

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN MANGROVE JENIS  
*Avicennia marina* TERHADAP BAKTERI *Vibrio*  
*parahaemolyticus***

SKRIPSI

Oleh :  
SATRIA OKTAVIANUS



JURUSAN ILMU KELAUTAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013

## ABSTRAK

**SATRIA OKTAVIANUS. L 111 07 017 “Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*”. Dibimbing oleh Abdul Haris sebagai pembimbing utama dan Sulaiman Gosalam sebagai pembimbing kedua.**

---

---

Penelitian ini bertujuan mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun mangrove jenis *Avicennia marina* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak mangrove *A. marina*. Pengambilan sampel dan pengukuran data parameter lingkungan dilakukan di Dusun Puntondo, Kec. Mangarabombang, Kab. Takalar dan Dusun Borimasungguh, Kec. Maros Baru, Kab. Maros dengan kondisi lingkungan perairan yang berbeda. Penentuan stasiun dilakukan secara acak (*random sampling*), sampel mangrove yang diambil adalah daun mangrove tua sebanyak 1 kg.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut Metanol dan Kloroform p.a. Diperoleh empat ekstrak dari proses maserasi, ekstrak metanol dan kloroform *A. marina* dari lokasi Takalar (ekstrak metanol : 13,56 g, ekstrak kloroform 2,38 g ekstrak) dan ekstrak metanol dan kloroform dari lokasi maros (ekstrak metanol 15,30 g, ekstrak kloroform 4,10 g). Pengujian daya hambat ekstrak metanol dan kloroform daun *A. marina* dilakukan dengan metode difusi agar. Pada beberapa pengulangan ekstrak metanol dan kloroform *A. marina* dari lokasi Maros didapatkan zona bening yang lebih besar 9,30 mm dan 8 mm dari kontrol positifnya, rata-rata zona bening dari ekstrak metanol (7,50 mm) dan kloroform (7,20 mm) daun *A. marina* yang berasal dari lokasi maros. Hal ini menunjukkan sifat ekstrak berpotensi sebagai anti bakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dengan nilai zona bening mendekati kontrol positif kloramfenikol (8,30 mm).

Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun *A. marina* dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Pada ekstrak metanol *A. marina* dari lokasi Maros dan Takalar diidentifikasi senyawa metabolit sekunder flavonoid, terpenoid dan triterpenoid, sedangkan pada ekstrak kloroform *A. marina* dari lokasi Takalar diidentifikasi senyawa triterpenoid, flavonoid dan pada ekstrak kloroform *A. marina* lokasi Maros terdapat senyawa alkaloid dan triterpenoid. Berdasarkan profil noda yang dihasilkan ekstrak metanol dan kloroform *A. marina* dari lokasi Maros menunjukkan profil noda yang lebih jelas hal ini diduga konsentrasi senyawa lebih besar dibandingkan ekstrak *A. marina* dari lokasi Takalar.

**Kata kunci : Ekstrak mangrove, *Vibrio parahaemolyticus*, *Avicennia marina*, Antibakteri**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN MANGROVE JENIS  
*Avicennia marina* TERHADAP BAKTERI *Vibrio*  
*parahaemolyticus***

Oleh :  
SATRIA OKTAVIANUS

Skripsi  
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana  
Pada  
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan



JURUSAN ILMU KELAUTAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis  
*Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio*  
*parahaemolyticus*

Nama Mahasiswa Satria Oktavianus

No. Pokok L 111 07 017

Jurusan Ilmu Kelautan

Skripsi telah diperiksa  
dan disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

**Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si**  
NIP. 196512091992021001

**Drs. Sulaiman Gosalam, M.Si**  
NIP. 196402181992031002

Mengetahui :

Dekan  
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan,

Ketua Jurusan  
Ilmu Kelautan,

**Prof. Dr. Ir. Andi Niartiningih, MP**  
NIP. 196112011987032002

**Dr. Ir. Amir Hamzah Muhiddin, M. Si**  
NIP. 196311201993031002

Tanggal Lulus : 27 Mei 2013

## RIWAYAT HIDUP



Satria Oktavianus dilahirkan pada tanggal 1 Oktober 1987 di Kolonodale, Sulawesi Tengah. Anak kedua dari dua orang bersaudara dari Ayahanda Stepanus. L dan Ibunda Welma. T.

