu oleh kerusakan jaringan langsung, seperti ketika terjadi luka bakar, pemakaian kateter intravena atau urin, atau ketika terdapat neutropenia, seperti pada kanker kemoterapi. Bakteri menempel dan mengkolonisasi membran mukosa atau kulit menyebabkan infeksi lokal dan penyakit sistemik seperti infeksi aliran darah. Pili, enzim, dan toksin *Pseudomonas aeruginosa* membantu proses ini. Lipopolisakarida berperan langsung dalam menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis dan leukopenia, disseminated intravascular coagulation, dan adult respiratory distress syndrome. Salah satu faktor yang meningkatkan virulensi organisme ini adalah kecenderungan untuk membentuk biofilm di lumen kateter dan di paru-paru pasien CF (*cystic fibrosis*) (Jawetz *et al.*, 2019).

2.2.3.3 Manifestasi Klinis dari Infeksi *Pseudomonas aeruginosa*

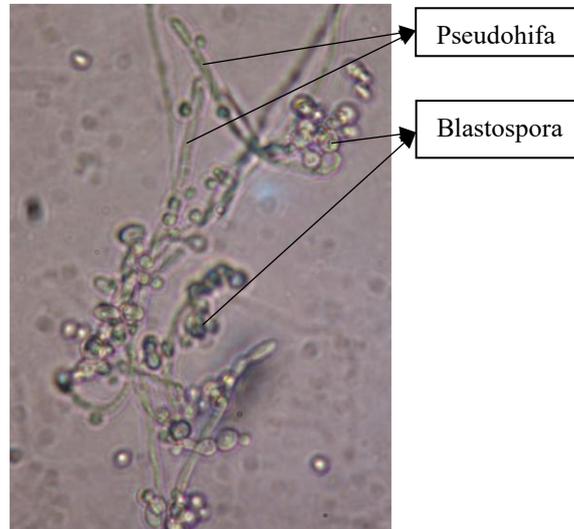
Pseudomonas aeruginosa sering menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar yang dapat menimbulkan nanah berwarna biru kehijauan, pada pasien meningitis saat dilakukan pungsi lumbal atau selama prosedur bedah saraf, infeksi saluran kemih saat dimasukkan melalui kateter, dan instrumen atau dalam larutan irigasi. Bila saluran pernapasan terlibat, terutama melalui penggunaan alat bantu pernapasan yang terkontaminasi, dapat menyebabkan pneumonia nekrotikans. Pada pasien CF (*cystic fibrosis*), bakteri ini menyebabkan pneumonia kronis,

penyebab yang signifikan pada morbiditas dan mortalitas. Selain itu, *Pseudomonas aeruginosa* juga sering ditemukan pada otitis eksterna ringan pada perenang yang dapat menimbulkan komplikasi berupa otitis eksterna invasif (ganas) pada pasien diabetes. Infeksi pada mata dapat menyebabkan kerusakan yang cepat dan paling sering terjadi setelah cedera atau pembedahan prosedur. Pada bayi atau individu yang lemah imunitasnya, *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyerang aliran darah dan mengakibatkan sepsis yang berakibat fatal. Biasanya terjadi pada pasien dengan leukemia atau limfoma yang telah menerima obat antineoplastik atau terapi radiasi dan pada pasien dengan luka bakar serius. Dalam sebagian besar kasus infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, gejala dan tandanya tidak spesifik dan bersifat spesifik berhubungan dengan organ yang terlibat. Terkadang, produk pemecah hemoglobin seperti verdoglobin atau pigmen fluoresen dapat dideteksi pada luka, luka bakar, atau urin dengan sinar ultraviolet fluoresensi. Nekrosis hemoragik pada kulit sering terjadi pada sepsis yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Lesi yang disebut ektima gangrenosum, dikelilingi oleh eritema dan seringkali tidak mengandung nanah. *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada spesimen yang diwarnai dengan pewarnaan gram. Ecthyma gangrenosum jarang terjadi pada bakteremia yang disebabkan oleh organisme selain *Pseudomonas aeruginosa*. Suatu bentuk folikulitis terkait dengan kolam air panas dan kolam renang yang memiliki tingkat klorinasi buruk kolam dapat dilihat pada orang yang sehat (Jawetz *et al.*, 2019).

2.2.4 *Candida albicans*

Dalam kultur atau jaringan, spesies *Candida* tumbuh berbentuk oval, bertunas sel ragi (berukuran 3–6 μm). Jamur ini juga membentuk

pseudohifa ketika tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel memanjang yang terjepit atau menyempit di septasi antar sel (Jawetz *et al.*, 2019).



Gambar 2.5 *Candida albicans* (Jawetz *et al.*, 2019).

Berbeda dengan spesies *Candida* lainnya, *Candida albicans* memiliki sifat dimorfik, artinya selain membentuk ragi dan pseudohifa, jamur ini juga dapat menghasilkan hifa sejati. Pada media agar atau setelah 24 jam inkubasi pada suhu kamar atau 37°C, *Candida* spesies membentuk koloni berwarna krem dengan tekstur lembut serta mengeluarkan aroma khas ragi. Pseudohifa biasanya terlihat sebagai pertumbuhan yang masuk ke dalam permukaan agar. Terdapat dua metode morfologi sederhana untuk membedakan *Candida albicans*, yang merupakan spesies paling umum penyebab infeksi, dari jenis *Candida* lainnya. Pertama, setelah inkubasi dalam serum selama sekitar 90 menit pada suhu 37°C, sel ragi *Candida albicans* akan mulai membentuk hifa sejati atau tabung kuman. Kedua, dalam media dengan kandungan nutrisi rendah, *Candida albicans* dapat menghasilkan klamidospora berukuran besar dengan bentuk bulat (Jawetz *et al.*, 2019).

2.2.4.1 Klasifikasi *Candida albicans*

Klasifikasi jamur *Candida albicans* menurut Waluyo (2016) sebagai berikut.

Kingdom : Fungi
Filum : Ascomycota
Kelas : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Famili : Saccharomyceyaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans*

2.2.4.2 Patogenesis *Candida albicans*

Infeksi *C. albicans* pada umumnya merupakan infeksi oportunistik, dimana penyebab infeksi dari flora normal host atau dari mikroorganisme penghuni sementara ketika host mengalami kondisi immunocompromised. Dua faktor penting pada infeksi oportunistik adalah adanya paparan agent penyebab dan kesempatan terjadinya infeksi. Faktor predisposisi meliputi penurunan imunitas yang diperantarai oleh sel, perubahan membran mukosa dan kulit serta adanya benda asing (Lestari, 2010).

Selain host mengalami kondisi immunocompromised, *C. albicans* juga mengandung faktor virulensi yang dapat berkontribusi terhadap kemampuannya untuk menyebabkan infeksi. Faktor virulensi utama meliputi; permukaan molekul yang memungkinkan adheren organisme pada permukaan sel host, asam protease dan fosfolipase yang terlibat dalam penetrasi dan kerusakan dinding sel, serta kemampuan untuk berubah bentuk antara sel yeast dengan sel hifa (Lestari, 2010).

2.2.4.3 Manifestasi Klinis dari Infeksi *Candida albicans*

Tiga jenis infeksi *Candida* adalah candidiasis superfisial, candidiasis mukokutan, dan candidiasis sistemik. Candidiasis superfisial menyerang mukosa, kulit dan kuku, sedangkan candidiasis mukokutan menyerang kulit dan mukosa rongga mulut atau vagina. Candidaemia dapat muncul di traktus respirasi bawah dan traktus urinari pada candidiasis sistemik. Sering ditemukan di endokardium, meninges, tulang, ginjal dan mata. Penyebaran penyakit yang tidak diterapi dapat menyebar dan berakibat fatal (Lestari, 2010).

2.3 Antimikroba

Antimikroba merupakan zat yang dihasilkan mikroba yang bersifat bakteristatik (menghambat) atau bakterisidal (membunuh) pertumbuhan mikroorganisme lain. Antibiotik yang berfungsi untuk mengobati infeksi pada tubuh manusia harus memiliki tingkat toksisitas yang tinggi, artinya obat tersebut harus sangat beracun bagi mikroba, namun tetap aman dan tidak berbahaya bagi manusia sebagai hospes (Gunawan, *et al.* 2016).

2.3.1 Mekanisme Kerja Antibiotik

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dibagi ke dalam 5 (lima) kelompok seperti berikut.

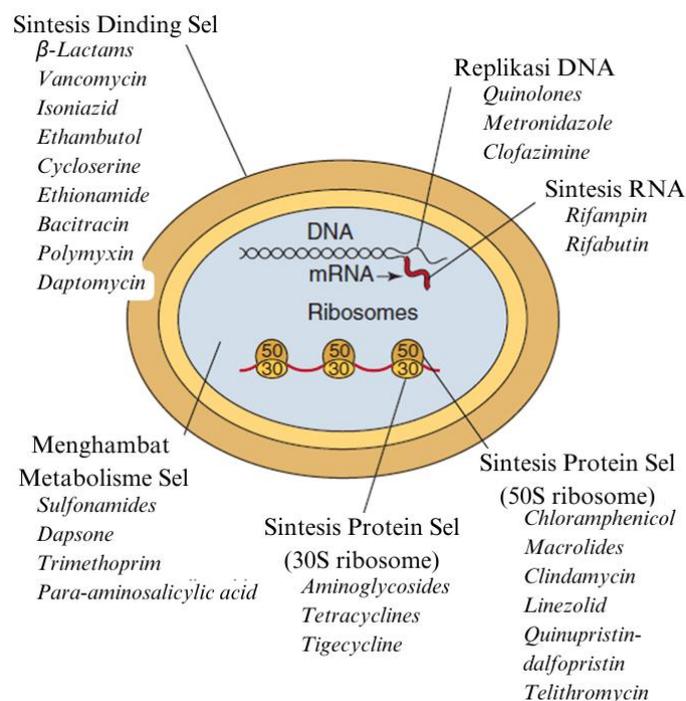
1. Menghambat Sintesis Dinding sel

Bakteri mempunyai dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang merupakan kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Lapisan ini berfungsi untuk mencegah membran plasma pecah akibat dari tekanan osmotik dalam sel yang lebih tinggi dibandingkan di luar sel yang akan menyebabkan terjadinya lisis. Jika hal tersebut terjadi, efek antibiotik ini disebut

bakterisidal (membunuh bakteri). Golongan antibiotik yang bekerja menghambat sintesis dinding sel antara lain penicillin, sefalosporin, basitrasin, dan vankomisin (Gunawan, *et al.* 2016).

2. Menghambat Metabolisme Sel

Untuk bisa bertahan hidup, bakteri memerlukan asam folat yang dapat dihasilkan dari sintesis bakteri tersebut. Antibiotik ini berfungsi dengan cara bersaing dengan asam amino benzoat (PABA) dalam proses pembentukan asam folat, apabila antibiotik ini berhasil mengalahkan PABA dalam kompetisi tersebut, maka akan terbentuk analog asam folat yang tidak fungsional. Antibiotik ini bersifat menghambat bakteri atau bakteristatik. Golongan bakteri yang menghambat metabolisme sel adalah golongan sulfonamid, trimethoprim dan p-aminosalisilat (Gunawan, *et al.* 2016).



Gambar 2.6 Mekanisme Kerja Antibiotik (Murray *et al.*, 2016)

3. Mengganggu Keutuhan Membran Sel

Golongan antibiotik tertentu mempunyai kemampuan berinteraksi dengan membran sel dan berfungsi menjadi ionofor yang merupakan suatu bahan kimia spesifik yang memfasilitasi

masuknya ion atipikal ke dalam sel. Mekanisme tersebut berpotensi mengganggu biokimia seluler. Golongan antibiotik yang bekerja dengan mengganggu keutuhan membran sel adalah polimiksin. Polimiksin bekerja sebagai senyawa ammonium-kuaterner yang berpotensi menyebabkan kerusakan membran sel melalui interaksinya dengan fosfat yang ada dalam fosfolipid membran sel bakteri. Kerusakan yang diakibatkan polimiksin membuat bagian dari sel bakteria seperti protein, asam nukleat, dan nukleotida akan keluar dari dalam sel bakteri. Antibiotik ini bersifat bakterisidal. Polimiksin mempunyai efikasi yang lebih besar terhadap bakteri gram negatif (Djide, 2018; Gunawan, *et al.* 2016).

