

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK NIPAH (*Nypa fruticans*) TERHADAP *Vibrio* sp. ISOLAT KEPITING BAKAU (*Scylla* sp.)

Antioxidant and Antibacterial Activities of Nipah (Nypa fruticans) against Vibrio sp. Isolated From Mud Crab (Scylla sp.)

¹Imra*, Kustiariyah Tarman^{1,2}, Desniar¹

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

²Divisi Bioteknologi Kelautan, Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor,
Kampus IPB Baranangsiang, Bogor 16680, Telepon (0251) 8374726, Faks. (0251) 8374839

*Korespondensi: imranmomo@gmail.com

Diterima: 02 Oktober 2016/ Review: 28 November 2016/ Disetujui: 15 Desember 2016

Cara sitasi: Imra, Kustiariyah, Desniar. 2016. Aktivitas antioksidan dan antibakteri nipah (*Nypa fruticans*) terhadap *Vibrio* sp. isolat kepiting bakau (*Scylla* sp.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(3): 241-250.

Abstrak

Nipah (*Nypa fruticans*) potensial sebagai sumber senyawa aktif antioksidan dan antibakteri. Tanaman ini banyak tersebar di pesisir pulau Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua. Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari nipah buah dan daun yang diekstraksi dengan metanol serta toksisitas dan komponen aktif yang terkandung di dalamnya. Metode difusi dan DPPH digunakan masing-masing pada pengujian antibakteri dan antiosidasi ekstrak nipah. Aktivitas antioksidan ekstrak daun nipah lebih efektif (22,50 µg/mL) dibandingkan dengan ekstrak buah (415,00 µg/mL) dan diklasifikasikan sebagai antioksidan yang sangat kuat ($IC_{50} < 50$ µg/mL). Ekstrak daun memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi dengan zona penghambatan bakteri *Vibrio* sp. (8,75 mm) dibandingkan dengan buah (5,25 mm) pada ekstrak 2 mg. Ekstrak kasar terpilih daun nipah memiliki toksisitas yaitu 663,598 µg/mL dan termasuk kategori toksik. Ekstrak kasar terpilih daun nipah mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin, saponin, dan fenol hidrokuinon.

Kata kunci: bioaktif, fitokimia, fraksinasi, toksisitas

Abstract

Nipah (*Nypa fruticans*) is the potential plant for source of active compound such as antioxidant and antibacterial substances. The plants are dispersed in Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku and Papua Island. The aim of this research were determine the antioxidant and antibacterial activity from of nipah (fruit and leaf) that it extraction with methanol, and than determine toxicity and active compound contained in this extract. Diffusion agar and DPPH method were use for antibacterial and antioxidant assay, respectively. Antioxidant activity from nipah's leaf extract was more effective (22,5 µg/mL) than nipah's fruit extract (415 µg/mL). This activity to be classified to the strong antioxidant activity ($IC_{50} < 50$ µg/mL). The antibacterial activity from leaf extract was strong to inhibited *Vibrio* sp. with inhibition zone 8,75 mm. The crude extract of nipah's leaf was toxic with toxicity value is 663,598 µg/mL. Flavonoids, steroids, tanin, saponin and phenol hydroquinone were the active compounds contained in the extract of nipah's leaf.

Keywords: bioactive, fitochemical, fractionation, toxicity

PENDAHULUAN

Nipah (*Nypa fruticans*) merupakan salah satu jenis tanaman bakau berbentuk palem yang umumnya tumbuh di lingkungan hutan

bakau di perairan payau (daerah pasang surut). Luas hutan nipah alami di Indonesia mencapai 4.237.000 hektar (Dinas kehutanan 2012). Hutan nipah tersebar di pesisir pulau

Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Papua. Nipah telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat diantaranya untuk membuat atap rumah, berbagai kerajinan, kayu bakar dan sapu lidi, serta beberapa produk misalnya gula nira, tepung dan makanan olahan. Bagian tanaman nipah juga telah dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional diantaranya obat sakit perut, diabetes dan obat penurun panas dalam oleh masyarakat pesisir perairan Banyuasin Sumatera Selatan. Masyarakat pesisir Aceh mempercayai air rebusan daun nipah berkhasiat sebagai obat sariawan dan sakit gigi. Air rebusan arang akar dan daun nipah di Kalimantan digunakan sebagai obat sakit gigi dan sakit kepala (Mangrove Information Center 2009).