Penulis menyelesaikan pendidikan formalnya Sekolah Dasar di SD Kristen GKST Poso pada tahun 2000, Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama di SLTP Negeri 2 Petasia, Kab. Morowali tahun 2003, dan Sekolah Menengah Atas di SMA Frater Disamakan Makassar pada Tahun 2006. Penulis diterima sebagai Mahasiswa di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Jurusan Ilmu Kelautan, Universitas Hasanuddin Makassar tahun 2007 melalui jalur Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru (SPMB).

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Bahan Alam Laut. Dibidang keorganisasian mahasiswa penulis pernah menjadi pengurus Persatuan Mahasiswa Kristen Ilmu Kelautan (PERMAKRIS IK) periode 2008/2010, masuk dalam keanggotaan Marine Science Diving Club Unhas (MSDC-UH) dan pengurus Senat Ilmu Kelautan periode 2008/2009.

Penulis menyelesaikan rangkaian tugas akhir yaitu Kuliah Kerja Nyata di Desa Rappoa, Kec. Pajjukukang, Kab. Bantaeng Tahun 2011, Praktek Kerja Lapang di PPLH Puntondo, Kab. Takalar pada tahun 2011. Melakukan penelitian dengan judul “Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*” pada tahun 2012

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur sebesar-besarnya kepada Bapa di Sorga atas segala rahmat dan cinta kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini tak ada hal yang dapat penulis sampaikan selain “Terima kasih” yang sebesar-besarnya sebagai bentuk penghargaan dan penghormatan atas segala bantuan, bimbingan, nasehat, dukungan dan doa yang senantiasa mengiringi penulis selama masa studi hingga penyusunan tugas akhir. Ucapan ini penulis haturkan kepada :

1. Kedua orang tua tercinta, Ayahanda **Stepanus. L** dan Ibunda **Welma. T** atas cinta dan kasih sayang yang begitu tulus tanpa henti dan selalu memberikan motivasi dan menjadi panutan yang baik buat keluarga. “Teriring doa, salam penuh hormat dan rindu Ananda”
2. Saudaraku terkasih **Novica. F, S.E, Rosliana. M, S.E** dan **Nathalia Pratiwi. R** atas segala doa, dorongan dan setia menjadi penyemangat yang baik dalam menyelesaikan studi. Kelak satu langkah yang baru akan ditempuh akan membuat kalian bangga.
3. Bapak **Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si** selaku pembimbing utama dan Bapak **Drs. Sulaiman Gosalam, M.Si** yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, bantuan, dan dengan ikhlas meluangkan waktu dan pikiran selama penelitian hingga penyusunan tugas akhir ini.

4. Para dosen penguji, Ibu **Dr. Ir. Arniati, M.Si.**, Bapak **Dr. Ir. M. Farid Samawi, M.Si.**, dan Bapak **Dr. Muh. Lukman, ST, M.Marsc.**, yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan kritik dan saran pada penelitian dan perbaikan skripsi penulis serta nasehat-nasehat yang membangun kepribadian penulis lebih baik lagi.
5. Bapak **Prof. Dr. Amran Saru, ST, M.Si** sebagai penasehat akademik, atas segala bentuk pembelajaran, bimbingan dan nasihat selama masa studi.
6. Rekan-rekan seperjuangan Lab. Mikrobiologi Laut : **Eka Iisdayanti, S.Kel, Nurfadilalah, S.Kel**, dan **Azmi Utami Putri** yang telah banyak sekali membantu dalam penelitian ini. Canda tawa kalian, semangat dan prestasi yang kalian ukir membuat saya bangga mengenal kalian.
7. Kawan dan saudaraku **Abde Wunanto Hasan, Safriyogi, Zulfahmi, S.Kel, Syamsul Bahri S. Kel, Agustina Fahyra S.Kel, Wawan Diarta, Leonard (onank), Angga, Yusri Zainuddin (uci)** yang telah menggoreskan banyak cerita manis dalam kebersamaan kita. Sukses selalu buat kalian.
8. **Kawan dan Sahabat seperjuangan OMBAK 07** yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terimakasih atas kebersamaan, suka, duka, canda tawa, dan bahagia yang telah kita bersama ukir sekarang dan nanti. Semoga kelak kesuksesan dan kebahagiaan mengisi cerita kita di hari depan (Cangke,,cangke,,cangke eaaaa). Amin.
9. **Kawan-kawan KKN Gelombang 81 Kecamatan Bungoro Kabupaten Pangkep**, terkhusus sahabatku seposko (posko layang-layang) Desa

Rappoa (**Agung, Dena Aditya, Rabiah, Wati, Ery** dan **Aryo**) atas semua dukungan, doa dan kebersamaan selama ini.