4. Menghambat Sintesis Protein Sel

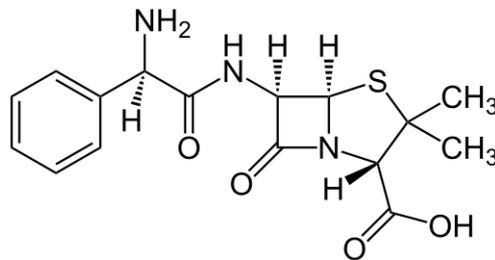
Bakteri melakukan sintesis berbagai protein untuk mempertahankan hidup, sehingga proses ini menjadi sangat penting bagi bakteri. Sintesis protein terjadi di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA, pada bakteri terdiri dari 2 (dua) unit ribosom yaitu ribosom 30S dan 50S. Kedua unit ini akan bersatu di pangkal mRNA menjadi ribosom 70S. Antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis protein sel antara lain golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol (Gunawan, *et al.* 2016).

5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat sel

Golongan rifampisin dan quinolone adalah antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat. Pada rifampisin, derivatnya akan berikatan dengan enzim *polymerase* RNA yang mengakibatkan sintesis RNA dan juga DNA terhambat (Gunawan, *et al.* 2016).

2.3.1.1 Ampicillin

Fleming berhasil menemukan antibiotik pertama, yaitu penisilin, pada tahun 1928 di London, yang sekitar sepuluh tahun kemudian dikembangkan oleh Florey untuk penggunaan sistemik melalui kultur *Penicillium notatum*. Selanjutnya, digunakan *P. chrysogenum* karena mampu memproduksi penisilin dalam jumlah yang lebih besar.



Gambar 2.7 Struktur ampicillin (NCBI, 2023)

Ampicillin termasuk ke dalam golongan aminopenisilin spektrum luas. Namun, rentan terhadap hidrolisis atau dirusak oleh β -laktamase yang diproduksi bakteri gram positif dan negatif. Sehingga, tersedia Ampicillin yang dikombinasi dengan satu dari beberapa inhibitor β -laktam seperti asam klavulanat, sulbactam, atau tazobactam. Penambahan inhibitor β -laktamase akan memperbesar aktivitas berbagai penisilin ini untuk mencakup sebagian dari galur *S.aureus* penghasil β -laktamase dan beberapa bakteri gram negatif penghasil β -laktamase (Katzung, Masters dan Trevor, 2023).

2.3.1.1.1 Mekanisme Kerja Ampicillin

Menurut Gunawan, *et al.* (2016) berikut merupakan mekanisme kerja antibiotika betalaktam.

1. Obat bergabung dengan *penicillin-binding protein* (PBPs) pada kuman.

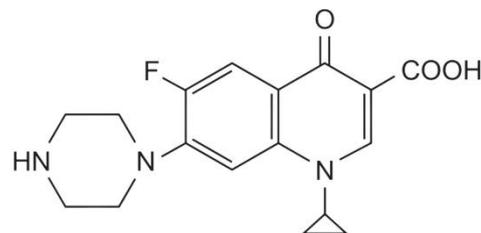
2. Adanya hambatan sintesis dinding sel bakteri karena terganggunya proses transpeptidase antar rantai peptidoglikan.
3. Kemudian pada dinding sel terjadi aktivasi enzim proteolitik.

2.3.1.1.2 Efek Samping Ampicillin

Ampicillin dilaporkan berhubungan dengan kolitis pseudomembranosa. Dapat terjadi infeksi sekunder misalnya kandidiasis vagina. Ampisilin dan amoksisilin dapat menyebabkan ruam kulit yang sifatnya bukan alergik. Ruam ini sering terjadi ketika aminopenisilin secara tidak tepat diberikan untuk suatu infeksi virus. Ruam ini bersifat difus, tidak gatal, berbentuk maculopapular dan bersifat non-urtikarial (Katzung, Masters dan Trevor, 2023).

2.3.1.2 Ciprofloxacin

Pada awal tahun 1980, diperkenalkan jenis antibiotik kuinolon generasi baru yang memiliki atom fluor pada cincin kuinolonnya, sehingga dinamakan fluorokuinolon. Modifikasi struktur ini secara signifikan membuat potensi antibakteri meningkat, memperluas antibakteri, memperbaiki penyerapan di saluran pencernaan, dan memperpanjang durasi efek obat (Hardjasaputra *et al.*, 2014)



Gambar 2.8 Struktur Ciprofloxacin (Katzung *et al.*, 2023)

2.3.1.2.1 Mekanisme Kerja Ciprofloxacin

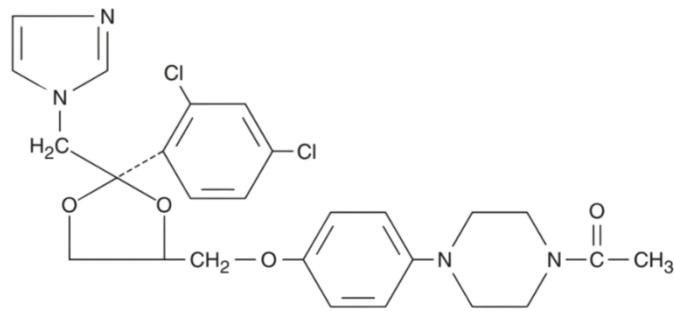
Ciprofloxacin merupakan agen antibiotik generasi kedua yang termasuk dalam turunan sintetis dari golongan kuinolon. Cara kerjanya adalah dengan menghambat enzim DNA *gyrase* pada bakteri, bersifat bakterisidal, serta memiliki spektrum kerja yang luas terhadap bakteri gram positif dan negatif. Ciprofloxacin efektif digunakan untuk mengobati berbagai infeksi seperti infeksi saluran kemih, uretritis, demam tifoid dan paratifoid, infeksi saluran pernapasan, infeksi jaringan lunak, serta osteomyelitis (Rieuwpassa dan Hatta, 2016).

2.3.1.2.2 Efek Samping Ciprofloxacin

Fluorokuinolon umumnya ditoleransi dengan baik. Efek tersering adalah mual, muntah, dan diare. Kadang timbul nyeri kepala, pusing bergoyang, insomnia, ruam kulit, atau gangguan tes fungsi hati (Katzung, Masters dan Trevor, 2023).

2.3.1.3 Ketoconazole

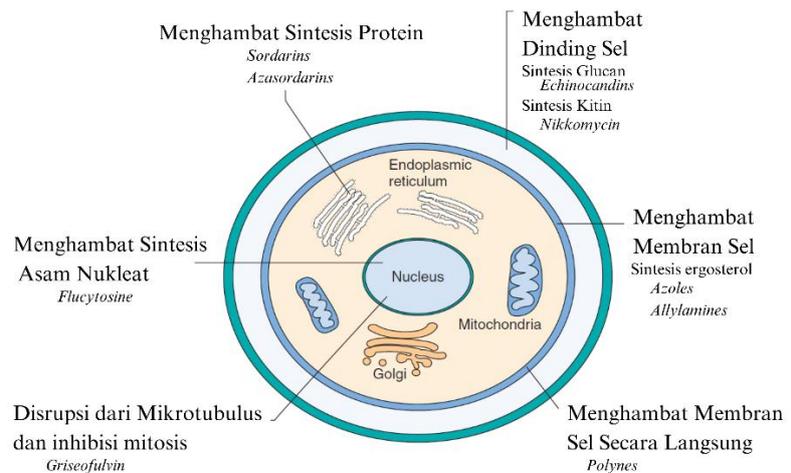
Ketoconazole merupakan golongan azole oral pertama yang diperkenalkan di dunia kedokteran. Azole dapat dikategorikan sebagai imidazole dan triazole. Ketoconazole termasuk ke dalam golongan imidazole yang mempunyai struktur seperti miconazole dan clotrimazole karena memiliki jumlah atom nitrogen di cincin azole yang sama. Ketoconazole memiliki sifat liofilik dan akan larut dalam air jika pH asam (Gunawan, *et al.* 2016; Katzung, Masters dan Trevor, 2023).



Gambar 2.9 Struktur Ketoconazole (Katzung *et al.*, 2023)

2.3.1.3.1 Mekanisme Kerja Ketoconazole

Ketoconazole akan memengaruhi permeabilitas membran sel fungi yang sensitif dengan perubahan biosintesis lemak, khususnya ergosterol. Ketoconazole akan mereduksi sintesis ergosterol oleh inhibisi enzim sitokrom P450 (Katzung, Masters dan Trevor, 2023).



Gambar 2.10 Mekanisme Kerja Antijamur (Murray *et al.*, 2016)

2.3.1.3.2 Efek Samping Ketoconazole

Efek samping yang paling sering jika meminum ketoconazole oral adalah mual dan muntah sedangkan efek seperti sakit kepala, vertigo, nyeri epigastric, fotofobia, pruritus, parestesia, gusi berdarah, erupsi kulit dan trombositopenia lebih jarang terjadi.

Ketoconazole bisa meningkatkan aktivitas enzim hati dan bahkan dapat terjadi hepatotoksisitas berat pada wanita dengan umur lebih dari 50 tahun. Pada sejumlah pria dapat terjadi ginekomastia sedangkan pada kurang lebih 10% wanita terjadi menstruasi yang tidak teratur. Ketoconazole sebaiknya juga tidak diresepkan kepada wanita hamil serta menyusui karena obat ini dapat disekresikan oleh ASI (Gunawan, *et al.* 2016).

2.3.2 Resistensi Antibiotik

Antibiotik resistensi diartikan sebagai perubahan tingkat kepekaan mikroorganisme akibat paparan antibiotik, sehingga mikroorganisme tersebut menjadi lebih sulit dikendalikan dibandingkan dengan strain yang sebelumnya masih sensitif (Yenny, 2018).

Menurut Luk *et al.* (dalam Yenny, 2018), beberapa faktor penyebab terjadinya resistensi antibiotik adalah sebagai berikut.

- a) Penggunaan antibiotik yang berlangsung lama, yaitu lebih dari 12 minggu, dan dosis yang diberikan di bawah rekomendasi.
- b) Monitoring terbatas.
- c) Ketidapatuhan pasien dalam meminum obat.
- d) Transmisi komunitas, maksudnya yaitu penyebaran strain resisten dapat terjadi akibat interaksi atau kontak dekat antar individu.

Menurut Gunawan *et al.* (2016), resistensi dapat menyebar antar bakteri secara vertikal atau horizontal dari sel donor. Ada empat cara resistensi dapat ditransmisikan antara bakteri.

- a) Mutasi, di mana gen bakteri mengalami perubahan yang mengubah binding site antibiotik, protein transport, atau protein yang mengaktifkan obat.
- b) Transduksi, apabila bakteri memperoleh DNA dari bakteriofag yang memiliki gen resisten terhadap antibiotik.

- c) Transformasi, bakteri mengambil DNA bebas yang memiliki resistensi terhadap antibiotik
- d) Konjugasi, terjadi karena adanya perpindahan gen resisten secara langsung dari satu bakteri ke bakteri lain melalui sebuah penghubung yang disebut pilus seks.

2.4 Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)

Terdapat tiga spesies yang berasal dari genus *Rhizophora* yaitu *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronate*, dan *Rhizophora stylosa*. *Rhizophora apiculata* atau bakau minyak merupakan mangrove yang umumnya ditemukan tumbuh di area berlumpur dengan tekstur halus, lapisan tanah yang dalam, serta sering tergenang air ketika pasang surut. Selanjutnya, tidak menyukai substrat pasir yang lebih keras, memiliki tingkat dominasi 90%, menyukai perairan pasang surut, dan sangat dipengaruhi oleh pasokan air tawar yang kuat, yang menyebabkan pertumbuhan yang lambat dan berbunga sepanjang tahun (Kusumadewi dan Idrus, 2023; Nasrullah, 2016).