Penelitian sebelumnya diketahui tanaman nipah memiliki kandungan senyawa bahan aktif antioksidan dan antibakteri. Putri *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun nipah dengan pelarut polar metanol 1:5 (b/v) memiliki nilai IC_{50} 17,72 ppm. Effendi dan Suhardi (1998) menyebutkan bahwa *Nypa fruticans* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaes monodon*). Lestari *et al.* (2016) mendapatkan adanya zona penghambatan fraksi etil asetat ekstrak daun nipah terhadap bakteri *Escherichia coli* (9,39 mm) dan *Bacillus cereus* (9,01 mm) pada konsentrasi 1000 ppm. Senyawa-senyawa aktif yang umumnya berperan dalam aktivitas antioksidan yaitu tanin, flavonoid, fenolik, saponin, dan terpenoid. Margaretta *et al.* (2011) menyatakan senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil pada struktur molekulnya yang mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas dan apabila gugus hidroksilnya lebih dari satu maka aktivitas antioksidannya semakin kuat. Ajizat (2004) mengatakan senyawa flavonoid, saponin, terpenoid, fenolik dan tanin juga merupakan senyawa aktif yang berfungsi sebagai senyawa antimikroba. *Nypa fruticans* diduga mengandung komponen yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri.

Kepiting bakau (*Scylla sp.*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang hidup di perairan pantai khususnya di hutan bakau.

Scylla sp. memiliki nilai ekonomis tinggi dan banyak diminati di pasaran baik di dalam maupun luar negeri. Selama ini kebutuhan konsumen akan kepiting bakau sebagian besar masih dari hasil penangkapan di alam yakni di kawasan mangrove dengan substrat berlumpur, yang memungkinkan terjadinya kontaminasi mikroorganisme dari lingkungan habitatnya. Aftabuddin *et al.* (2014) mengemukakan spesies mikroorganisme yang disolasi dari kepiting *Scylla sp.* yakni dari jenis *Vibrio* diantaranya *V. cholerae*, *V. harveyi*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus* dan *V. mimicus*. *V. harveyi* adalah spesies yang dominan terisolasi. Ashofa *et al.* (2014) menyatakan *Vibrio* merupakan patogen yang mengakibatkan kematian kepiting bakau di lingkungan perairan.

Nypa fruticans mampu menghasilkan senyawa antimikroba dan antioksidan yang turut berperan mengendalikan populasi mikroorganisme dan kerusakan bahan sehingga diharapkan penggunaan *N. fruticans* dapat menjadi alternatif untuk mengatasi kontaminan kepiting bakau oleh *Vibrio sp.* dan dapat mempertahankan kelangsungan hidup kepiting bakau tersebut. Kajian tentang senyawa antibakteri untuk menanggulangi infeksi bakteri yang menginfeksi *Scylla sp.* sangat diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dan antibakteri *N. fruticans* terhadap bakteri *Vibrio sp.* isolat kepiting bakau (*Scylla sp.*) serta menentukan toksisitas ekstrak dan komponen dari fraksi senyawa aktif.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan adalah buah dan daun *N. fruticans* serta bakteri *Vibrio sp.* isolat kepiting bakau (*Scylla sp.*). Bahan-bahan lain yang digunakan meliputi bahan kimia untuk ekstraksi dan fraksinasi senyawa aktif, analisis kimia (kadar air dan kadar abu), pengujian antioksidan, fitokimia dan toksisitas. Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah shaker, *vaccum rotary evaporator* IKA RV 05 basic, Spektrofotometer UV-Vis mini 1240, kromatografi lapis tipis (KLT), dan kolom kromatografi (Merck).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap percobaan. Tahap pertama adalah preparasi dan ekstraksi meliputi analisis kimia (kadar air dan kadar abu), pengujian aktivitas antioksidan dan antibakteri, pengujian fitokimia dan toksisitas dari ekstrak terpilih. Tahap dua adalah fraksinasi senyawa aktif ekstrak terpilih.

Preparasi dan Ekstraksi Daun dan Buah Nipah

Preparasi sampel daun nipah dilakukan dengan membuang tulang daun, kemudian memotong kecil-kecil lalu diblender. Sampel buah nipah dipreparasi dengan mengupas kulit buah, kemudian daging buah yang didapatkan dihaluskan dengan menggunakan blender. Daun dan buah yang telah halus kemudian ditentukan komposisi kimianya, antara lain: kadar air dan abu dengan menggunakan metode AOAC (2005).