10. **Seluruh bapak dan ibu dosen** Jurusan Ilmu Kelautan atas segala ilmu pengetahuan yang telah diberikan selama masa studi sebagai bekal di kemudian hari.

11. Pegawai dan seluruh staf jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.

12. Tak terkecuali semua pihak yang telah membantu penulis dalam masa studi hingga penyelesaian tugas akhir ini.

Semua hal yang terbaik telah penulis lakukan untuk kesempurnaan skripsi ini. Namun, penulis hanyalah manusia biasa yang tak luput dari kesalahan. Oleh karena itu, segala bentuk kritik dan saran yang sifatnya membangun sangatlah diperlukan untuk memperbaiki kesalahan yang ada. Akhir kata semoga skripsi ini dapat digunakan untuk kemajuan dunia kelautan dan kesejahteraan masyarakat. Amin.

Penulis,

**Satria Oktavianus**



## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan dan Kegunaan.....	3
C. Ruang Lingkup Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Umum Mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	4
1. Klasifikasi.....	4
2. Karakteristik Biologi Dan Habitat Mangrove.....	4
3. Morfologi Mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	6
B. Potensi Bioaktif Mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	7
C. Tinjauan Umum Bakteri Uji.....	9
1. Bakteri.....	9
2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	10
D. Analisis Senyawa Bioaktif Mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	12
1. Ekstraksi Senyawa Bioaktif.....	12
2. Uji Aktifitas Antibakteri.....	14
3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	15
E. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder.....	16
III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat.....	18
B. Alat dan Bahan.....	18
1. Alat dan bahan yang digunakan.....	18
C. Prosedur Penelitian.....	19
1. Pengambilan sampel dan Data Parameter Lingkungan.....	19
2. Ekstraksi Daun Mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	20
3. Sterilisasi Alat dan Bahan yang Digunakan.....	21
4. Pembuatan Medium Agar (NA).....	21
5. Peremajaan dan Suspense Bakteri Uji.....	22
6. Uji Antibakteri Ekstrak Daun <i>Avicennia marina</i> dengan Metode difusi Agar.....	22
7. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	23
8. Analisis Data.....	24

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Daun Mangrove <i>Avicennia marina</i> dari Takalar dan Maros.....	25
B. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Daun <i>Avicennia marina</i> .....	27
C. Potensi Daun <i>Avicennia marina</i> Sebagai Antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	29
D. Keterkaitan Antara Senyawa Metabolit Sekunder Daun <i>Avicennia marina</i> dengan Parameter Lingkungan .....	32
E. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun <i>Avicennia Marina</i> .....	38

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan.....	41
B. Saran .....	41

DAFTAR PUSTAKA.....	42
---------------------	----

LAMPIRAN .....	48
----------------	----

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Analisis fitokimia pada mangrove <i>Avicennia</i> spp .....	8
2. Beberapa jenis pelarut dan sifat fisiknya .....	13
3. Potensi daun <i>Avicennia marina</i> sebagai antibakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ..	29
4. Uji one way Anova daya hambat ekstrak metanol dan kloroform daun <i>Avicennia marina</i> .....	30
5. Identifikasi kandungan golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol dan kloroform daun <i>Avicennia marina</i> .....	40

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Morfologi mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	6
2. Struktur dinding sel bakteri Gram negative dan Gram positif .....	9
3. Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan kerang yang terkontaminasi .....	12
4. Peta lokasi pengambilan sampel daun mangrove <i>Avicennia marina</i> .....	18
5. Skema prosedur ekstraksi daun <i>Avicennia marina</i> (Maserasi) .....	21
6. Skema prosedur uji aktivitas anti bakteri ekstrak daun <i>Avicennia marina</i> (Difusi agar) .....	23
7. Ekstrak metanol dan kloroform daun <i>Avicennia marina</i> .....	25
8. Zona bening ekstrak daun <i>Avicennia marina</i> .....	27
9. Grafik diameter zona bening ekstrak daun <i>Avicennia marina</i> berdasarkan lokasi dan pelarut .....	31
10. Grafik parameter lingkungan lokasi Takalar dan Maros .....	33
11. Profil noda ekstrak metanol daun <i>Avicennia marina</i> dari lokasi Takalar dan Maros .....	38
12. Profil noda ekstrak metanol dan kloroform daun <i>Avicennia marina</i> dari lokasi Takalar dan Maros .....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Analisis varians (one-way) ekstrak metanol dan kloroform daun <i>Avicennia marina</i> dari lokasi Takalar dan Maros.....	49
2. Uji lanjut Duncan.....	50
3. Data parameter lingkungan dan Uji T berpasangan .....	51
4. Lokasi pengambilan sampel dan pengukuran data parameter lingkungan .	55
5. Proses maserasi, penyaringan (filtrat), dan hasil ekstrak.....	56
6. Pembuatan medium agar, peremajaan bakteri, suspensi bakteri uji, difusi aktivitas daya hambat ekstrak, dan Uji kromatografi lapis tipis (KLT) .....	58
7. Hasil uji daya hambat ekstrak daun <i>Avicennia marina</i> terhadap bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan hasil Uji KLT.....	60

