

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Poiret terhadap *Salmonella typhi*, Lignières 1900 (*Enterobacteriaceae:Gammaproteobacteria*)

Mahmiah^{1*}, Serdian Pinaris Rama² dan Pramudita Riwanti²

¹Program Studi Oseanografi, Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah Surabaya

²Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya

Jl. Arief Rachman Hakim No. 150, Surabaya, 60111 Indonesia

Email: mahmiah@hangtuah.ac.id

Abstract

Antibacterial activity of Methanol Extract from Stem bark *Rhizophora mucronata* Poiret against *Salmonella typhi* Lignières 1900 (*Enterobacteriaceae:Gammaproteobacteria*)

Typhoid fever is an acute infectious disease of the small intestine caused by *Salmonella typhi* or *Salmonella paratyphi* A, B and C. Antibiotics commonly used for *Salmonella* infections are fluoroquinolones and tetracyclines. However, *Salmonella* has been resistant to these antibiotics. The many occurrences of antibiotic resistance encourage researchers to find solutions. *Rhizophora mucronata* is a mangrove from the family Rhizophoraceae. Phytochemically, *Rhizophora mucronata* is rich in many kinds of compounds such as tannins, alkaloids, flavanoids, terpenoids and saponins which important in suppressing pathogenic microorganisms. This study aims to determine the antibacterial activity of methanol extract of *Rhizophora mucronata* bark against the growth of *Salmonella typhi* bacteria looked at the clear zone around the well. This research is an experimental laboratory study using the well diffusion method. *Rhizophora mucronata* bark samples were extracted by maceration method. The results is the inhibition zone diameter methanol extract of *Rhizophora mucronata* bark with concentrations of 20%, 40%, 60% and 80% (b/v) classified as moderate (9.22 mm) to strong (13.78 mm), the greater the concentration, the greater the diameter of the inhibition zone.

Keywords: Typhoid fever; *Rhizophora mucronata*; *Salmonella typhi*; resistance; antibacterial

Abstrak

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi* A, B dan C. Antibiotik yang umum digunakan dalam penatalaksanaan infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella* adalah fluoroquinolones dan tetrasiklin. Akan tetapi, *Salmonella* telah mengalami resisten terhadap antibiotik tersebut. *Rhizophora mucronata* merupakan mangrove dari famili Rhizophoraceae. Secara fitokimia, *Rhizophora mucronata* kaya dengan beberapa macam senyawa seperti tannin, alkaloid, flavanoid, terpenoid dan saponin yang berperan penting dalam menekan mikroorganisme patogen. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan melihat adanya zona bening disekitar sumuran. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories dengan menggunakan metode difusi sumuran. Sampel kulit batang *Rhizophora mucronata* dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* dengan konsentrasi 20 %, 40 %, 60 % dan 80 % (b/v) tergolong sedang (9,22 mm) hingga kuat (13,78 mm), semakin besar kosentrasi maka semakin besar juga diameter zona hambatnya.

Kata kunci : Demam Tifoid; *Rhizophora mucronata*; *Salmonella typhi*; antibakteri

PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi* A, B dan C. Penularan demam tifoid melalui fecal dan oral yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Widoyono, 2011). Indonesia merupakan salah satu negara yang rawan terinfeksi penyakit demam tifoid. Hal ini berkaitan dengan iklim yang ada di Indonesia. Menurut Kementerian Kesehatan RI, demam tifoid merupakan salah satu penyakit yang perlu diwaspadai pada musim hujan (Kementerian Kesehatan RI, 2012).

Antibiotik yang umum digunakan dalam penatalaksanaan infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella* adalah fluoroquinolones dan tetrasiklin (Nadila *et al.*, 2017). Akan tetapi, Choi (2011) melaporkan bahwa *Salmonella* telah mengalami resisten terhadap antibiotik tersebut. Selain itu, Sehra (2013) juga menyatakan bahwa bakteri *Salmonella typhi* resisten terhadap beberapa antibiotik seperti, ampicillin, ceftriaxone, dan cotrimaxazole. Banyaknya kejadian resistensi antibiotik mendorong peneliti untuk mencari solusi.