Ekstraksi pada serbuk dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:5 (b/v), selanjutnya ekstrak difiltrasi untuk memisahkan pelarut dengan sampel. Filtrat yang terkumpul dipisahkan antara pelarut dan ekstrak menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak kasar berbentuk pasta. Hasil ekstraksi menghasilkan ekstrak kasar, yang kemudian ditimbang untuk mendapatkan rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak kasar adalah persentase bobot ekstrak kasar yang diperoleh dalam sampel kering. Hasil ekstraksi tersebut selanjutnya diuji aktivitas antioksidan dan antibakteri sehingga diperoleh kondisi ekstrak terbaik yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan daya hambat tertinggi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Ekstrak kasar terpilih selanjutnya dianalisis fitokimia untuk mengetahui komponen senyawa aktif pada ekstrak tersebut dan diuji toksisitas.

Pengujian Antioksidan (Hanani *et al.* 2005 yang dimodifikasi)

Uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun dan buah nipah dilakukan dengan

menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) pada konsentrasi 250, 500, 750, dan 1000 ppm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif, dan untuk pembandingan dengan masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Aktivitas antioksidan masing-masing sampel dinyatakan dengan persentase penghambatan radikal bebas yang dihitung dengan rumus:

Inhibisi (%) =

$$\frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi dan hambatan ekstrak diplot masing-masing pada sumbu x dan y. Persamaan garis yang diperoleh dalam bentuk $y = b \ln(x) + a$ digunakan untuk mencari nilai IC (*Inhibitory concentration*) dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai IC₅₀.

Pengujian Antibakteri (Moorthy *et al.* 2007)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumur agar. Konsentrasi yang digunakan adalah 0,5; 1,0 dan 2,0 mg masing-masing sebanyak 20 µL. Kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol 300 µg/sumur dan kontrol negatif menggunakan pelarut metanol.

Pengujian Fitokimia (Harbone 1984) dan Toksisitas (Mayer *et al.* 1982)

Ekstrak kasar yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri terbaik kemudian dilakukan analisis fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa aktif pada ekstrak tersebut serta uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Mayer *et al.* 1982) dengan konsentrasi masing-masing 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm dan ditambahkan air laut sampai volume 5 mL.

Fraksinasi Komponen Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Kolom

Fraksinasi senyawa aktif ekstrak *N. fruticans* terpilih dilakukan dalam dua tahap pemisahan. Tahap pertama adalah

pemisahan dengan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen heksana, diklorometana dan etil asetat yang bertujuan untuk mengetahui rasio eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa aktif pada ekstrak kasar terpilih. Tahap kedua adalah pemisahan dengan kolom kromatografi untuk memperoleh fraksi-fraksi senyawa aktif yang kemudian dianalisis aktivitas antioksidan dan antibakterinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Daun dan Buah Nipah

Nipah (*Nypa fruticans*) merupakan tanaman dari subfamili Nipoideae yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang surut dekat tepi laut. Nipah mempunyai akar serabut yang menjalar, batang sangat pendek, kulit tangkai mengkilap dan keras, sedangkan dibagian dalamnya berupa empulur atau gabus. Bunga nipah berwarna kuning jingga. Bagian buah dan daun nipah umumnya digunakan masyarakat baik dikonsumsi langsung, sebagai obat alami, maupun digunakan sebagai bahan baku kerajinan.

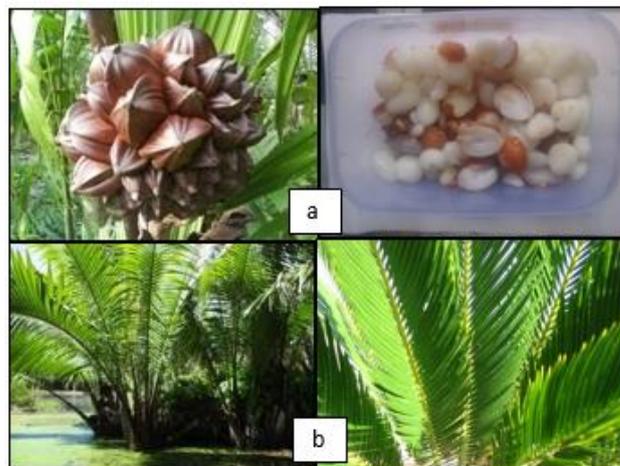
Buah nipah berbentuk berbulat telur dan gepeng dengan 2-3 rusuk, berwarna coklat kemerahan. Buah berkelompok membentuk bola berdiameter sekitar 30 cm. Buah nipah yang muda teksturnya lembek, berwarna bening sedikit keruh pada bagian dalamnya dan berwarna putih seperti kelapa jika sudah tua. Daun nipah mempunyai bentuk seperti janur kelapa, daun muda berwarna kuning dan daun yang sudah tua berwarna hijau (Gambar 1).