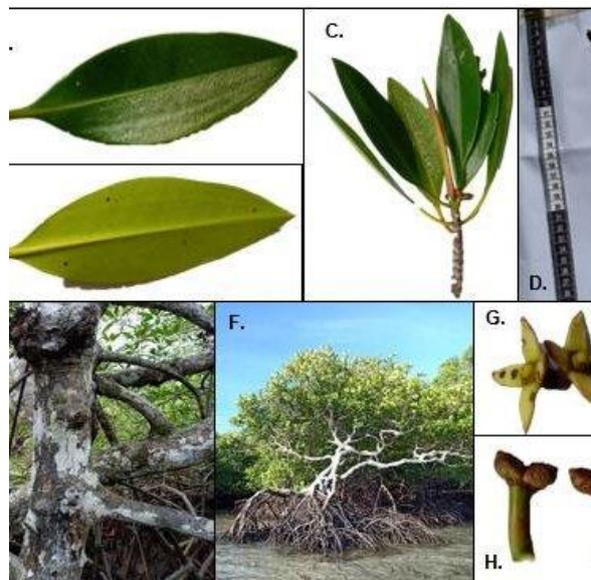
2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)

Rhizophora apiculata atau bakau minyak adalah salah satu tumbuhan bakau yang paling umum di pesisir pantai dan termasuk dalam family *Rhizophoraceale*, genus *Rhizophora*, dan spesies *Rhizophora apiculata* sp. Berikut merupakan klasifikasi dari bakau minyak (Hadi *et al.*, 2016):

Kingdom : Plantae
 Phylum : Magnoliopsida
 Class : Magnoliophyta
 Ordo : Myrtales
 Family : Rhizophoraceae
 Genus : Rhizophora
 Species : *Rhizophora apiculata*

Bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) adalah jenis tanaman mangrove yang tumbuh seperti pohon. Tanaman ini dapat tumbuh mencapai 30 m

dan diameter batang dapat tumbuh mencapai 50 cm. Batang pokoknya berkayu (*woody, ligneous, lignified*) dengan tipe kayu keras. Kulit kayunya memiliki warna abu-abu tua. Panjang tangkai daun bakau minyak berkisar 10 hingga 50 cm dan berwarna coklat keputihan. Daunnya memiliki bentuk lonjong memanjang dengan pangkal yang tidak berlekuk, tepi daun yang rata, serta ujung yang meruncing disertai duri. Bagian pangkal daun tampak seperti baji, sedangkan bagian bawah tulang daunnya berwarna kemerahan dengan tangkai yang pendek. Panjang daun berkisar 3 (tiga) hingga 13 (tiga belas) centimeter dengan lebar berkisar 1 (satu) hingga 6 (enam) centimeter. Permukaan abaksial memiliki tekstur berwarna putih kehijauan, sedangkan permukaan adaksial tampak lebih gelap dengan nuansa hijau kehitaman dan tampilan daun yang mengkilap. Kuncup berbentuk memanjang berwarna merah atau hijau terletak di ujung stipula atau tangkai daun. Hampir seluruh bagian *Rhizophora* sp. mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tannin (Kusumadewi dan Idrus, 2023; Hadi *et al.*, 2016; Mustofa, 2024; Mustofa, 2022).



Gambar 2.11 Tanaman Bakau (*Rhizophora apiculata*) (Hadi *et al.*, 2016)

2.4.2 Manfaat dan Kandungan Zat Aktif Dalam Daun dan Kulit Batang

Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)

Sebagian besar bagian dari tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) digunakan sebagai obat oleh masyarakat pesisir di Indonesia. Cara yang digunakan masyarakat pesisir untuk mengonsumsinya adalah dengan cara meminum air rebusan buah, bunga, dan daun dari tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*). Bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki kemampuan antimikroba, antiviral, antialergi, antioksidan, dan antitumor karena mengandung senyawa aktif yang bermanfaat (Mustofa dan Anisya, 2020; Mustofa *et al.*, 2019). Senyawa aktif berupa antioksidan alami yang ada pada tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terdapat pada bagian akar, daun, batang ataupun buah. Kandungan senyawa aktif yang disebut dengan senyawa metabolit sekunder dalam bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tannin. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Rhizophora apiculata* memiliki potensi besar untuk dikembangkan menjadi berbagai produk di bidang farmasi, kosmetik kesehatan, dan suplemen nutrisi (Berawi dan Marini 2018; Mutik, 2022).

Dalam penelitian lain, pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman mangrove sudah dijalankan melalui metode skrining fitokimia, yang menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin yang berperan sebagai antioksidan dari sumber luar (Mustofa *et al.*, 2019). Antioksidan eksogen ini berasal dari sumber di luar tubuh, seperti asupan makanan. Pada ekstrak daun bakau, senyawa fenol dan flavonoid berkontribusi secara signifikan sebagai antioksidan dalam uji laboratorium (Mustofa dan Fahmi, 2021). Berikut merupakan peranan dari senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam Tanaman Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*):

2.4.2.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan jenis metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam jaringan tanaman. Senyawa ini mempunyai aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna dan berujung pada kematian sel. Di samping itu, alkaloid juga berperan dalam menghambat sintesis protein yang berdampak pada terganggunya proses metabolisme bakteri. Kelompok senyawa alkaloid mampu menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun gram negatif. Dalam peran sebagai antijamur, alkaloid bekerja dengan merusak membran sel, yakni dengan cara berikatan kuat dengan ergosterol, membentuk pori-pori yang mengakibatkan kebocoran membran sel. Kerusakan ini bersifat permanen dan dapat mengakibatkan kematian sel jamur (Anggraini, 2019; Maisarah, 2023).

2.4.2.2 Flavonoid

Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkalsi atau ikatan hydrogen yakni dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Hasil interaksi flavonoid juga akan menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel. Dalam menghambat fungsi membran sel flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran sel akan rusak dan senyawa intraseluler akan keluar. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri, yaitu dengan mencegah pembentukan energi pada

membrane sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler. Selain memiliki kemampuan antibakteri, flavonoid juga dapat berperan sebagai antijamur. Flavonoid mempunyai gugus hidroksil yang cara kerjanya membentuk kombinasi dengan fosfolipid yang terdapat di membran sel jamur. Sehingga flavonoid bisa menghambat pertumbuhan sel jamur dan meningkatkan permeabilitas membran yang berakibat pada terdenaturasinya sel jamur (Nomer *et al.*, 2019; Agustina *et al.*, 2021).

2.4.2.3 Terpenoid

Mekanisme kerja terpenoid sebagai senyawa antibakteri adalah dengan menyebabkan penurunan permeabilitas membran sel bakteri yang disebabkan senyawa terpenoid yang akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri. Lalu membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin yang menjadi pintu keluar masuk senyawa sehingga mengurangi permeabilitas membran sel bakteri. Akibatnya sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan dapat mati. Terpenoid sebagai antijamur bekerja dengan cara merusak membran sel. Kerusakan yang terjadi di membran sel akan mengganggu komponen seluler sehingga menyebabkan proses respirasi jamur terganggu dan akhirnya berakibat pada tidak tercukupinya energi untuk transport aktif hingga pertumbuhan jamur akan terganggu (Nurulita *et al.*, 2022; Rustanti dan Fatmawati, 2019).

2.4.2.4 Steroid

Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri. Steroid dapat berinteraksi

dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis. Sedangkan sebagai antijamur, steroid memiliki mekanisme yang sama persis dengan antibakteri yaitu dapat merusak membran lipid dan berinteraksi dengan membran fosfolipid sehingga jamur akan lisis (Anggraini, 2019; Subaryanti *et al.*, 2022).

2.4.2.5 Saponin

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sel, sehingga meningkatkan permeabilitas atau menyebabkan kebocoran membran sel, yang mengakibatkan keluarnya senyawa-senyawa intraseluler dari dalam sel. Sebagai antifungsi, saponin bekerja dengan menurunkan tekanan membran sterol dari dinding sel jamur sehingga terjadi peningkatan permeabilitas sel. Peningkatan ini akan berakibat pada cairan intraseluler tertarik keluar sel sehingga zat metabolisme, enzim, protein, serta nutrisi yang berada dalam sel akan keluar dan jamur akan mati (Dwicahmi, 2015; Yulia *et al.*, 2023).

2.4.2.6 Tanin

Tanin berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme mengkerutkan dinding atau membran sel bakteri, sehingga mengganggu permeabilitas sel dan menghambat fungsinya. Sebagai antijamur, tanin bekerja dengan menghambat biosintesis ergosterol, yaitu sterol utama yang disusun oleh jamur dan menjadi bagian penting dari dinding sel. Selain itu, tanin juga mampu menghambat sintesis kitin, yang berperan dalam pembentukan dinding sel, serta merusak membran sel jamur, sehingga menghambat pertumbuhan jamur (Dwicahmi, 2015; Hersila *et al.*, 2023).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk memperoleh zat aktif yang terdapat dalam ekstrak dengan menggunakan pelarut, baik yang bersifat polar maupun non polar, sebagaimana dijelaskan oleh Isnawati dan Agustina (2018). Menurut Ilyas (2018) dalam bukunya, menyatakan bahwa ekstraksi adalah proses pemisahan yang dilakukan dengan perpindahan massa komponen kimia dalam sampel bahan alam ke dalam pelarut.

2.5.1 Ekstraksi Tanpa Pemanasan

Ada dua macam ekstraksi tanpa pemanasan, yaitu:

1) Maserasi

Metode maserasi merupakan sebuah teknik ekstraksi yang melibatkan perendaman bahan baku dalam pelarut menggunakan sebuah bejana yang kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama beberapa waktu tertentu (Nugroho, 2017).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang melibatkan pelarutan senyawa metabolit dengan mengalirkan pelarut yang sesuai melalui bahan atau sampel yang telah ditempatkan dalam alat perkolator (Nugroho, 2017).

2.5.2 Ekstraksi Dengan Pemanasan

Berikut adalah jenis-jenis dari ekstraksi dengan pemanasan

1. Refluks

Ekstraksi dengan reflux adalah teknik ekstraksi panas yang dilakukan dengan proses penguapan pelarut dan kemudian mendinginkannya (kondensasi) untuk diulang secara terus-menerus. Hal ini dilakukan untuk menjaga volume pelarut dalam sistem (Nugroho, 2017).

2. Soxhletasi

Teknik soxhlet merupakan pengembangan dari teknik perkolasi dan refluks dengan menggabungkan keduanya. Caranya dengan menguapkan pelarut lalu mengalirkannya atau menyalurkannya melalui sampel bahan yang terbungkus (Nugroho, 2017).

3. Infudasi

Infudasi merupakan suatu proses umum untuk mengekstrak zat aktif yang larut dalam air dari bahan nabati dengan cara merendamnya dalam air. Pada umumnya, jumlah air yang digunakan adalah dua kali lipat berat bahan, dan campuran ini dipanaskan dalam sebuah bejana air dengan suhu antara 90 hingga 98°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk. Untuk mengatasi kekurangan air, dapat ditambahkan melalui ampasnya. Biasanya, diperlukan 100 bagian sari untuk setiap 10 bagian bahan dalam proses infudasi ini (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

4. Destilasi Uap Air

Metode ekstraksi menggunakan destilasi uap air adalah opsi yang dapat dipertimbangkan ketika ingin mengekstrak zat aktif dari serbuk simplisia yang mengandung komponen dengan titik didih tinggi pada tekanan atmosfer. Proses pemanasan konvensional dapat berpotensi merusak zat aktif tersebut. Oleh karena itu, untuk mencegah kerusakan tersebut, ekstraksi dilakukan melalui destilasi uap air (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

2.6 Metode Uji Aktivitas Antimikroba

Antimikroba merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh atau dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme, zat tersebut mempunyai daya penghambat pertumbuhan mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah sedikit (Widyawati, 2017). Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Brad *et al.*, 2011). Pada metode difusi termasuk di dalamnya metode disk diffusion (tes Kirby dan Bauer), E-

test, ditch-plate technique, serta cup-plate technique. Sedangkan pada metode dilusi termasuk didalamnya metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008).