Rhizophora mucronata merupakan mangrove dari famili *Rhizophoraceae*. Secara fitokimia, *Rhizophora mucronata* kaya dengan beberapa macam senyawa seperti tannin, alkaloid, flavanoid, terpenoid dan saponin yang berperan penting dalam menekan mikroorganisme patogen (Ernawati dan Hasmila 2015; Pimpliskar *et al.*, 2011). Menurut Rahman (2017) mekanisme kerja antibakteri masing-masing senyawa yaitu saponin meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis sel, terpenoid merusak membran sel bakteri, sedangkan flavonoid menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.

Penelitian terhadap aktivitas antibakteri dari *Rhizophora mucronata* telah banyak dilakukan. Penelitian yang dilakukan Diana *et al* (2006) menyatakan bahwa uji daya hambat fraksi ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* menjelaskan bahwa

Rhizophora mucronata mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian lain yang dilakukan Kusuma (2011) ekstrak metanol daun dan akar *Rhizophora mucronata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas vulgaris* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pimpliskar (2011) juga menyatakan bahwa ekstrak etanol dari kulit batang *Rhizophora mucronata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* lebih besar daripada ekstrak etanol dari daun *Rhizophora mucronata*. Dan penelitian yang dilakukan Mahmiah *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* yang berasal dari Pantai Timur Surabaya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Aeromonas hydrophyla*.

Berdasarkan penelitian terdahulu perlu dilakukan penelitian terhadap mangrove *Rhizophora mucronata* yang berasal dari Pantai Timur Surabaya berpotensi sebagai antibakteri *Salmonella typhi*. Tahapan yang dilakukan meliputi standarisasi, skrining fitokimia, dan uji aktivitas antibakteri dengan berbagai konsentrasi ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi sumuran dengan Kloramfenikol 0,1% sebagai pembandingnya.

MATERI DAN METODE

Sampel kulit batang *Rhizophora mucronata* dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3 hari. Setelah itu dilakukan pengecilan ukuran menjadi serbuk. Serbuk kulit batang *Rhizophora mucronata* diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3x24 jam.

Uji kualitatif kandungan kimia dalam ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* dilakukan dengan pereaksi kimia untuk mengidentifikasi golongan tanin, saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, dan alkaloid. Standart uji kadar air menurut Departemen Kesehatan RI (2000) yaitu $\leq 10\%$. Standart uji kadar abu menurut Departemen Kesehatan RI (2000), yaitu $\leq 5\%$. Standart uji

susut pengeringan menurut Departemen Kesehatan RI (2000), yaitu $\leq 10\%$.

Untuk uji aktivitas yaitu dengan *Nutrient Agar* (NA) ada dua lapisan yaitu media dasar dan media pembenihan. Media dasar dibuat dengan cara ditimbang *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 2,3 gram, lalu dilarutkan dalam 100 ml aquades (23 g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Sedangkan media pembenihan dibuat dengan cara ditimbang 5,75 gram NA, lalu dilarutkan dalam 250 ml aquades (23 g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Setelah itu, masing-masing media dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Semua media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai memadat (Muljono *et al.*, 2016)

Bakteri *Salmonella typhi* diambil dari isolat bakteri *Salmonella typhi* dengan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri *Salmonella typhi* yang telah diinokulasi diambil menggunakan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2,0 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc. Farland. Standar 0,5 Mc. Farland dapat dibuat dari 0,5 mL larutan BaCl₂ 1% ditambah dengan 9,5 mL larutan H₂SO₄ 1%. (Muljono *et al.*, 2016)

Konsentrasi ekstrak metanol *Rhizopora mucronata* yang digunakan yaitu 20%, 40%, 60% dan 80% (b/v). Cara pembuatan larutan induk yaitu: 25 gram ekstrak metanol kulit batang *Rhizopora mucronata* dilarutkan dalam 25 mL DMSO 0,1 %. Kemudian dilakukan pengenceran untuk membuat larutan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% dengan cara memipet larutan induk 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL dan masing-masing diencerkan dalam 10 ml DMSO 0,1%. (Ernawati dan Hasmila, 2015)