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa daun dan buah nipah memiliki kadar air masing-masing sebesar 57,85% dan 58,02%. Ristiana *et al.* (2012) menyatakan buah nipah yang sudah tua memiliki kadar air yang cukup tinggi sebesar 89,05 %. Herman *et al.* (2011) mendapatkan buah nipah tua dan muda yang berasal dari Kaliwanggu Teluk Kendari Sulawesi Tenggara memiliki kadar air masing-masing 41,86% dan 33,49%. Rahman (1991) menyatakan kadar air pada nira nipah berkisar 60-70%. Semakin besar kadar air suatu bahan maka semakin mudah bahan tersebut menyerap air.

Hasil penetapan yang diperoleh diketahui bahwa kadar abu daun lebih kecil (0,08%) dibandingkan buah nipah (3,72%). Buah memiliki kadar abu yang cukup tinggi dimungkinkan karena kandungan mineral yang terkandung pada buah nipah. Hasil penelitian Herman *et al.* (2011) mendapatkan kandungan mineral pada buah nipah cukup tinggi yakni 1,38; 7,92; 3,79; dan 9,24 ppm masing-masing untuk kandungan Fe, Mg, K dan Na. Ristiana *et al.* (2012) mendapatkan kadar abu buah nipah yaitu 0,57%. Herman *et al.* (2011) kadar abu buah nipah muda dan buah tua masing-masing 0,88% dan 1,01%. Heriyanto *et al.* (2011) Tepung buah nipah kering memiliki kadar abu 1,14 persen.

Rendemen Ekstrak Kasar

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan berat hasil akhir ekstrak dengan berat bahan awal sebelum diekstraksi. Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan



Gambar 1 Buah dan daun nipah

komponen senyawa aktif dari suatu bahan campuran dan dapat dilakukan menggunakan pelarut. Putri *et al.* (2013) melaporkan bahwa dimana ekstrak daun nipah dengan pelarut metanol memiliki rendemen ekstrak terbesar yakni 6,6% terbaik dibandingkan pelarut lain. Hasil ekstraksi daun dan buah nipah didapatkan rendemen ekstrak pada buah dan daun masing-masing sebesar 2,67% dan 7,62%. Danata dan Yamindago (2014) melaporkan daun mangrove *Avicennia marina* yang diekstrak dengan pelarut metanol mendapatkan rendemen ekstrak sebesar 5,38%. Trianto *et al.* (2004) menyebutkan daun mangrove *Aegiceras corniculatum* yang di ekstrak dengan metanol didapat rendemen ekstrak sebesar 13,25%. Trianto *et al.* (2004) menyebutkan daun mangrove *Aegiceras corniculatum* yang di ekstrak dengan metanol didapat rendemen ekstrak sebesar 13,25%. Harbone (1984) menyatakan hasil ekstrak akan sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu jenis pelarut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel. Harbone (1987) menyatakan hasil ekstrak yang diperoleh akan sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu jenis pelarut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel. Harbone (1987) juga menyatakan bahwa metanol merupakan pelarut dari golongan alkohol yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat mengekstraksi habis komponen aktif. Menurut Lapornik *et al.* (2005) pelarut metanol mampu mengekstrak komponen yang berasal dari golongan alkaloid, fenolik, karotenoid, tanin, asam amino dan glikosida, selain itu pelarut metanol juga memiliki sifat kurang polar dibandingkan dengan air,

dengan demikian pelarut metanol mampu untuk menghancurkan dinding sel dan menyebabkan komponen-komponen dalam sel hancur dan larut dalam pelarut metanol.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH). Antioksidan asam askorbat digunakan sebagai pembanding dan kontrol positif. Parameter yang umum digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah nilai IC_{50} . Hasil analisis nilai aktivitas antioksidan asam askorbat, ekstrak kasar daun dan buah nipah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu dengan nilai IC_{50} 22,5 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak buah memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC_{50} 415 $\mu\text{g/mL}$. Molyneux (2004) menyatakan Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar 100-150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil yang tertera pada tabel 1 menunjukkan ekstrak daun dan asam askorbat memiliki nilai $IC_{50} > 50$. Ekstrak daun dan asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Ekstrak daun memiliki aktivitas mendekati asam askorbat. Putri *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak daun nipah dengan pelarut bertingkat metanol dengan nilai IC_{50} 17,72 $\mu\text{g/mL}$. Beberapa vegetasi mangrove juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan

Tabel 1 Nilai IC_{50} ekstrak nipah dan standar asam askorbat dengan metode DPPH

Sampel	Garis linear	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Antioksidan
Ekstrak Kasar			
Daun	$y=0,040x + 49,1$	22,50	Sangat kuat
Buah	$y=0,049x - 6,78$	415,00	sangat lemah
Asam askorbat	$y=4,101x+5,033$	10,97	sangat kuat

Tabel 2 Diameter hambat ekstrak daun dan buah nipah terhadap *Vibrio* sp.

(Ekstrak kasar)	Diameter zona hambat (mm)				
	2 mg	1 mg	0,5 mg	(+)	(-)
Daun nipah	8,75	7,50	6,50	25,00	0,00
Buah nipah	5,50	1,63	1,00	22,50	0,00

yang sangat kuat. Sudirman *et al.* (2014) melaporkan ekstrak kasar buah bakau berdaun besar (*Bruguiera gymnorrhiza*) memiliki IC_{50} pada buah tua dan muda masing-masing yakni 13,46 $\mu\text{g/mL}$ dan 81,60 $\mu\text{g/mL}$. Nurjanah *et al.* (2015) mendapatkan IC_{50} yaitu 56,93 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak metanol kulit batang (*B. gymnorrhiza*). Haq *et al.* (2014) melaporkan ekstrak metanol kulit batang *Sonneratia alba* memiliki IC_{50} yaitu 38 $\mu\text{g/mL}$ ppm.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun nipah menghasilkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. yang diisolasi dari kepiting bakau (*Scylla* sp.) pada Gambar 2 dan Tabel 2.

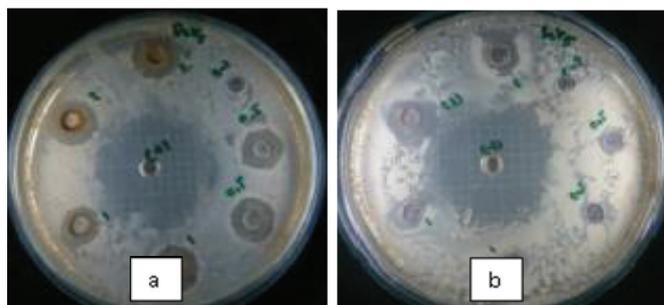
Tabel 2 menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak kasar daun dan buah menggunakan pelarut metanol terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. Aktivitas antibakteri dari ekstrak daun dan buah tergolong sedang pada konsentrasi ekstrak 2 mg yakni 8,75 mm pada ekstrak daun dan 5,5 pada ekstrak buah nipah. Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwa diameter zona hambat >10 mm termasuk kuat, 5-10 mm termasuk kategori sedang dan lemah jika <5 mm. Hasil penelitian lain dimana Danata dan Yamindago (2014) melaporkan ekstrak metanol daun *Avicennia marina* memiliki zona

hambat bakteri *Vibrio alginolyticus* sebesar 5,48 mm. Saptiani *et al.* (2012) menyebutkan ekstrak daun jeruji dengan pelarut metanol dapat menghambat bakteri *Vibrio harveyi* dengan zona hambat sebesar (7,00-7,67 mm) pada konsentrasi 50-800 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil pengamatan pada Gambar 2 menunjukkan penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp. sangat dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif yang terlarut dalam ekstrak daun dan buah nipah. Zona hambat semakin tinggi sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Ajizat (2004) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak sangat tergantung pada konsentrasi dan komponen yang terkandung dalam ekstrak. Ekstrak daun mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Vibrio* sp., sehingga dapat dikembangkan untuk fungsi aktivitas yang lainnya. *Vibrio* sp. digunakan untuk uji potensi antibakteri ekstrak daun dan buah nipah, karena bakteri ini yang paling sering menimbulkan penyakit pada budidaya di tambak. Menurut Saptiani *et al.* (2012), *Vibrio* adalah golongan bakteri gram negatif yang ada di perairan laut yang menyebabkan penyakit serius pada budidaya.