2.6.1 Metode Difusi

Metode ini mengamati diameter area penghambatan pertumbuhan bakteri akibat penyebaran obat dari titik awal aplikasi menuju area difusi. Prosedur ini dilakukan dengan menanam bakteri pada media agar padat tertentu, lalu menempatkan kertas saring atau cakram yang telah diberi obat di atasnya. Hasilnya diamati dengan mengukur diameter zona bening di sekitar cakram, yang menunjukkan tingkat efektivitas obat dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang diuji (Brad *et al.*, 2011).

Metode difusi diklasifikasikan ke dalam beberapa cara:

a. Metode *disk diffusion* (tes Kirby dan Bauer)

Metode ini menggunakan cakram yang telah mengandung zat antibakteri, lalu ditempatkan di atas media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang akan diuji. Zat antibiotik akan berdifusi ke dalam agar hingga pada jarak tertentu tidak lagi mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Adanya zona bening di sekitar cakram menunjukkan area di mana pertumbuhan bakteri berhasil dihambat oleh agen antibakteri pada permukaan media agar (Harmita dan Maksam, 2008).

b. Metode *E-test (epsilometer)*

Berguna untuk menentukan KHM, yaitu konsentrasi terendah dari suatu agen antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Prosedurnya menggunakan strip plastik yang telah diisi agen antibakteri dengan rentang konsentrasi dari paling rendah hingga paling tinggi, kemudian diletakkan di atas permukaan media agar yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri (Pratiwi, 2008).

c. *Ditch-plate technique* atau cara parit

Metode ini dilakukan dengan meletakkan sampel uji berupa agen antibakteri pada parit yang dibuat dengan cara membelah media agar di bagian tengah cawan petri secara memanjang. Selanjutnya, bakteri uji (maksimal enam jenis) digoreskan menuju arah parit yang telah diisi agen antibakteri tersebut (Prayoga, 2013).

d. *Cup-plate technique* atau *well diffusion* (sumuran)

Prinsip kerja teknik sumuran dilakukan dengan membuat lubang berbentuk bulat pada media agar, sehingga zat antibakteri dapat dimasukkan ke dalam lubang tersebut (Khusuma et al., 2019). Sebelum memasukkan agar dan bakteri ke dalam sumuran, pipet steril terlebih dahulu diletakkan di cawan petri menggunakan pinset. Kemudian ditunggu beberapa saat samapai memadat. Setelah memadat, pipet yang diletakkan di cawan diangkat dengan menggunakan pinset steril (Soleha et al., 2015). Karena zat akan terdispersi dari permukaan atas media hingga ke bawah media, metode ini dianggap cukup efektif (Nurhayati et al., 2020).

2.6.2 Metode Dilusi

Metode ini dijalankan dengan mencampurkan zat antimikroba ke dalam media agar terbentuk beberapa variasi konsentrasi obat, lalu suspensi bakteri uji diinokulasikan ke dalam media tersebut. Tingkat sensitivitas diukur berdasarkan konsentrasi antibiotik terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Soleha, 2015).

Metode dilusi diklasifikasikan ke dalam dua bagian, yaitu:

1. Dilusi Perbenihan Cair (*Broth Dilution Test*)

Dilusi Perbenihan Cair dikelompokkan menjadi dua kategori yaitu mikrodilusi dan makrodilusi. Keduanya memiliki prinsip kerja yang sama, yang membedakannya adalah jumlah volume

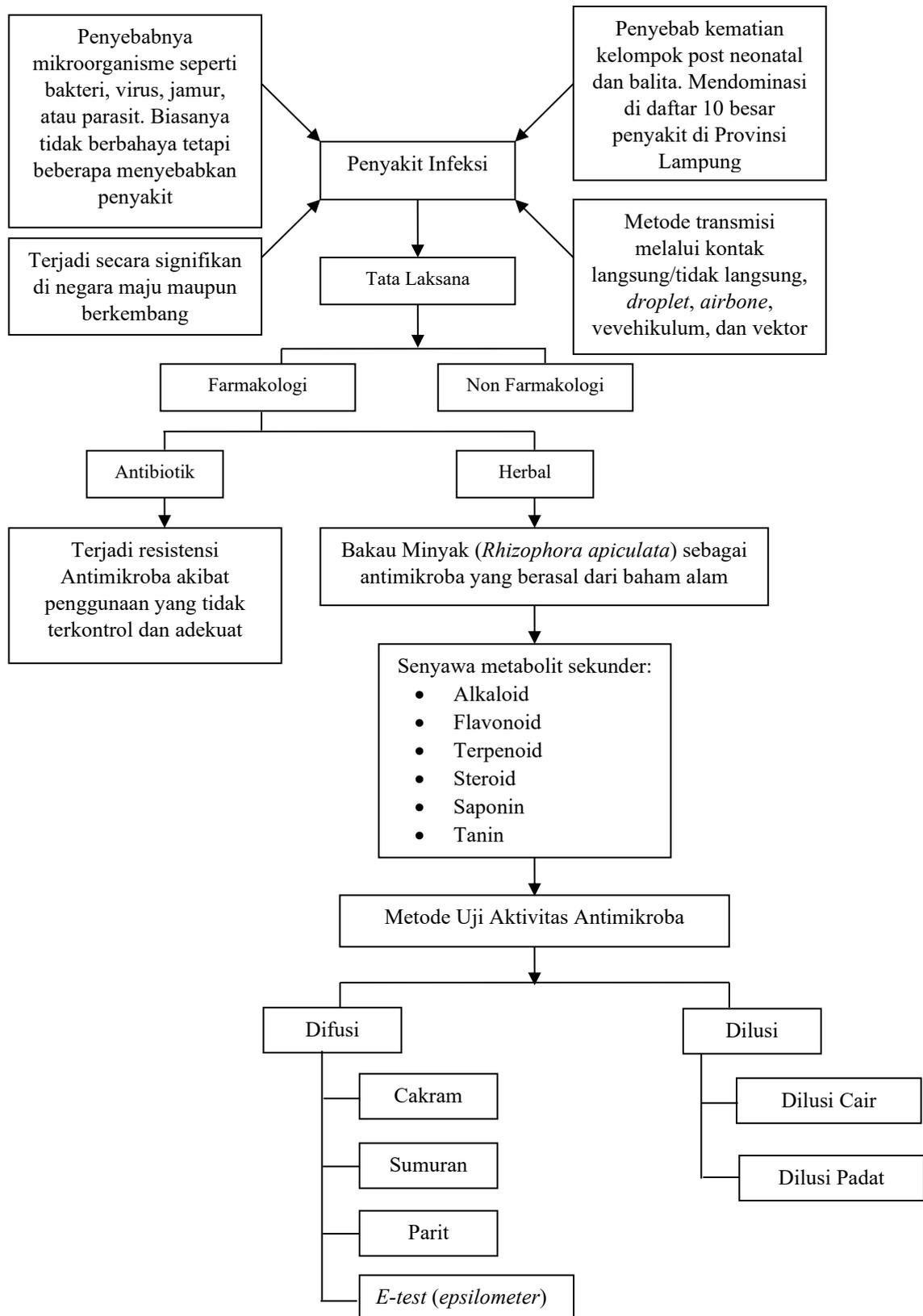
yang akan digunakan. Makrodilusi membutuhkan volume > 1 ml, sementara mikrodilusi menggunakan volume yang lebih kecil, berkisar antara 0,05 hingga 0,1 ml. Dalam metode ini, pengenceran antimikroba yang digunakan biasanya dilakukan dalam satuan $\mu\text{g/ml}$. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan dengan jelas, baik secara visual ataupun melalui peralatan otomatis atau semi-otomatis, disebut sebagai KHM atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Soleha, 2015).

2. Dilusi Perbenihan Padat (*Solid Dilution Test*)

Dalam teknik dilusi agar, antibiotik dengan konsentrasi yang sesuai akan dicampurkan ke dalam agar, sehingga perlu perbenihan agar sesuai dengan jumlah pengenceran dan satu perbenihan tambahan agar digunakan sebagai kontrol tanpa antibiotik. Konsentrasi antibiotik terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dalam pengujian antibiotik ini (Soleha, 2015). Untuk menentukan konsentrasi minimum antibiotik yang dapat membunuh bakteri atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC), bakteri ditanam pada perbenihan cair yang sama yang digunakan dalam uji MIC ke dalam agar. Setelah itu, agar diinkubasi semalam pada suhu 37°C . MBC adalah ketika tidak ada pertumbuhan bakteri lagi pada agar (Soleha, 2015).

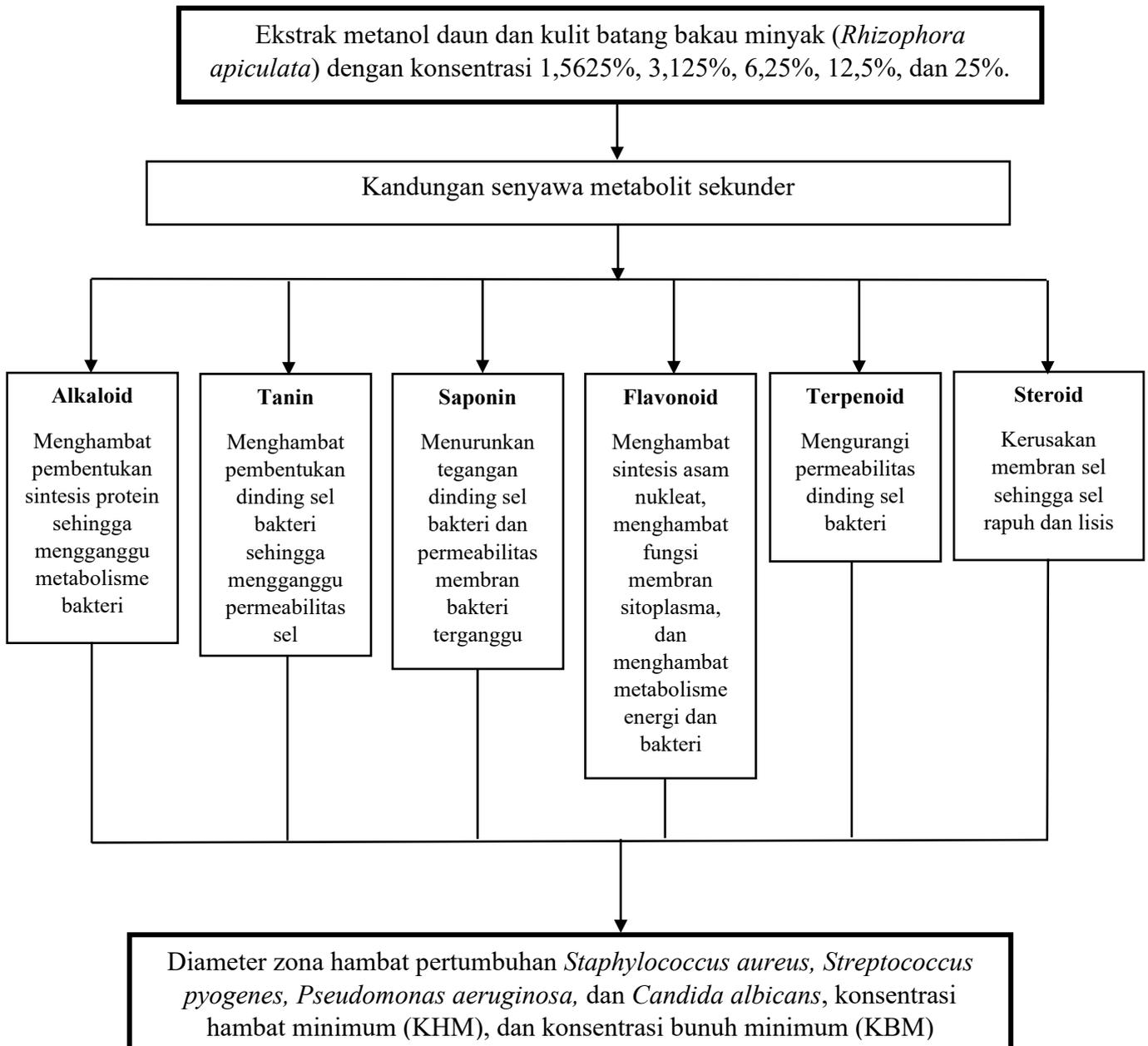
2.7 Kerangka Teori

Tabel 2.1 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Konsep

Tabel 2.2 Kerangka Konsep



Keterangan :

: Variabel yang diteliti

2.9 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H₀₁ : Tidak terdapat aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizopus apiculata*) terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
- H₁₁ : Terdapat aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizopus apiculata*) terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
- H₀₂ : Tidak terdapat aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizopus apiculata*) terhadap konsentrasi hambat minimum (KHM) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
- H₁₂ : Terdapat aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizopus apiculata*) terhadap konsentrasi hambat minimum (KHM) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
- H₀₃ : Tidak terdapat aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizopus apiculata*) terhadap konsentrasi bunuh minimum (KBM) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.
- H₁₃ : Terdapat aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizopus apiculata*) terhadap konsentrasi bunuh minimum (KBM) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental observasional laboratorik. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *well diffusion* (sumuran/difusi agar), dilusi cair (*broth dilution*), dan dilusi padat (*solid dilution*) yang bertujuan untuk mengetahui zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai Februari 2024. Penelitian ini dilaksanakan di tempat berikut.