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Mangrove adalah komunitas vegetasi/tumbuhan pantai tropis yang mampu menyesuaikan diri pada daerah berlumpur atau daerah tergenang pasang-surut. Secara umum mangrove adalah tanaman perdu yang tumbuh di bawah tingkat pasang tinggi. Pohon mangrove hidup dalam suatu komunitas pada suatu kawasan sehingga sering orang menyebut hutan mangrove. Mangrove banyak ditemukan di tepi pantai, teluk yang dangkal, esturia, delta dan daerah pantai yang terlindung (Coremap, 2012).

Seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, beberapa pakar giat melakukan penelitian tentang mangrove. Penemuan-penemuan baru di bidang farmasi sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia, seperti ditemukannya kandungan senyawa bioaktif dari beberapa jenis mangrove yang dapat digunakan untuk bahan obat-obatan, zat antibiotik, dan bahan kosmetik, akan tetapi sebagian besar potensi sumberdaya hayati ini pemanfaatannya belum optimal. Demikian maka industri farmasi membutuhkan tambahan bahan baku untuk menutupi kebutuhan perkembangan industri yang semakin pesat. Melihat banyaknya kebutuhan akan bahan baku untuk industri farmasi tersebut, maka diadakan eksploitasi terhadap bahan-bahan yang berasal dari tumbuhan pesisir laut dan salah satu yang menjadi obyek penelitian ini adalah mangrove *Avicennia marina*.

Mangrove *Avicennia marina* sebagai sampel untuk penelitian daya hambat terhadap bakateri karena sejak beberapa abad yang lalu, masyarakat pesisir di berbagai tempat di Indonesia secara tradisional telah memanfaatkan jenis pohon api-api untuk pakan ternak (daun), sayuran dan makanan (biji / buah), obat-obatan

(getah untuk antifertilitas / mencegah kehamilan, salep dari biji untuk obat penyakit cacar / penyembuh luka), dan abu kayu untuk sabun cuci. Jenis pohon api-api perlu diteliti dalam hal potensinya untuk pangan, pakan dan obat-obatan, karena penggunaan untuk hal-hal tersebut perlu diuji secara ilmiah guna menjamin keamanannya sebagai pangan dan obat sekaligus peningkatan mutunya. Beberapa data yang diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa adanya senyawa aktif anti inflamasi, anti oksidan, anti bakteri dan anti virus dari ekstrak berbagai spesies mangrove (Withanawasam, 2002). Jenis *Avicennia* spp., dilaporkan digunakan untuk mengobati sakit rematik, cacar, borok, hepatitis (buah), lepra dan anti tumor (Bandarayanake, 1998).

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh daun *Avicennia marina* dengan melakukan beberapa analisis fitokimia pada berbagai jaringan tubuh tanaman *Avicennia* spp diketahui bahwa bagian daun tanaman memiliki kandungan alkaloid, saponin, glikosida, tannin, flavonoid pada daun dan getah berada dalam jumlah yang lebih sedikit. Triterpenoid terdapat pada semua bagian, terutama pada daun dan akar. Steroid tidak ditemukan pada seluruh bagian tanaman (Cahyo, 2009).