Komponen Aktif Ekstrak Terpilih

Uji fitokimia dilakukan terhadap sampel yang menunjukkan hasil terbaik pada uji antioksidan dan antibakteri. Berdasarkan kedua pengujian tersebut, ekstrak daun

Gambar 2 Uji antibakteri ekstrak daun (a) dan buah (b) nipah terhadap bakteri *Vibrio* sp.

Tabel 3 Komponen bioaktif daun nipah

Ekstrak	Parameter Senyawa	Hasil	Antioksidan
Daun nipah	Fitokimia	Alkaloid	Negatif
		Fenol hidroquinon	Positif
		Tanin	Positif
		Flavonoid	Positif
		Saponin	Positif
		Diterpen	Positif
		Steroid	Positif

nipah merupakan ekstrak terbaik yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri dibandingkan dengan ekstrak buah nipah. Penentuan komponen aktif pada ekstrak daun nipah dilakukan melalui uji fitokimia. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, fenol hidroquinon, dan tanin. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun nipah dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan uji fitokimia (Tabel 3) menunjukkan bahwa ekstrak daun nipah mengandung senyawa kimia aktif antara lain; flavonoid, tanin, fenol hidroquinon, diterpen, steroid dan saponin. Senyawa-senyawa aktif yang umumnya berperan dalam antioksidan dan antibakteri yakni tanin, flavonoid, saponin dan steroid. Ajizat (2004) menyatakan bahwa senyawa flavonoid, saponin, terpenoid, fenolik dan tanin juga merupakan senyawa aktif yang berfungsi sebagai bahan antimikroba. Mekanisme kerja bahan aktif dalam mematikan bakteri dilakukan dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel.

Toksistas Ekstrak Terpilih

BSLT adalah suatu metode yang digunakan untuk menentukan toksistas suatu senyawa. Metode ini bersifat sederhana, mudah dilakukan, murah, cepat, dan

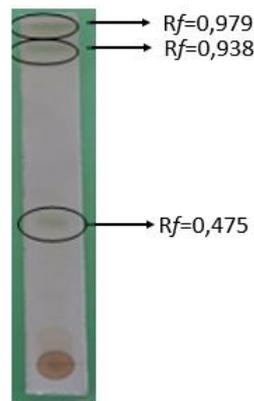
membutuhkan ekstrak dalam jumlah sedikit (Pisutthanan *et al.* 2004). Uji toksistas ekstrak kasar terpilih daun nipah dengan metode BSLT termasuk dalam kategori toksik dengan nilai LC_{50} 663,60 $\mu\text{g/mL}$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC_{50} 30-1000 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak (Carballo *et al.* 2002). Toksistas tanaman berkaitan erat dengan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada didalamnya. Hasil uji fitokimia sebelumnya menunjukkan bahwa pada ekstrak daun nipah positif mengandung senyawa aktif flavonoid, steroid, tanin, saponin dan terpenoid. Senyawa-senyawa aktif tersebut diduga toksik pada kadar-kadar tertentu. Harbone (1987) menyatakan senyawa saponin merupakan salah satu senyawa yang bersifat toksik dapat menyebabkan iritasi pada selaput lendir, bersifat toksis pada binatang berdarah dingin termasuk *A. salina* yang digunakan sebagai hewan percobaan pada uji toksistas. Tomayahu *et al.* (2013) menyatakan bahwa metabolit sekunder dari tumbuhan dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit pada manusia dan senyawa aktif umumnya bersifat toksik pada dosis tinggi.

Senyawa Aktif Fraksi

Pemisahan senyawa ekstrak kasar terpilih daun nipah meliputi fraksinasi ekstrak kasar dengan pelarut metanol

Tabel 4 Nilai Rf KLT dengan eluen heksana : diklorometana : etil asetat (3:1:3)

Bercak pada KLT	Jarak tempuh pelarut (cm)	Jarak tempuh komponen (cm)	Nilai Rf
I	8	3,8	0,475
II	8	7,5	0,938
III	8	7,8	0,975



Gambar 3 Kromatogram KLT ekstrak kasar daun nipah

menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Pemisahan senyawa dilakukan dengan beberapa perbandingan pelarut. Fraksinasi senyawa menggunakan teknik kromatografi lapis tipis dilakukan untuk memisahkan senyawa yang ada pada ekstrak kasar terpilih daun nipah. Kromatografi ini digunakan untuk mencari eluen yang sesuai untuk memisahkan komponen yang terdapat dalam ekstrak. Ekstrak kasar yang digunakan yaitu ekstrak daun nipah yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} 22,5 $\mu\text{g/mL}$. Eluen yang diperoleh, yaitu n-heksana : diklorometana : etil asetat (3:1:3). Eluen terbaik pada pemisahan KLT kemudian digunakan sebagai pelarut dalam kromatografi kolom. Pemisahan dengan kombinasi eluen terbaik tersebut pada plat KLT menghasilkan 3 spot fraksi dengan nilai Rf yang berbeda Tabel 4 dan Gambar 3.