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung untuk melakukan determinasi tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)
2. Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Formulasi Fakultas Kedokteran serta Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan pengeringan daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)

3. Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran serta Laboratorium Kimia Fakultas Matematika (FMIPA) Universitas Lampung untuk pembuatan ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)
4. UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung untuk uji aktivitas antibakteri dan antifungal

3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian

3.3.1 Mikroba Uji Penelitian

Penelitian ini menggunakan mikroba uji berupa bakteri gram positif, bakteri gram negatif, dan jamur yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* yang diperoleh dari UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung.

3.3.2 Bahan Uji Penelitian

Penelitian ini menggunakan daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang diperoleh dari Desa Purworejo Kecamatan Pasir Sakti Lampung Timur. Daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* yang telah diambil akan dilakukan pencucian dengan air tawar dan dikeringanginkan. Daun yang telah kering dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak untuk mendapatkan ukuran serbuk yang sama (Angraini et. al., 2023; Mustofa et al., 2019).

1 kilogram serbuk daun mangrove kering kemudian dilakukan proses maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:3 selama 3×24 jam. Metanol dipilih sebagai pelarut karena kemampuannya melarutkan hampir seluruh jenis metabolit sekunder. Sebanyak 300 gram serbuk kering ditimbang kemudian dicampurkan dengan 900 mL metanol, kemudian diaduk secara merata menggunakan spatula dan dibiarkan selama 3×24 jam. Sesudah proses maserasi selesai, larutan

disaring menggunakan kertas saring *whatman* nomor 41 untuk memisahkan filtrat dari ampasnya. Selanjutnya, ampas tersebut dimaserasi ulang menggunakan pelarut yang sama sampai filtrat yang dihasilkan tampak hampir jernih (Angraini et. al., 2023).

3.3.3 Media Kultur

Media kultur yang digunakan pada penelitian ini yaitu MHA (*Mueller Hinton Agar*), *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), dan NB (*Nutrien Broth*). MHA serta SDA digunakan untuk mengidentifikasi zona hambat dan mengidentifikasi KBM (Kadar Bunuh Minimum) serta NB digunakan untuk mengidentifikasi KHM (Kadar Hambat Minimum).

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Terikat

Variabel dalam penelitian ini menggunakan variabel terikat yaitu zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

3.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan yaitu ekstrak metanol daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* dalam berbagai tingkat konsentrasi. Konsentrasi yang akan diuji coba adalah 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini sebagai berikut:

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Bebas				
Ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>)	Ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) didapatkan dengan proses maserasi dengan metanol dan dinyatakan dalam persen (%) dimana masing-masing konsentrasi dibuat dengan cara pengenceran.	Menggunakan persanaan: $N1 \times V1 = N2 \times V2$ Keterangan : N1 = Konsentrasi awal V1 = Volume awal N2 = Konsentrasai akhir V2 = Volume akhir	Didapatkan kategorik ekstrak metanol daun dan kulit batang <i>Rhizophora apiculata</i> sesuai dengan konsentrasi 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%	Ordinal
Terikat				
Diameter zona hambat <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , dan <i>Candida albicans</i>	Diameter terluar daerah bening di sekitaran sumuran yang berisi ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) yang menandakan tidak adanya pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , dan <i>Candida albicans</i>	Mengukur diameter terluar zona bening di sekitar sumuran menggunakan jangka sorong	Zona hambat pertumbuhan bakteri dan jamur dalam milimeter (mm) Kategori : • Kategori lemah: ≤ 5 mm • Kategori Sedang: 6-10 mm • Kategori Kuat: 11-20 mm • Kategori Sangat Kuat: ≥ 21 mm	Numerik
Terikat				
Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	Konsentrasi terendah ekstrak metanol	Mengukur konsentrasi terendah yang	Konsentrasi terendah ekstrak (%)	Ordinal

	daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) untuk menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , dan <i>Candida albicans</i>	menghasilkan uji dilusi broth yang jernih		
Terikat				
Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	Konsentrasi terendah ekstrak metanol daun dan kulit batang <i>Rhizophora apiculata</i> untuk membunuh bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , dan <i>Candida albicans</i>	Menentukan konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya koloni bakteri pada uji dilusi agar	Konsentrasi terendah ekstrak (%)	Ordinal

3.6 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan sampel ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan lima macam konsentrasi berbeda yaitu konsentrasi 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampicillin 1% untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, ciprofloxacin 1% untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* serta ketoconazole 2% untuk jamur *Candida albicans* dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Sehingga terdapat 7 (tujuh) kelompok dalam penelitian ini.

Penentuan banyaknya sampel atau pengulangan dalam penelitian ini akan menggunakan rumus Federer (Sastroasmoro S dan Sofyan I, 2014):

$$(n - 1)(k - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(7 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) 6 \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan:

n = banyak sampel (pengulangan)

k = banyak sampel

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer, jumlah ulangan (n) diperoleh sebesar 3,5 dan dibulatkan menjadi 3 untuk meminimalkan risiko kesalahan selama proses percobaan. Artinya, setiap konsentrasi ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*), serta kontrol positif dan negatif, akan diuji sebanyak 3 kali. Dengan demikian, dalam penelitian ini setiap jenis bakteri akan dilakukan sebanyak 21 kali ulangan.

3.7 Kelompok Perlakuan

Tabel 3.2 Kelompok Perlakuan Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Kelompok	Perlakuan
1	K (+)	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ampicillin 1% sebagai kontrol positif
2	K (-)	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan akuades sebagai kontrol negatif
3	P1	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 25%
4	P2	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 12,5%
5	P3	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 6,25%
6	P4	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 3,125%
7	P5	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 1,5625%

Tabel 3.3 Kelompok Perlakuan Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*

No	Kelompok	Perlakuan
1	K (+)	Kelompok <i>Streptococcus pyogenes</i> yang diberikan ampicillin 1% sebagai kontrol positif
2	K (-)	Kelompok <i>Streptococcus pyogenes</i> yang diberikan akuades sebagai kontrol negatif
3	P1	Kelompok <i>Streptococcus pyogenes</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 25%
4	P2	Kelompok <i>Streptococcus pyogenes</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 12,5%
5	P3	Kelompok <i>Streptococcus pyogenes</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 6,25%
6	P4	Kelompok <i>Streptococcus pyogenes</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 3,125%
7	P5	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 1,5625%

Tabel 3.4 Kelompok Perlakuan Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

No	Kelompok	Perlakuan
1	K (+)	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan ciprofloxacin 1% sebagai kontrol positif
2	K (-)	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan akuades sebagai kontrol negatif
3	P1	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 25%
4	P2	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 12,5%
5	P3	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 6,25%
6	P4	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 3,125%
7	P5	Kelompok <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 1,5625%

Tabel 3.5 Kelompok Perlakuan Terhadap Jamur *Candida albicans*

No	Kelompok	Perlakuan
1	K (+)	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan ciprofloxacin 1% sebagai kontrol positif
2	K (-)	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan akuades sebagai kontrol negatif
3	P1	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 25%
4	P2	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 12,5%
5	P3	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 6,25%
6	P4	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 3,125%
7	P5	Kelompok <i>Candida albicans</i> yang diberikan ekstrak daun dan kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) dengan konsentrasi 1,5625%

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Determinasi

Uji determinasi daun dan kulit batang *Rhizophora apiculata* dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung oleh tim Laboratorium Botani.

3.8.2 Persiapan Penelitian

3.8.2.1 Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan alat-alat sebagai berikut:

- a. Handschoen dan masker
- b. Rak tabung dan tabung reaksi
- c. Beker *glass*
- d. Cawan petri
- e. Inkubator
- f. Jarum ose
- g. Pipet
- h. Tabung Erlenmeyer

- i. Lampu Bunsen
- j. Jangka sorong
- k. Penggaris
- l. Autoklaf
- m. Mikropipet
- n. Yellow tip
- o. Kapas alcohol

3.8.2.2 Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan sebagai berikut:

- a. Ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang didapatkan dari hasil ekstraksi di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- b. Antibiotik ampicillin 1%, ciprofloxacin 1%, dan ketoconazole 2% sebagai kontrol positif.
- c. Akuades sebagai kontrol negatif.
- d. Bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Streptococcus pyogenes*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan jamur *Candida albicans* yang didapatkan dari UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung.
- e. *Mueller Hinton Agar* (MHA)
- f. *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)
- g. NB (*Nutrien Broth*).

3.8.3 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara mencuci dan mengeringkan alat yang akan digunakan dalam penelitian. Selanjutnya dibungkus longgar dengan aluminium foil. Setelah dipastikan alat aman untuk disterilkan dengan autoklaf dan tidak ada keretakan, alat dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15-20 menit (Suhartati dan Nuryanti, 2015).

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)

1 kg serbuk daun mangrove kering kemudian dilakukan proses maserasi memakai pelarut metanol dengan perbandingan 1:3 selama 3×24 jam. Metanol dipilih sebagai pelarut karena kemampuannya melarutkan hampir seluruh jenis metabolit sekunder. Sebanyak 300 gram serbuk kering ditimbang lalu dicampurkan dengan 900 mL metanol, kemudian diaduk secara merata menggunakan spatula dan dibiarkan selama 3×24 jam. Sesudah proses maserasi selesai, larutan disaring dengan kertas saring *whatman* nomor 41 untuk memisahkan filtrat dari ampasnya. Kemudian ampas tersebut dimaserasi ulang dengan pelarut yang sama sampai filtrat yang dihasilkan tampak hampir jernih (Mustofa *et al.*, 2018). Persen rendemen ekstrak mangrove menurut Angraini *et al.* (2023) dihasilkan melalui perhitungan dengan rumus berikut:

$$\text{Persen Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat bahan awal}} \times 100\%$$

3.8.5 Pengenceran Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)

Pengenceran dilakukan sebanyak lima kali untuk mendapatkan konsentrasi 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%. Volume ekstrak konsentrasi 100% yang diambil untuk diencerkan dapat dicari dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan:

N1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume yang dicari

N2 = Konsentrasi yang diinginkan

V2 = Volume yang diinginkan

a. Konsentrasi 100%

Pada konsentrasi 100% tidak diperlukan pengenceran dengan menggunakan aquades

b. Konsentrasi 25% didapatkan dari:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 25\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{25\% \times 10 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 2,5 \text{ ml}$$

Artinya, dibutuhkan 2,5 ml ekstrak dicampur 7,5 ml aquades untuk menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 25% dari ekstrak konsentrasi 100%

c. Konsentrasi 12,5% didapatkan dari:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 12,5\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{12,5\% \times 10 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 1,25 \text{ ml}$$

Artinya, dibutuhkan 1,25 ml ekstrak dicampur 8,75 ml aquades untuk menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dari ekstrak konsentrasi 100%

d. Konsentrasi 6,25% didapatkan dari:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 6,25\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{6,25\% \times 10 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 0,625 \text{ ml}$$

Artinya, dibutuhkan 0,625 ml ekstrak dicampur 9,375 ml aquades untuk menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 6,25% dari ekstrak konsentrasi 100%

- e. Konsentrasi 3,125% didapatkan dari:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 3,125\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{3,125\% \times 10 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 0,3125 \text{ ml}$$

Artinya, dibutuhkan 0,3125 ml ekstrak dicampur 9,6875 ml aquades untuk menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 3,125% dari ekstrak konsentrasi 100%

- f. Konsentrasi 1,5625% didapatkan dari:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$100\% \times V1 = 1,5625\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{1,5625\% \times 10 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 0,15625 \text{ ml}$$

Artinya, dibutuhkan 0,15625 ml ekstrak dicampur 9,84375 ml aquades untuk menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 1,5625% dari ekstrak konsentrasi 100%

3.8.6 Uji Fitokimia

3.8.6.1 Uji Senyawa Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan mencampurkan 2 ml ekstrak daun mangrove yang ditambahkan dengan 2 ml HCL dan pereaksi Meyer, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Sampel dinyatakan positif dari uji alkaloid jika terbentuk endapan putih.