Potensi besar yang dimiliki mangrove *Avicennia marina* berupa senyawa bioaktif yang dikandungnya harus dikembangkan yang nantinya dapat digunakan dalam bidang kesehatan khususnya untuk pencarian bahan baku obat-obatan seperti obat antibiotika. Salah satu jenis obat yang sangat penting adalah obat anti bakteri karena banyak sekali makanan yang dikonsumsi oleh manusia yang berasal dari laut telah tercemar, mengandung mikroorganisme atau bakteri dan bahan kimia berbahaya. Salah satu mikroba bakteri yang mengkontaminasi makanan (kerang, udang dan hasil kaut lainnya), menyebabkan keracunan makanan

dan gastroenteritis (diare akut) adalah bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Maria, 2008).

Penelitian tentang uji daya hambat ekstrak mangrove terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* belum kami dapatkan. Untuk itu diperlukan suatu penelitian mengenai uji daya hambat ekstrak daun mangrove jenis *Avicennia marina* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang akhir-akhir ini sangat mengkhawatirkan mengingat kebiasaan masyarakat secara umum yang sangat gemar mengonsumsi makanan laut (sea food).

## **B. Tujuan dan Kegunaan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat dan potensi anti bakteri ekstrak metanol dan kloroform daun mangrove *Avicennia marina* dari lokasi Takalar dan Maros terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstraknya.

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan informasi mengenai senyawa bioaktif mangrove *Avicennia marina* yang berpotensi sebagai antibakteri dan dapat digunakan sebagai sumber bahan baku obat.

## **C. Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini meliputi ekstraksi daun mangrove *Avicennia marina* yang diambil dari dua lokasi Takalar dan Maros, uji aktivitas anti bakteri (Difusi) dan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dan pengukuran parameter lingkungan lokasi.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tinjauan Umum Mangrove *Avicennia marina*

#### 1. Klasifikasi

Klasifikasi *Avicennia marina* menurut Cronquist (1981) dalam Dasuki (1991) adalah :

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Sub Class : Asteridae

Order : Lamiales

Family : Acanthaceae

Genus : *Avicennia*

Species : *Avicennia marina*.

#### 2. Karakteristik Biologi Dan Habitat Mangrove

Mangrove adalah tumbuhan halofit yang hidup di sepanjang areal pantai yang dipengaruhi oleh pasang tertinggi sampai daerah mendekati ketinggian rata-rata air laut yang tumbuh di daerah tropis dan sub-tropis (Aksornkoae,1993). Dengan demikian secara ringkas hutan mangrove dapat didefinisikan sebagai suatu tipe hutan yang tumbuh di daerah pasang surut (terutama di pantai yang terlindung, laguna, muara sungai) yang tergenang pada saat pasang dan bebas dari genangan pada saat surut yang komunitas tumbuhannya bertoleransi terhadap garam.

Komunitas tumbuhan mangrove merupakan tumbuhan penghasil biji (spermatophyta) dan bunganya sering kali menyolok. Biji mangrove relatif lebih

besar dibandingkan biji kebanyakan tumbuhan lain dan seringkali mengalami perkecambahan ketika masih melekat di pohon induk (vivipar). Pada saat jatuh biji mangrove biasanya akan mengapung dalam jangka waktu tertentu kemudian tenggelam. Lamanya periode mengapung bervariasi tergantung jenisnya. Biji beberapa jenis mangrove dapat mengapung lebih dari setahun dan tetap viable.

Sebagian besar jenis-jenis mangrove tumbuh dengan baik pada tanah berlumpur, terutama di daerah endapan lumpur terakumulasi (Chapman, 1977). Di Indonesia, substrat berlumpur ini sangat baik untuk tegakan *Rhizophora mucronata* and *Avicennia marina* (Kint, 1934). *Avicennia* merupakan marga yang memiliki kemampuan toleransi terhadap kisaran salinitas yang luas dibandingkan marga lainnya. *Avicennia marina* mampu tumbuh dengan baik pada salinitas yang mendekati tawar sampai dengan 90 ‰ (MacNae, 1966, 1968). Pada salinitas ekstrim, pohon tumbuh kerdil dan kemampuan menghasilkan buah hilang.