Hasil fraksinasi tersebut menggambarkan bahwa ekstrak kasar daun nipah dengan pelarut metanol diduga memiliki 3 fraksi yang terdeteksi. Pengukuran nilai Rf berdasarkan pada jarak tempuh larutan pengembang (pelarut) dan jarak tempuh bercak masing-masing komponen.

Aktivitas Antioksidan Fraksi

Fraksi yang terbentuk selama proses

kromatografi kemudian diuji aktivitas antioksidannya untuk menentukan fraksi terbaik yang memiliki aktivitas antioksidan paling efektif. Metode pengujian sama dengan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar. Hasil pengujian aktivitas antioksidan fraksi dapat dilihat pada Tabel 5.

Hasil pengujian memperlihatkan fraksi II sebagai fraksi yang aktivitas antioksidan terbaik yaitu 8,42 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 5). Pengujian antioksidan fraksi - fraksi dilakukan dengan metode penangkap radikal DPPH. DPPH merupakan radikal sintetik yang stabil. Senyawa ini mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan mempunyai intensitas warna ungu yang dapat diukur pada panjang gelombang 517 nm (Pokorny *et al.* 2001). Interaksi antara antioksidan dengan DPPH dapat berupa transfer elektron atau donor hidrogen, kedua interaksi tersebut akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Pengujian antioksidan fraksi-fraksi dari hasil pemisahan dengan kromatografi kolom ditandai dengan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu menjadi kuning (Gambar 4). Perubahan warna ini terjadi akibat DPPH tereduksi menjadi DPPH-H karena adanya donor atom hidrogen dari senyawa hidroksil yang diduga terdapat dalam masing-masing fraksi.

Tabel 5 Aktivitas antioksidan fraksi

Sampel	Persamaan linear	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Antioksidan
Fraksi I	$y=0,032x + 49,24$	23,75	Sangat kuat
Fraksi II	$y=0,038x + 49,68$	8,42	Sangat kuat
Fraksi III	$y=0,038x + 49,31$	18,18	Sangat kuat

KESIMPULAN

Ekstrak kasar daun nipah memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap *Vibrio* sp. isolat kepiting bakau (*Scylla* sp.) lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar buah, tetapi aktivitas antibakteri keduanya termasuk dalam aktivitas sedang. Ekstrak terpilih daun nipah mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin, saponin, fenol hidroquinon dan diterpen serta memiliki toksisitas kuat. Fraksi hasil pemisahan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dimana fraksi II memiliki aktivitas antioksidan paling kuat (IC₅₀ 8,42 µg/mL) dibandingkan fraksi I (IC₅₀ 23,75 8,42 µg/mL) dan III (IC₅₀ 18,18 µg/mL).