3.8.6.2 Uji Senyawa Flavonoid

Uji Flavonoid dilakukan dengan cara mencampurkan beberapa ml ekstrak daun mangrove dengan 5 ml etanol, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCL pekat dan 1,5 gr magnesium. Sampel akan dinyatakan positif dari uji flavonoid jika terbentuk warna merah.

3.8.6.3 Uji Senyawa Tanin

Uji tannin dilakukan dengan cara mencampurkan 2 ml ekstrak dengan FeCl_3 setelah itu ditambahkan 2-3 tetes larutan H_2SO_4 kemudian akan diamati perubahan warna yang terjadi. Sampel akan dinyatakan positif dari uji tannin jika terbentuk larutan berwarna kuning kecoklatan.

3.8.6.4 Uji Senyawa Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara mencampurkan 2 ml ekstrak kemudian ditambahkan 5 ml aquades, selanjutnya dikocok hingga terbentuk busa stabil, kemudian ditambahkan 1 tetes HCL 2N. Sampel akan dinyatakan positif dari uji saponin jika terbentuk busa yang tetap stabil.

3.8.6.5 Uji Senyawa Terpenoid dan Steroid

Pengujian terpenoid dan steroid dilakukan dengan meneteskan filtrat pada pelat tetes dan membiarkannya hingga mengering, lalu ditambahkan satu tetes asam asetat anhidrida dan satu tetes asam sulfat pekat (Pereaksi *Liebermann Burchard*). Sampel dinyatakan positif dari uji triterpenoid jika terbentuk larutan warna merah atau ungu dan positif dari uji steroid jika terbentuk larutan berwarna biru atau hijau.

3.8.7 Pembuatan Media

a. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 34 g serbuk MHA ditimbang lalu dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Larutan tersebut kemudian dipanaskan menggunakan *hotplate stirrer* hingga seluruh bahan larut sepenuhnya, setelah itu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sebanyak 65 g serbuk *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) ditimbang dan dilarutkan ke dalam 1000 mL aquades. Larutan

tersebut kemudian dipanaskan menggunakan *hotplate stirrer* hingga seluruh bahan larut dengan sempurna, lalu disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian dinginkan hingga suhu 45-50 °C dan tuang ke cawan petri.

c. NB (*Nutrien Broth*).

Prosedur pembuatan NB (*Nutrien Broth*) sama dengan prosedur MHA. Tetapi, dalam pembuatan NB, sesudah proses sterilisasi selesai, media dituangkan ke dalam tabung reaksi yang steril, lalu disimpan di dalam lemari pendingin.

3.8.8 Identifikasi Bakteri

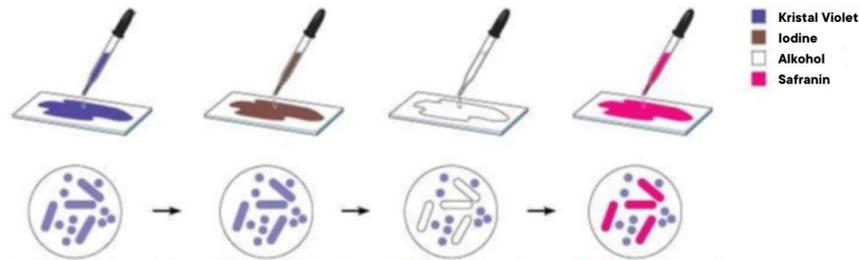
a. Alat dan bahan

1. Isolat bakteri gram positif dan negatif
2. Rak pewarna
3. Ose
4. Pinset
5. Lampu spiritus
6. Spidol permanen
7. Sarung tangan
8. Kaca Objek
9. Zat pewarna primer dan sekunder (kristal violet, safranin)
10. Zat mordan (Iodine)
11. Zat peluntur (etanol 95%)
12. Rak penyimpanan slide atau kotak preparate
13. Air mengalir atau larutan akuades

b. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dijalankan dengan cara memfiksasi spesimen pada kaca objek. Selanjutnya, spesimen diberi pewarna kristal ungu, kemudian ditambahkan yodium untuk membentuk kompleks dengan pewarna primer. Pada tahap dekolorisasi menggunakan alkohol atau aseton, bakteri gram positif mampu mempertahankan kompleks

warna tersebut, sedangkan organisme gram negatif kehilangan warnanya. Setelah itu, gram negatif akan menyerap safranin sehingga tampak berwarna merah (Murray *et al.*, 2016).



Gambar 3.1 Prosedur pewarnaan gram
(Sumber: Aini, 2018)

c. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan H_2O_2 3% pada gelas objek. Kemudian, sedikit bakteri diteteskan pada larutan H_2O_2 3%. Terbentuknya gelembung akan menunjukkan bahwa terjadi pelepasan oksigen yang disebut sebagai hasil positif (Ibrahim A, Fridayanti A dan Delvia F, 2015)

d. Uji Koagulase

Uji koagulase dapat dilakukan melalui dua metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Uji slide, atau dikenal juga sebagai uji clumping factor, dilakukan dengan meletakkan setetes aquadest atau natrium klorida fisiologis steril pada *object glass*, kemudian satu usa biakan yang diuji disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan, keduanya dicampur dengan usa, dan kemudian digoyangkan. Reaksi positif terjadi apabila dalam waktu 2-3 menit terbentuk presipitat regular (Dewi AK, 2013).

Penggunaan uji tabung yaitu untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 μ l plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak tiga hingga empat kolono biakan *Staphylococcus sp.* yang diuji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan kemudian dicampur dengan hati-hati. Tabung dimasukkan ke dalam incubator pada suhu $37^\circ C$. Pengamatan dilakukan selama empat jam pertama dan kemudian antara 18 hingga

24 jam. Jika terbentuk clot atau jelly, reaksi positif akan terjadi. Saat tabung dimiringkan, jelly tetap berada di dasar tabung (Dewi AK, 2013).

3.8.9 Pembuatan Larutan *McFarland*

Larutan *McFarland* dibuat dengan mencampurkan 0,05 mL BaCl₂.H₂O 1,175% dengan 9,95 mL larutan H₂SO₄ 1% sehingga volume akhir menjadi 10 mL, setelah itu dikocok larutannya sampai homogen. Larutan baku *McFarland* akan memiliki nilai absorban sebesar 0,5 yang ekuivalen dengan suspensi sel bakteri konsentrasi 10⁸ CFU/mL (Yaqin dan Nurmilawati, 2015).

3.8.10 Teknik Pembuatan Suspensi Bakteri

Untuk membuat larutan suspensi bakteri, 1 (satu) ose bakteri diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%. Biakan murni di dalam tabung reaksi dan dikocok sampai homogen. Kemudian, kejernihan larutan disamakan dengan larutan standar 0,5 *McFarland* (Misna dan Diana, 2016).

3.8.11 Uji Aktivitas Antimikroba

3.8.11.1 Uji Diameter Hambat dengan Metode *Well Diffusion*

Diameter zona hambat diukur dengan metode *well diffusion* (sumuran). Jika dibandingkan dengan metode cakram, metode sumuran dinilai dapat memberikan hasil yang lebih baik. Prinsip metode sumuran adalah memasukkan zat antibakter ke dalam lubang sumuran. Sebanyak 50 µl ekstrak atau kontrol dimasukkan ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat. Setiap lubang dibagian bawah cawan diberi label untuk membedakan konsentrasi. Media kemudian diinkubasi selama 18 hingga 24 jam pada suhu 37°C (Rezqi, 2017).

Adanya daerah hambatan terang di sekitar sumuran menunjukkan aktivitas antibakteri. Selanjutnya, diameter zona terang diukur dengan penggaris atau jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Diameter zona yang lebih besar menunjukkan daya antibakteri yang lebih besar (Rezqi, 2017). Diameter Zona Hambat dapat dikategorikan berdasarkan diameternya sebagai berikut (Surjowardojo et. al., 2015).

Tabel 3.6 Kategori Diameter Zona Hambat
(Surjowardojo et. al., 2015)

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

3.8.11.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) diuji dengan menggunakan metode makrodilusi, yaitu dengan cara membandingkan kejernihan tabung yang diberi perlakuan dengan kontrol positif dan negatif (Aziz, 2014).

Sebelum dilakukannya uji KHM, siapkan tabung reaksi yang sudah steril dan berikan label perlakuan di masing-masing tabung reaksi. Pada setiap tabung diperlukan media *Nutrien Broth* (NB) sebanyak 3,5 ml, suspensi bakteri sebanyak 0,5 ml yang setara dengan standar McFarland 0,5. Pada tabung perlakuan akan dimasukan ekstrak metanol bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan konsentrasi 1,5625%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% sebanyak 1 ml, sedangkan pada tabung yang berisi kontrol positif diisi dengan antibiotik atau antifungal berupa ampicillin 1%, ciprofloxacin 1% serta ketoconazole 2%, dan kontrol negatif diisi dengan akuades (Munira dan Nasir, 2023).

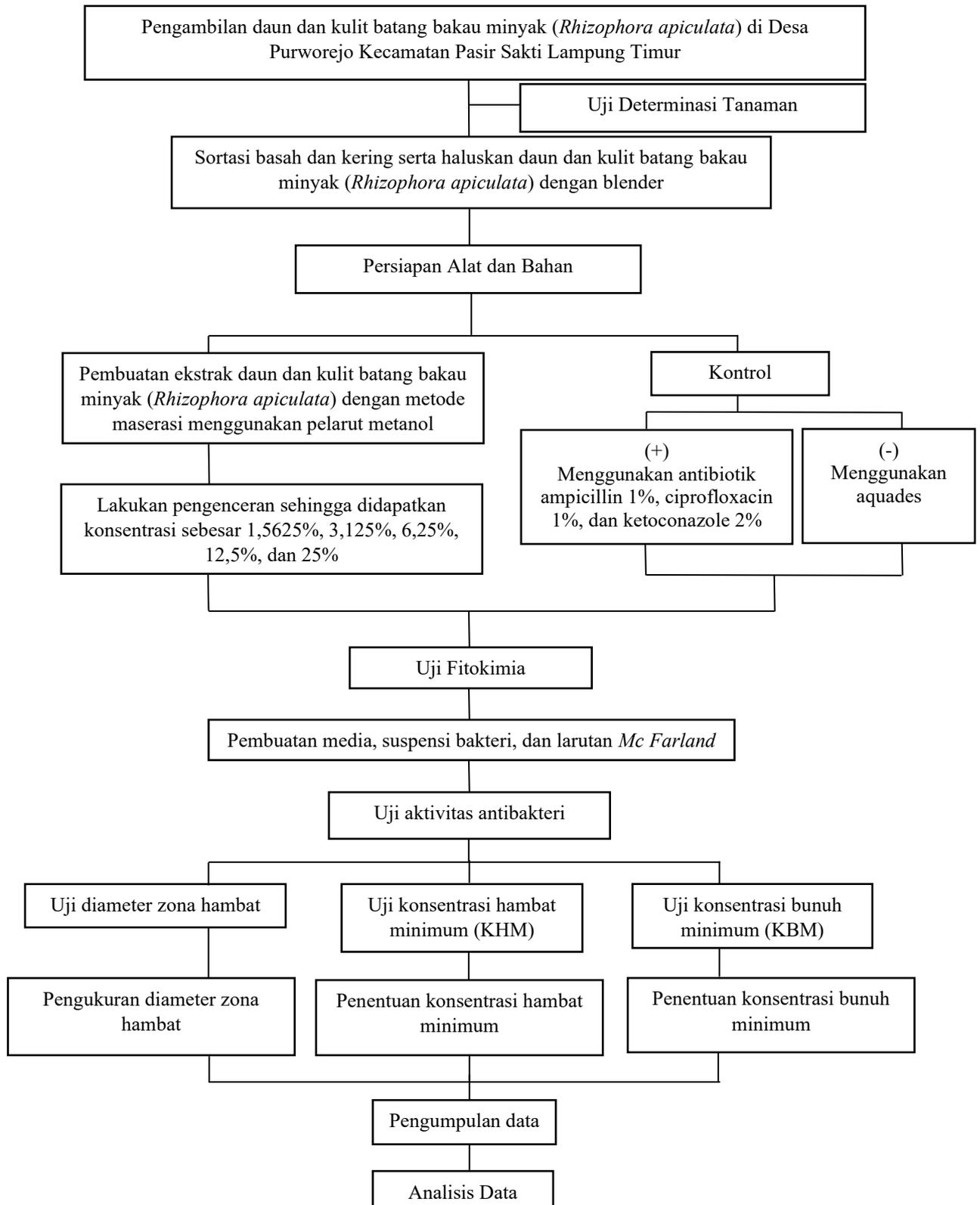
Selanjutnya seluruh tabung perlakuan dan kontrol diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji KHM dinilai secara kualitatif dengan cara melihat kekeruhannya secara visual. Penentuan KHM dengan cara melihat konsentrasi ekstrak paling rendah pada tabung perlakuan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Apabila tabung perlakuan yang berisi ekstrak metanol bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) lebih jernih dibandingkan kontrol negatif maka dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) (Munira dan Nasir, 2023).