Larutan uji ekstrak metanol kulit batang *Rhizopora mucronata* dengan berbagai konsentrasi (20%, 40%, 60% dan 80%); larutan DMSO 0,1% sebagai kontrol negatif; larutan Kloramfenikol 0,1% sebagai kontrol positif, masing-masing diteteskan pada sumur yang

berbeda sebanyak 50 μ l. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Data hasil rata-rata diameter zona hambat dianalisis uji normalitas dan homogenitas menggunakan *Shapiro-wilk*. Data dikatakan normal apabila mempunyai nilai sig > 0,05. Setelah itu dilakukan uji homogenitas dan data dikatakan homogen apabila mempunyai nilai sig > 0,05. Apabila data normal dan homogen maka dilakukan dengan uji *one-way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan melakukan determinasi tanaman di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Malang dan diperoleh hasil yang menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah *Rhizophora mucronata* Poiret. Bagian tanaman *Rhizophora mucronata* Poiret yang digunakan adalah bagian kulit batang yang diambil di Perairan Pantai Timur Surabaya. Kemudian kulit batang tersebut dilakukan preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Kulit batang dicuci sampai bersih menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan untuk menghindari kerusakan atau hilangnya senyawa aktif yang diinginkan. Penghalusan dilakukan agar luas permukaan sampel semakin besar sehingga kontak sampel dengan pelarut semakin maksimal dan mempermudah pengambilan senyawa aktif oleh pelarut (Khoiriyah *et al.*, 2014).

Serbuk simplisia yang dihasilkan kemudian dilakukan ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol. Hal ini dikarenakan metode ekstraksi maserasi merupakan metode yang menggunakan peralatan sederhana dan tidak menggunakan pemanasan sehingga kandungan metabolit sekunder yang ada tidak terurai. Selain itu juga ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara perendaman sehingga akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Yulianingtyas dan

Kusmartono, 2016). Pada proses ekstraksi ini didapatkan hasil ekstrak yang berwarna coklat kemerahan seberat 128,83 g dan rendemen 10,08 %. Sedangkan digunakan pelarut metanol karena ekstrak dengan pelarut metanol memiliki kandungan flavonoid tinggi yang merupakan salah satu kandungan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri (Suryani *et al.*, 2015). Namun, sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri perlu dilakukan standardisasi dan skrining fitokimia pada ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret.

Standardisasi dilakukan untuk memperoleh bahan baku yang seragam yang akan menjamin aktivitas farmakologi. skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu tanaman (Setyawati *et al.*, 2014; Sulistyawati *et al.*, 2017). Adapun standardisasi yang dilakukan yaitu standardisasi non spesifik meliputi kadar air, kadar abu dan susut pengeringan. Pengujian kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan. Hal ini dilakukan untuk menghindari adanya pertumbuhan mikroorganisme pada ekstrak. Pengujian kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Pengujian susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil dari parameter

standardisasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2. Sedangkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 3 dan Gambar 1. diketahui bahwa ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, terpenoid, flavonoid, saponin dan steroid yang memiliki aktivitas antibakteri.

Tabel 1. Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik

Parameter	Persyaratan (%)	Hasil (%)
Kadar Air	≤ 10	0,967
Kadar Abu	≤ 5	0,396
Susut Pengeringan	≤ 10	1,620

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Uji	Hasil	Keterangan
Tanin	+	Adanya warna hijau kecoklatan
Saponin	+	Adanya busa yang stabil
Flavonoid	+	Timbulnya warna jingga
Alkaloid	+	Adanya kekeruhan
Steroid	+	Adanya warna biru kehijauan
Terpenoid	+	Adanya cincin pink kecoklatan



a



b

Gambar 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata*, (a) uji flavonoid dan (b) uji saponin

Aktivitas antibakteri dalam penelitian ini bertujuan untuk melihat ada aktivitas antibakteriekstrak metanol kulit batang mangrove *Rhizophora mucronata* Poiret terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan metode difusi sumuran dan pembanding Kloramfenikol. Adanya aktivitas antibakteri pada metode ini ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar lubang sumuran. Menurut Valgas *et al.* (2007) menyatakan bahwa untuk uji aktivitas antibakteri dengan bahan alam paling baik menggunakan metode difusi sumuran dikarenakan pada uji aktivitas yang menggunakan disc apabila ada sebagian ekstrak yang tidak larut dalam pelarutnya akan menyebabkan pengendapan dibagian bawah disc sehingga akan mempengaruhi proses difusi ekstrak didalam disc ke agar.