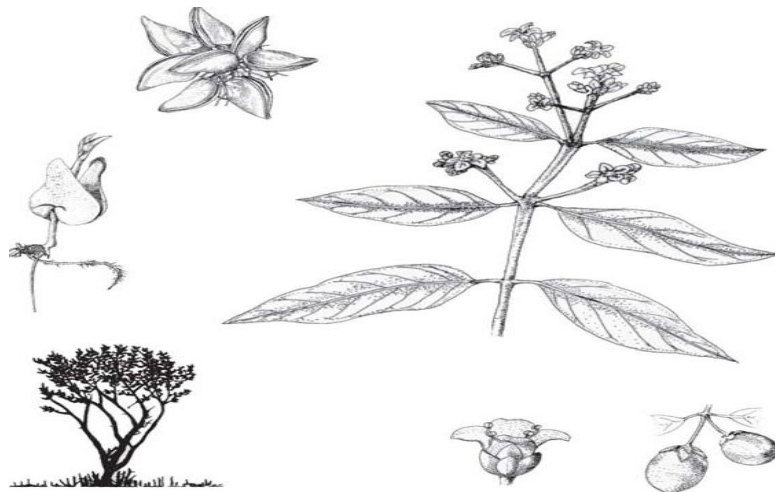
Berdasarkan tempat tumbuhnya hutan mangrove dapat dibedakan pada empat zona, salah satunya adalah zona *Avicennia* spp, merupakan zona yang letaknya di luar hutan bakau, memiliki tanah yang berlumpur, lembek dan sedikit mengandung humus (Badrudin, 1993). Daerah penyebaran hutan mangrove pada batas pantai yang mengarah ke laut didominasi oleh *Avicennia* spp. yaitu jenis bakau yang mempunyai akar gantung (Hutabarat dan Evans, 1985).

*Avicennia marina* merupakan tumbuhan pionir pada lahan pantai yang terlindung, memiliki kemampuan menempati dan tumbuh pada berbagai habitat pasang-surut, bahkan di tempat asin sekalipun. Jenis ini merupakan salah satu jenis tumbuhan yang paling umum ditemukan di habitat pasang-surut. Akarnya sering dilaporkan membantu pengikatan sedimen dan mempercepat proses pembentukan tanah timbul. Jenis ini dapat juga bergerombol membentuk suatu kelompok pada

habitat tertentu. Berbuah sepanjang tahun, kadang-kadang bersifat vivipar. Buah membuka pada saat telah matang, melalui lapisan dorsal. Buah dapat juga terbuka karena dimakan semut atau setelah terjadi penyerapan air (Noor *et al.*, 1999).

### 3. Morfologi mangrove *Avicennia marina*

Api-api adalah nama sekelompok tumbuhan dari genus *Avicennia*, Family Acanthaceae. Api-api biasa tumbuh di tepi atau dekat laut sebagai bagian dari komunitas hutan bakau. Jenis ini merupakan salah satu jenis tumbuhan yang paling umum ditemukan di habitat pasang-surut. Akarnya sering dilaporkan membantu pengikatan sedimen dan mempercepat proses pembentukan tanah timbul.



Gambar 1. Morfologi mangrove *Avicennia marina* (Noor *et al.*, 1999)

*A. marina* memiliki beberapa ciri yang merupakan bagian dari adaptasi pada lingkungan berlumpur dan bergaram. Diantaranya: akar nafas serupa paku yang panjang dan rapat, muncul ke atas lumpur di sekeliling pangkal batangnya, Bagian atas permukaan daun ditutupi bintik-bintik kelenjar berbentuk cekung. Bagian bawah daun putih- abu-abu muda; *Letak daun*: sederhana & berlawanan. *Bentuk*: elips, bulat memanjang, bulat telur terbalik; *Ujung*: meruncing hingga membundar. *Ukuran*: 9 x 4,5 cm dengan kelenjar garam di permukaan bawahnya (Noor *et al.*, 1999).

Bunga seperti trisula dengan bunga bergerombol muncul di ujung tandan, bau menyengat, nektar banyak; *Letak*: di ujung atau ketiaktangkai/tandanbunga, *Formasi*: bulir (2-12 bunga per tandan); *Daun Mahkota*: 4, kuning pucat-jingga tua, 5-8 mm; *Kelopak Bunga*: 5. *Benang sari*: 4. Buah agak membulat, berwarna hijau agak keabu-abuan. Permukaan buah berambut halus (seperti ada tepungnya) dan ujung buah agak tajam seperti paruh; *Ukuran*: sekitar 1,5x2,5 cm (Gambar 1), (Noor *et al.*, 1999).

Pohon kecil atau besar, tinggi hingga 30 m, dengan tajuk yang agak renggang. Dengan akar nafas yang muncul 10-30 cm dari substrat, serupa paku serupa jari rapat-rapat, diameter lebih kurang 0,5-1 cm dekat ujungnya. Pepagan (kulit batang) halus keputihan sampai dengan abu-abu kecoklatan dan retak-retak. Ranting dengan buku-buku bekas daun yang menonjol serupa sendi-sendi tulang (Noor *et al.*, 1999).