3.8.11.3 Uji Konsentrasi Bunuh Maksimal (KBM)

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) diuji dengan menggoreskan kembali hasil dari uji KHM berbagai konsentrasi ke dalam media MHA untuk diinkubasi selama 24 jam. Penentuan hasil KBM yaitu dengan dilihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri di media MHA. Konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah nilai KBM. Apabila tidak ada pertumbuhan koloni di media MHA maka dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mempunyai kemampuan membunuh bakteri uji (bakterisidal) (Aziz, 2014; Munira dan Nasir, 2023).

3.9 Diagram Alur Penelitian

Tabel 3.7 Diagram Alur Penelitian



3.10 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang terkumpul dimasukkan ke dalam komputer dan data akan diolah untuk dianalisis menggunakan aplikasi Statistical Packages for Social Science (SPSS). Analisis univariat dan bivariat digunakan untuk memeriksa data dan hubungan antara variabel penelitian, yang akan dilakukan sebagai berikut.

3.10.1 Analisis Univariat

Penelitian ini menggunakan analisis univariat untuk memberikan deskripsi atau penjelasan tentang karakteristik masing-masing variabel yang tengah diselidiki. Karena penelitian ini menggunakan data numerik, mean dan standar deviasi digunakan untuk analisis. Hasil dari analisis ini menunjukkan normalitas distribusi data, jika p lebih besar dari 0,05 maka data terdistribusi normal dan jika p kurang dari 0,05 maka data tidak terdistribusi normal.

3.10.2 Analisis Bivariat

Analisis Bivariat digunakan untuk menganalisis variabel independen dan variabel dependen. Tujuan dari analisis bivariat adalah untuk mengetahui apakah ada atau tidak pengaruh variasi konsentrasi ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* (Dahlah, 2014; Dhanam *et al.*, 2021).

Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk*. Setelah data menunjukkan berdistribusi normal (nilai $p > 0,05$), Uji *Levenne* digunakan untuk menguji homogenitas. Data dianggap homogen ketika nilai $p > 0,05$. Uji statistic *One Way Anova* digunakan jika data terdistribusi normal dan homogen. Jika data tidak terdistribusi normal dan homogen, uji alternatif *Kruskal-Wallis* dapat digunakan. Diakhiri dengan uji *Post-Hoc* jika ditemukan perbedaan signifikan antar kelompok yang ditandai dengan nilai $p < 0,05$ (Dahlah, 2014; Dhanam *et al.*, 2021).

Berikut interpretasi dari uji statistik:

1. Jika nilai $p < 0,05$ maka hasil bermakna atau signifikan, artinya terdapat perbedaan bermakna antara variabel independent dan dependent, atau hipotesis penelitian diterima
2. Bila nilai $p > 0,05$ maka sampel yang diteliti tidak mendukung adanya perbedaan bermakna antara variabel independent dan dependent, atau hipotesis penelitian ditolak

Analisa Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan observasional laboratorik. Seluruh data yang diperoleh dikumpulkan, kemudian dilakukan input data sehingga menjadi informasi yang akhirnya dapat digunakan untuk menjawab tujuan dari penelitian (Dahlah, 2014; Dhanam *et al.*, 2021).

3.11 Aspek Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik penelitian yang dikeluarkan dari Komite Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan No: 1123/UN26.18/PP.05.02.00/2024 (lampiran 1).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan pada jamur *Candida albicans*, tidak terdapat aktivitas antifungal dari ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).
2. Ekstrak metanol daun bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan konsentrasi sebesar 25% menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan rata-rata diameter zona hambat $11 \pm 0,85$ mm dan termasuk kategori kuat. Sedangkan ekstrak metanol kulit bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan konsentrasi sebesar 12,5% menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan rata-rata diameter zona hambat $13 \pm 2,2$ mm dan termasuk kategori kuat.
3. Konsentrasi hambat minimum (KHM) yang dibutuhkan ekstrak metanol daun bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 6,25%. Sedangkan ekstrak metanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1,5625%

4. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak daun bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) untuk membunuh mikroba (bakterisidal) *Streptococcus pyogenes* adalah 12,5%, namun pada ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan konsentrasi 1,5625% sudah dapat membunuh bakteri *Streptococcus pyogenes*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan:

1. Peneliti selanjutnya dapat meneliti bagian tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) selain dari daun dan kulit batang seperti buah dan kulit akar untuk mengetahui bagian tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang paling kaya akan aktivitas antibakteri dan antifungal.
2. Peneliti selanjutnya dapat melakukan pembuatan ekstrak bahan alam dengan metode selain maserasi seperti perkolasi, refluks, soxhletasi, infudasi, dan destilasi uap air serta mempelajari faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi seperti penggunaan jenis pelarut (polar atau non-polar), pH, suhu, waktu, rasio pelarut dengan bahan alam, dan siklus ekstraksi dan re-ekstraksi sehingga mendapatkan hasil rendemen yang lebih optimal.
3. Peneliti selanjutnya dapat melakukan uji HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk mengidentifikasi serta kuantifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).
4. Peneliti selanjutnya dapat melakukan uji aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap bakteri gram negatif lainnya seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Shigella dysenteriae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Vibrio cholerae*, dan *Campylobacter jejuni* serta jamur lainnya seperti *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida glabrata*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Fusarium oxysporum*, *Cryptococcus neoformans*, dan *Microsporum gypseum* untuk

membandingkan efektivitas antibakteri dan antijamur ekstrak metanol daun dan kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya S, Jali P, Pradhan M, Pradhan Cm Mohapatra PK. 2023. Antimicrobial and antioxidant property of a true mangrove *Rhizophora apiculata* Bl. *Journal Chen Biodivers*. 20(9).
- Afizia WM, Rosidah. 2014. Potensi ekstrak daun jambu biji sebagai antibakterial untuk menanggulangi serangan bakteri. *Jurnal Akuatika*. 3(1), 19-27.
- Agustina E, Andiarna F, Hidayati I, Kartika VF. 2021. Uji aktifitas antijamur ekstrak *Black garlic* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 10(2), 143-157.
- Akasia AA, Putra IDNN, Putra ING. 2021. Skrining fitokimia ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* dan *Rhizophora apiculata* yang dikoleksi dari kawasan mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research Technology*. 4(1), 16-22.
- Alouw GEC, Fatimawali, Lebang JS. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi sumuran. *Pharmacy Medical Journal*. 5(1), 36-44.
- Angraini N, Husna NN, Tosani N. 2023. Pembuatan sampel ekstrak mangrove *Rhizophora apiculata* dengan variasi suhu evaporasi guna pengayaan praktikum bioteknologi laut. *Jurnal Penelitian Sains*. 25(1), 19-23.
- Anggraini W, Nisa SC, Ramadhani R, Ma'arif B. 2019. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal*. 5(1), 61-66.
- Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sudirga SK. 2014. Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe barbandensis* Miller) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi*. XVI (1), 1-4.
- Aziz S. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun dan umbi bakung putih (*Crinum asiticum* L.) terhadap bakteri penyebab jerawat. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

- Balun SVK. 2018. Uji efektivitas ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* [skripsi]. Surabaya: Universitas Brawijaya.
- Bani AA, Amin A, Mun'im A, Radji M. 2023. Rasio nilai rendamen dan lama ekstraksi maserat etanol daging buah burahol (*Stelecocharpus burahol*) berdasarkan cara preparasi simplisia. Makassar Natural Product Journal. 1(3), 176-184.
- Berawi KN, Marini D. 2018. Efektivitas kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai antioksidan. Jurnal Medula. 5(3): 412–17.
- Brooks GF, Carrol KC, Butel JS, Morse SA dan Mietzner TA. 2017. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 27. Jakarta: EGC.
- Bryant AE dan Stevens DL. 2020. Streptococcus pyogenes. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Edisi ke-9. Elsevier Inc: 2285-2299.
- Bulan DE, Nurfadilah N, Syahrir MR, Mismawati A, Torambung AK, Rachmawati M. 2022. Phytochemical composition and antioxidant activity of leaf extracts from three *Rhizophora* species from Bontang Waters, Indonesia. Tropical Journal of Natural Product Research. 6(8), 1178-1182.
- Chandra H, Bishnoi P, Yadav A, Patni B, Mishra AP, Nautiyal AR. 2017. Antimicrobial resistance and the alternative resources with special emphasis on plant-based antimicrobials—a review. Journal Plants (Basel). 6(2), 16.
- Dahlan S. 2014. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi 6. Jakarta: Salemba Medika.
- Dhanam I, Fatmawati N, Budayanti N. 2021. Efek aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. E-Jurnal Medika Udayana. 10(2), 97-105.
- Duke N, Kathiresan K, Salmo S, Fernando, Peras J, Sukardjo S. 2014. *Rhizophora apiculata*. Journal Red List. 5(2), 1-6.
- Gulati M, Nobile CJ. 2016. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. Microbes Infect, 18(5), 310.
- Gunawan SG, Syarif A, Estuningtyas A, Setiawati A, Muchtar A, Arif A *et al.* 2016. Farmakologi dan terapi. Edisi 6. Jakarta : Badan Penerbit FK UI.
- Gupta PD, Birdi TJ. 2017. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. Journal of Ayuverda and Integrative Medicine. 8(4), 266-275.
- Dinas Kesehatan Pemerintah Provinsi Lampung. 2023. Profil kesehatan provinsi lampung 2022. Bandar Lampung: Dinas Kesehatan Pemerintah Provinsi Lampung.