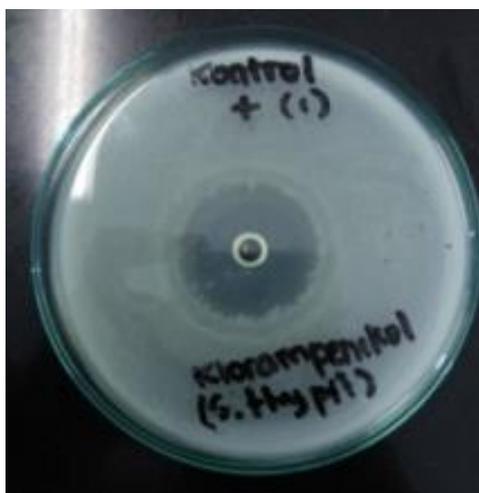
Kontrol negatif yang digunakan yaitu 0,1 % DMSO. DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar dan tidak memberikan zona hambat apabila digunakan dalam konsentrasi dibawah 10 % (Assidqi *et al.*, 2012; Fadlila *et al.*, 2015). Sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol 0,1 %. Menurut Kusumawati *et al.* (2015) menyatakan bahwa Kloramfenikol 0,1 % masih sensitif terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Hasil pengukuran zona hambat kontrol negatif yaitu 0 mm yang menunjukkan bahwa pelarut DMSO 0,1 % tidak mempengaruhi uji aktivitas antibakteri sehingga diameter zona hambat yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa yang ada pada ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret (Gambar 2). Adapun hasil pengukuran zona hambat kontrol positif yaitu 30,41 mm yang menunjukkan bahwa Kloramfenikol 0,1 % memiliki potensi menghambat bakteri *Salmonella typhi* sangat kuat (Gambar 3).

Data diameter zona hambat yang diperoleh dilakukan pengelompokan sesuai pada Tabel 4. dan dilakukan pengujian statistik menggunakan program komputer IBM SPSS versi 22. Adapun aktivitas antibakteri

yang dihasilkan oleh ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret menurut Davis dan Stout tergolong kategori sedang hingga kuat. Pada pengujian statistik dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pertama dilakukan uji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji Shapiro-wilk dimana suatu data dikatakan normal dan homogen apabila memiliki signifikansi $>0,05$. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$ dapat diartikan bahwa data diameter zona hambat yang diperoleh normal dan homogen, sehingga data dapat dilanjutkan dengan uji one-way ANAVA diperoleh nilai signifikansi 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa, terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Berdasarkan data



Gambar 2. Kontrol negatif DMSO 0,1 %



Gambar 3. Kontrol positif Kloramfenikol

Tabel 3. Data Diameter Zona Hambat Ekstrak Metanol Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Poiret

Konsentrasi Ekstrak Metanol Kulit Batang <i>Rhizophora mucronata</i> (% b/v)	Rata-rata ± SD (mm)	Interpretasi
20	9,22 ± 0,03	Sedang
40	10,30 ± 0,30	Kuat
60	12,12 ± 0,19	Kuat
80	13,78 ± 0,71	Kuat
Kontrol Positif Kloramfenikol 0,1%	30,51 ± 0,20	Sangat kuat
Kontrol Negatif DMSO 0,1%	0 ± 0	Lemah

yang telah diolah dapat diartikan bahwa ada aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret adalah tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, steroid dan terpenoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja yang berbeda. Adapun mekanisme kerja antibakteri masing-masing metabolit yaitu saponin meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis sel, 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 flavonoid menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Sapara et al., 2016).

Pada penelitian ini senyawa metabolit sekunder yang bertanggung jawab sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* yaitu flavonoid. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Suryani (2015) menyatakan bahwa ekstrak dengan pelarut metanol memiliki kandungan senyawa flavonoid yang tinggi. Selain itu juga penelitian yang dilakukan oleh Cushnie dan Lamb (2005) menyatakan bahwa mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis

asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkalsi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.