DAFTAR PUSTAKA

- Aftabuddin S, Sikder MNA, Rahman MA, Zafar M. 2014. Antibiotic resistance of *Vibrio* bacteria isolated from mud crab *Scylla serrata* of Chakoria Coast, Bangladesh. *Journal Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 4(3): 325.
- Ajizat A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhirium* terhadap ekstrak daun Psidium Guajava. *Journal Bioscientive* 1: 31-38.
- Association of Official Analytical chemist [AOAC]. 2005. Official Method of The Association Official Agriculture Chemist. Washington DC: AOAC.
- Ashofa EA, Sarjito, Prayitno SB. 2014. Identifikasi bakteri *Vibrio* yang berasosiasi dengan penyakit bakterial pada kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang berasal dari Rembang. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 3(2): 118-125.
- Carballo JL, Hernandez-Inda ZL, Perez P, Garcia Gravalos MD. 2002. A comparison between two brine shrimp assay to detect in vitro cytotoxicity in marine natural product. *Journal Bioorganic and Medicinal Chemistry Biotechnology* 2: 17.
- Danata RH, YAmindago A. 2014. Analisis aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *Avicennia marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan* 7(1). ISSN: 1907-9931.
- Darsana IGO, Besung INK, Mahatmi H. 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 337-351.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Journal Applied Microbiology* 18(3): 403-414.
- Dinas Kehutanan [Dishut]. Potensi hutan nipah Indonesia. Jakarta: Dinas Kehutanan.
- Effendi I, Suhardi. 1998. Studi pendahuluan tumbuhan mangrove sebagai antibakteri terhadap bakteri penyakit udang *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*. Prosiding, Seminar VI Ekosistem Mangrove, Pekanbaru 15-18 September 1998.
- Haq I, Hosain ABMS, Khandaker MM, Merican AF, Faruq G, Boyce N, Azirun MS. 2014. Antioxidant and antibacterial activities of different extracts and fractions of mangrove plant *Sonneratia alba*. *Journal International of Agriculture and Biology* 16(4): 707-714.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia. Edisi kedua. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari : Phytochemical Methods.
- Heriyanto NM, Subiandono E, Karlina E. 2011. Potensi dan sebaran Nipah (*Nypa fruticans* (Thunb.) Wurmb) sebagai sumberdaya pangan. *Jurnal Penelitian dan Konservasi Alam* 8 (4): 327-337.
- Herman, Rusli R, Ilmu E, Hamid R, Haeruddin. 2011. Analisis kadar mineral dalam abu buah nipa (*Nypa fruticans*) Kaliwanggu Teluk Kendari Sulawesi Tenggara. *Jurnal Tropical Pharmacy Chem* 1(2) : 107-113.
- Lapornik B, Prosek, Wondra AG. 2005. Comparison of extract prepared from plant by – product using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* 71(2): 214-222.
- Mangrove Information Center [MIC]. 2009. *Nypa fruticans*. Bali. Denpasar. www.mangrovecenter.or.id
- Margaretta S dan Handayani SD. 2011.

- Ekstraksi senyawa phenolik *Pandanus amaryllifolius* ROXB sebagai antioksidan alami. *Jurnal Widya Teknik* 10: 21-30.
- Mayer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclauchlin JL. 1982. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plants Research* 45:31 - 34.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarin Journal Science Technology* 26(2): 211-219.
- Moorthy K, Srinivasan K, Subramanian C, Palaniswamy M. 2007. Phytochemical screening and antibacterial evaluation of stem bark of *Mallotus philippinensis* var. *Tomentosus*. *African Journal of Biotechnology* 6(3): 1521-1523.
- Nurjanah N, Jacob AM, Hidayat T, Shylina A. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activities of Lindur Stem Bark (*Bruguiera gymnorhiza*). *Journal International of Plant Science and Ecology* 1(5): 182-189.
- Pokorny, Jan, Yanishlieva, Nedyalka dan Gordon, Michael. 2001. Antioxidants in Food Practical Applications. New York: CRC Press.
- Pisutthanan S, Plianbangchang, Ruanruay S, Muanrit O. 2004. Brine shrimp lethality activity of Thai Medicinal plants in the family Meliaceae. *Naresuan University Journal* 12(2): 13-8.
- Putri IJ, Fauziyah, Elfitra. 2013. Aktivitas antioksidan daun dan biji buah nipah (*Nypa fruticans*) asal pesisir Banyuasin Sumatera Selatan dengan metode DPPH. *Maspuri Journal* 5(1): 16-21.
- Rahman AK, Sudarto Y. 1991. Nipah Sumber Pemanis Baru. Yogyakarta: Kanisius.
- Ristiana L, Wijana S, Putri WI. 2012. Studi proses pengolahan koktail dari tanaman nipah (*Nypa fruticans*). *Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya*.
- Saptiani G, Prayitno SB, Anggoro S. 2012. Aktivitas antibakteri ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi* secara in vitro. *Journal Vetriner* 13(3): 257-262.
- Sudirman S, Nurjanah, Jacob AM. 2014. Proximate compositions, bioactive compounds and antioxidant activity from large-leafed mangrove (*Bruguiera gymnorhiza*) fruit. *Journal International Food Research* 21(6): 2387-2391.
- Tomayahu R, Bialang N, Salimi YK. 2014. Identifikasi senyawa aktif dan uji toksisitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan metode BSLT. *Jurnal Fakultas MIPA*. Universitas Negeri Gorontalo.
- Trianto A, Wibowo E, Suryono, Saptia RS. 2004. Ekstrak daun mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmu Kelautan* 9(4): 186-189.