- Djide MN, Sartini. 2018. Dasar-dasar mikrobiologi farmasi. Makassar: Lembaga Penerbit Universitas Hassanudin.
- Dwicahmi P. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* secara in vitro. Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura. 3(1), 1-16.
- Hadi AM, Irawati MH, Suhadi. 2016. Karakteristik morfo-anatomi struktur vegetatis spesies *Rhizophora apiculata* (Rhizophoraceae). Journal Pendidik. 1, 1688–92.
- Hardjasaputra P, G Budi Pranoto, SU Sembiring, dan I. 2014. Data obat di Indonesia. Edisi 10. Gradian Medipress.
- Hersila N, Chatri M, Vauzia, Irdawati. 2023. Senyawa metabolit sekunder (tanin) pada tanaman sebagai antifungsi. Jurnal Embrio. 15(1), 16-22.
- Ibrahim A, Fridayanti A dan Delvia F. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica L.*). Jurnal Ilmiah Manuntung. Vol 1 (2) : 159-163.
- Ilyas, Asriany. 2013. Kimia organik bahan alam. Makassar: UIN Press.
- Indriaty, Djufri, Ginting B, Hasballah K. 2023. Phytochemical screening, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of Rhizophoraceae methanol extract from Langsa, Aceh, Indonesia. Jurnal Biodiversitas. 24(5), 2865-2876.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg' s. 2019. Medical microbiology. Edisi ke-28. United States: McGraw-Hill Education.
- Joegijantoro R. 2019. Penyakit infeksi. Jawa Timur: Intimedia.
- Karga T, Venkatesan A. 2023. Qualitative phytochemical analysis, in vitro antioxidant activities and antimicrobial assessment of methanolic leaf, root, and stem extracts of *Rhizophora apiculata*. European Chemical Bulletin. 12(8), 9827-9845.
- Karga T, Venkatesan A. 2023. Phytochemical analysis of *Rhizophora apiculata* leaf and root extract and its inhibitory action against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. Indian Journal of Natural Sciences. 14(79), 58594-58601.
- Katzung BG, Masters SB, dan Trevor AJ. 2023. Basic and clinical pharmacology. Edisi ke-16. San Fransisco: McGraw Hill Lange.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Pedoman pencegahan dan pengendalian infeksi di fasilitas pelayanan kesehatan. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2022. Profil kesehatan indonesia tahun 2021. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

- Krieg NR. 2014. Bergey manual of systematic bacteriology, infectious diseases in obstetrics and gynecology. Edisi ke-2.
- Lestari PE. 2010. Peran faktor virulensi pada patogenesis infeksi *Candida albicans*. Stomatognathic. 7(2), 113-117.
- Maisarah M, Chatri M, Advinda, Violita. 2023. Karakteristik dan fungsi senyawa alkaloid sebagai antifungi pada tumbuhan. Serambi Biologi. 8(2), 231-236.
- Misna, Diana K. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Galenika Journal of Pharmacy. 2(2), 138-144.
- Mukesh P, Pramod S, Vijay S, Vaishali J, Jadhav BL. 2012. Comparative performance of activity of antimicrobial principles of mangroves *Rhizophora* species along Mumbai coast. Indo Glob Res J Pharm Sci. 2 (4): 42-429.
- Mulia DS, Rahayu SD, Suyadi A, Mujahid I, Isnansetyo A. 2023. Antibacterial activity of mangrove plant extract of *Rhizophora apiculata* in inhibiting the growth of various strains of *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Biodiversitas. 24(9), 4803-4810.
- Ningrum FF. 2018. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar kulit batang mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang.
- Nurulita Y, Yuharmen, Fitri A, Sari IE, Sary DN, Nugroho T. 2022. Identifikasi metabolit sekunder sekresi jamur lokal tanah gambut riau *Penicillium* sp. LBKURCC34 sebagai antimikroba. Chimica et Natura Acta. 10(3), 124-133.
- Munira, Nasir M. 2023. Uji kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dari geothermal le Seum Aceh Besar terhadap *Staphylococcus aureus*. Jurnal SAGO: Gizi dan kesehatan. 4(2), 179-185.
- Murray PR, Rosenthal KS dan Pfaller MA. 2016. Medical Microbiology. Edisi ke-8. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Mustofa S, Adjeng ANT, Kurniawaty E, Ramadhita L, Tamara T. 2024. Influence of *rhizophora apiculata* barks extract on cholesterol, triglyceride, LDL, and HDL levels of *Rattus novergicus* (*Sprague Dawley*) fed high-cholesterol diet. Research journal of pharmacy and technology. 17(1): 396-400.
- Mustofa S, Adli FK, Wardani DWSR, Busman H. 2022. Pengaruh ekstrak etanol daun *rhizophora apiculata* terhadap kolesterol total dan trigliserida *rattus novergicus* galur *sprague dawley* yang diinduksi diet tinggi lemak. Jurnal Kesehatan. 13(3): 472-478.

- Mustofa S, Akbar MY. 2024. Comparison of histology of the kidneys of rats exposed to cigarette smoke after administration of ethanol extract methanol and n-hexane rhizophora apiculata bark; 2024 Agustus 8; Bandar Lampung. Indonesia: ICOMESH.
- Mustofa S, Alfa N, Wulan A, Rakhmanisa A. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95% terhadap arteri koronaria tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague Dawley* yang dipaparkan asap rokok. Jurnal Kedokteran Unila. 3(1): 28–33.
- Mustofa S, Anisya V. 2020. Efek hepatoprotektif ekstrak etanol *rhizophora apiculata* pada tikus yang dipaparkan asap rokok. Jurnal Kedokteran Unila. 4(1):12-17.
- Mustofa S, Caesario B, Oktaria D. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap kadar MDA tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sparague Dawley* yang dipaparkan asap rokok. Medical Profession Journal of Lampung University. 9(1): 43-47.
- Mustofa S, Ciptaningrum I, Zuya CS. 2020. Subacute toxicity test of *rhizophora apiculata* bark extract on liver and pancreas histopathology of rats. Acta Biochimica Indonesiana. 3(2): 89-97.
- Mustofa S, Dewi SN. 2023. *Rhizophora apiculata* bark ethanolic extracts prevents kidney damage caused by cigarette smoke in male rats. Sriwijaya Journal of Medicine. 6(1): 17-23.
- Mustofa S, Fahmi Z. 2021. Efek protektif kardiovaskular ekstrak *rhizophora apiculata* berbagai pelarut pada tikus yang dipaparkan asap rokok. Jurnal Kedokteran Unila. 5(1): 7–15.
- Mustofa S, Hanif F. 2019. The protective effect of *rhizophora apiculata* bark extract against testicular damage induced by cigarette smoke in male rats. Acta Biochimica Indonesiana. 2(1): 23-31.
- Mustofa S, Hutami IP, Sarwindah D. 2024. Acute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on rat liver and kidney histology using fixed dose method. Acta Biochimica Indonesiana. 6(2): 144.
- Mustofa S, Kurniawaty E, Rahmanisa S, Audah KA. 2018. The effect of mangrove (*Rhizophora apiculata*) bark extract etanol on histopathology pankreas of male white rats *sprague dawley* strain exposed to cigarette smoke. Acta Biokimia Indonesiana. 1(1): 7-13.
- Mustofa S, Paleva R. 2023. A Subacute toxicity test of *rhizophora apiculata* stem bark ethanol extract on the number, motility, and morphology of male *rattus novergicus spermatozoa*. Sriwijaya Journal of Medicine. 6(2): 72-78.

- Mustofa S, Tarigan CY. 2023. Efek protektif ekstrak kulit batang bakau rhizophora apiculata terhadap kerusakan histologi paru rattus novergicus yang diinduksi asap rokok. *Jurnal Kesehatan*. 14(2), 241-250.
- Mustofa S, Wardina MA, Malarangeng ANTA. 2023. Review Article: potensi *rhizophora apiculata* sebagai fitofarmaka. *Medical Profession Journal of Lampung*. 13(2): 137-146.
- Mustofa S, Yuniarto AE, Kurniawaty E, Kurniaji I. 2024. The effect of giving mangrove leaf extract (*Rhizophora apiculata*) on the healing of burn wounds in male white rats (*Rattus novergicus*) of the *sparague dawley* strain. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences (IJCBS)*. 25(19): 571-581.
- Mutik MS, *et al.* 2022. Kandungan senyawa bioaktif dan aktivitas biologis ekstrak daun *Rhizophora apiculata* asal perairan teluk awur, jepara. *Jurnal Kelautan Tropis*. 25(3), 378-390.
- National Center for Biotechnology Information. 2023. PubChem Compound Summary for CID 6249 Ampiciliin.
- Nizet V dan Arnold JC. 2018. Streptococcus pyogenes (Group A Streptococcus). *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. Edisi ke-5. Elsevier Inc: 715–723.
- Nomer NMGR, Duniaji AS, Nocianitri KA. 2019. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(2), 216-225.
- Nugroho, A. 2017. Buku ajar teknologi bahan alam. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Peters J, Price J, dan Llewelyn M. 2017. Staphylococcal and streptococcal infections. *Medicine (United Kingdom)*. 45(1): 727–734.
- Pratiwi RH. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 4(3), 418-429.
- Purnobasuki H. 2014. Potensi mangrove sebagai tanaman obat prospect of mangrove as herbal medicine. Surabaya: MIPA Unair.
- Radji, M. 2016. Buku ajar mikrobiologi panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rezqi N. 2017. Uji aktivitas bakteri metode difusi sumuran. Banjarmasin: Politeknik Kesehatan Banjarmasin.
- Rieuepassa, Irene E., dan Mochammad Hatta. 2016. Deteksi mutasi gen gyrase a porphyomonas gingivalus resisten terhadap ciprofloxacin berdasarkan teknik polymerase chain reaction. *YARSI Medical Journal*. 17(1): 11-20.

- Rukmini, Siahaan S, Sari ID. 2019. Analisis implementasi kebijakan program pengendalian (studi kasus di RSUP Dr. Wahidin Sudirohisudo, Makassar). *Puslitbang Humaniora dan Manajemen Kesehatan*. 22(2), 106–116.
- Rustanti E, Fatmawati Z. 2019. Uji aktivitas antijamur fraksi n-heksana daun sirsak (*Annona muricata*, L) terhadap *Candida albicans*. *Prosiding Conference on Research and Community Services*. 1(1), 992-997.
- Santoso U, Utari M, Marpaung MP. 2020. Aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak batang akar kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miens) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 20(2), 194-208.
- Sastroasmoro S dan Sofyan I. 2014. *Dasar-dasar metodologi penelitian klinis*. Edisi 5. Jakarta: Sagung Seto.
- Setyawan AD, Winarno K, Purnama PC. 2015. Ekosistem mangrove di Jawa. *Biodiversitas*. 4(2), 133–45.
- Snelling TL dan Carapetis JR. 2019. Group A streptococcus. *Hunter's tropical medicine and emerging infectious disease: edisi ke-10*. Elsevier Inc: 391-401.
- Soleha TU. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik susceptibility test of antimicroba. *Juke Unila*. 5(9): 120–123.
- Subaryanti, Melasari F, Zainuddin R. 2022. Potensi antifungi ekstrak etanol kulit buah pisang bati (*Musa balbisiana* Cola) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Candida tropicalis*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 15(1), 23-30.
- Suhartati R dan Nuryanti D. 2015. Potensi antibakteri limbah tomat (*Lycopersicon esculentum* mill) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Vol 13(1): 107-112.
- Todar K. 2018. *Pseudomonas aeruginosa*. *Todar's Online Textbook of Microbiology*.
- Usman, Adi VJP. 2017. Potensi antijamur ekstrak metanol daun mangrove *Rhizophora mucronata* terhadap jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus Niger*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 15(1), 29-34.
- Waluyo L. 2016. *Mikrobiologi umum*. Malang: Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Wilson MG, Pandey S. 2023. *Pseudomonas aeruginosa*. *StatPearls*.
- Yaqin M dan Nurmilawati M. 2015. Pengaruh ekstrak kopi robusta (*Coffea robusta*) sebagai penghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*: 867-72
- Yenny SW. 2018 Resistensi antibiotik pada pengobatan akne vulgaris. *Media Dermato Venereologica Indonesiana*. Vol 45 (2) : 111-115.

Yoswaty D, Nursyirwani, Nurrachmi I, Marcel A. 2019. Uji antibakteri dan fitokimia dari batang dan daun mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri patogen. Semnaskan-UGM XVI. Manajemen Sumberdaya Perikanan.

Yulia R, Chatri M, Advinda L, Handayani D. 2023. Senyawa saponin sebagai antifungsi terhadap patogen tumbuhan. Serambi Biologi. 8(2), 162-169.