Hal ini juga berbanding lurus dengan mekanisme antibakteri Kloramfenikol yaitu menghambat metabolisme bakteri karena kloramfenikol memiliki beberapa ikatan hidrogen. Akan tetapi, melihat dari kemiripan struktur metabolit sekunder alkaloid dan Kloramfenikol yang keduanya memiliki gugus amina diduga bahwa alkaloid juga memiliki peran terhadap aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

Berdasarkan penjelasan diatas dapat dinyatakan bahwa adanya ikatan hidrogen yang ada pada struktur flavonoid dan adanya gugus amina pada struktur alkaloid merupakan suatu kemiripan dengan Kloramfenikol sehingga ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit batang

Rhizophora mucronata Poiret terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* yang dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora mucronata* Poiret memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong sedang (9,22 mm) hingga kuat (13,78 mm), semakin besar konsentrasi maka semakin besar juga diameter zona hambatnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti berterimakasih kepada Universitas Hang Tuah melalui LPPM-UHT atas pendanaan Penelitian Internal TA 2018/2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W. & Sigit, S. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *J. Mar. Coastal Sc.*, 1(2):113 – 124.
- Choi, J.G., Kang, O.H., Lee, Y.S., Chae, H.S., Oh, Y.C., Brice, O.O., Kim, M.S., Sohn, D.H., Kim, H.S., Park, H. and Shin, D.W., 2011. In vitro and in vivo antibacterial activity of *Punica granatum* peel ethanol extract against *Salmonella*. *Evid. Based Complementary Altern. Med.*, 1-8p. doi: 10.1093/ecam/nep105
- Cushnie, T.T & Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International J. Antimicro. Agents*, 26:343-356.
- Departemen Kesehatan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Ernawati & Hasmila, I. 2015. Uji Fitokimia Dan Aktifitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Mangrove (*Rhizophora Mucronata*). *J. Bionat.*, 16(2) : 98-102.
- Fadlila, W.N., Yuliawati, K.M. & Syafnir, L., 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi KLT Terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* (L.)Schott). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba* : 583-590.
- Kementerian Kesehatan RI. 2012. *Antisipasi Penyakit Menular Saat Banjir*. Jakarta.
- Khoiriyah, S., Hanapi, A. & Fasya, A.G. 2014. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform Dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* Dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Alchemy*, 3(2):133-144. doi: 10.18860/al.v0i1.2914
- Kusuma, S., Kumar, P.A. & Boopalan, K. 2011. Potent antimicrobial activity of *Rhizophora mucronata*. *J. Ecobiotechnol.* 3(11):40-41.
- Mahmiah., Gimani., Nanik Siti Aminah dan Mulyadi Tanjung. 2018. Potential of methanol extract from the stem bark of mangrove *Rhizophora mucronata* against bacteria *Escherichia coli* and *Aeromonas hydrophyl.* *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 162 :1-7.
- Muljono, P., Fatimawali & Manampiring, A.E. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mayana Jantan (*Coleus atropurpureus Benth*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus sp.* dan *Pseudomonas sp.* *J. e-Biomedik (eBM)* 4 (1) : 164-172.
- Nadila, A. & Mita, S.R. 2017. Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Herbal Indonesia Terhadap Bakteri *Salmonella enterica*. *Scientia: J. Farmasi Kesehatan*, 7(2):67-76
- Pimpliskar, M.R., Jadhav, R.N. & Jadhav, B.L. 2011. Study On Antimicrobial Principles Of *Rhizophora* Species Along Mumbai Coast. *J. Aqua. Biol.*, 26(1):6 – 11.
- Rahman, F.A., Haniastuti, T. & Utami, T.W., 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1):1-7
- Sapara, T.U., Waworuntu, O & Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmakon*, 5(4):10-17.
- Sehra, D., Sehra, S., Relia, P. & Sehra, S.T. 2013. An Altered Drug Resistance Pattern in *Salmonella typhi*. *Am. J. Infectious Diseases Microbiol.*, 1(5):84-85. doi: 10.12691/ajidm-1-5-1
- Setyowati, W.A.E., Ariani, S.R.D., Ashadi, M.B. & Rahmawati, C.P., 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durion zibethinus* Murr) Varietas Petruk.

- Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. 271-280.
- Sulistiyawati, R., Nurani, L.H., Hidayati, S., Mursyidi, A. and Mustofa, M., 2017. Standardisasi Kualitas Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.). The 6th University Research Colloquium ISSN 2407-9189 : 67-72.
- Suryani, N.C., Permana, D.G.M. and Jambe, A.A.G.N., 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). Bali: Universitas Udayana.
- Valgas, C., Souza, S.M.D., Smânia, E.F. & Smânia Jr, A., 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Braz. J. Microbiol.*, 38(2):369-380.
- Widoyono. 2011. *Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan, dan Pemberantasannya*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Yulianingtyas, A. & Kusmartono, B. 2016. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *J. Teknik Kim.*, 10(2):58-64.