## **B. Potensi Bioaktif Mangrove *Avicennia marina***

Pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan mangrove (terutama jenis pohon dari marga *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Avicennia* dan *Sonneratia*) secara tradisional oleh masyarakat pesisir di Indonesia telah lama berlangsung sejak beberapa abad yang lalu. Pemanfaatan secara tradisional dari berbagai jenis tumbuhan mangrove tersebut merupakan pemanfaatan tingkat awal dari sumberdaya mangrove berdasarkan pengetahuan lokal masyarakat yang sampai saat ini tidak terdokumentasikan secara baik.

Khusus untuk jenis api-api (*Avicennia* spp.), masyarakat pesisir di Indonesia sudah sejak lama memanfaatkannya secara tradisional untuk memenuhi kebutuhan

pangan : obat-obatan, kayu bakar dan konstruksi bangunan rumah dan pakan ternak (Kusmana *et al.*, 2009).

Salah satu yang menjadi sumber antibiotik alami adalah tumbuhan mangrove, yang merupakan kekayaan alam potensial. Tumbuhan mangrove mengandung senyawa seperti *alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid* dan *saponin*. Golongan senyawa ini merupakan bahan obat-obatan modern (Eryanti *et al.*, 1999).

Tabel 1. Analisis fitokimia pada mangrove *Avicennia* spp menurut (Harbone, 1987) dan (Hosettmann, 1991) dalam Wibowo, (2009).

Jenis uji fitokimia	<i>Avicennia marina</i>			<i>Avicennia lanata</i>			<i>Avicenia Alba</i>			
	Isi buah	Batang	Daun	Kayu	Akar	Daun	Getah	Kayu	Akar	Daun
Alkaloid	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++
Saponin	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++	++++	++++	++++
Tannin	++++	+	+++	++	+++	++++	++	-	+	+
Fenolik	++	-	-	+	+	-	+++	+	+	+
Flavonoid	++++	+++	++	++++	++++	++++	+++	+++	++++	+++
Triterponoid	++++	++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	+++	+++
Steroid	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Glikosida	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Keterangan : - : Negatif  
 + : Positif  
 ++ : Positif  
 +++ : Positif kuat  
 ++++ : Positif kuat sekali

Pada tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa seluruh bagian tanaman memiliki kandungan senyawa bioaktif diantaranya alkaloid, saponin, dan glikosida yang cukup tinggi. Kandungan tanin terdapat pada daun biji dan kulit serta sedikit pada batang, getah dan akar. Flavonid banyak terdapat pada kulit, biji, batang, dan akar. Tetapi flavonid pada daun dan getah berada pada jumlah yang lebih sedikit. Triterpenoid terdapat pada semua bagian, terutama pada daun dan akar. Di sisi lain untuk seluruh bagian tanaman, tidak ada yang mengandung steroid. *Avicennia*

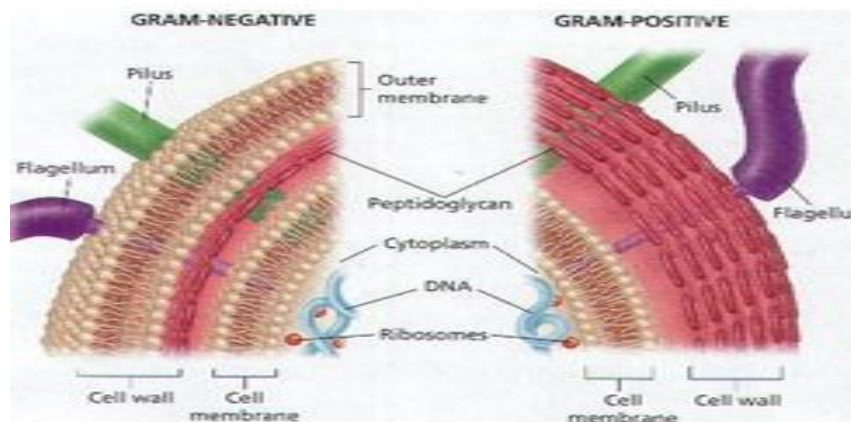
*marina* menunjukkan kandungan senyawa bioaktif yang lebih besar dan kompleks dari jenis *Avicennia* spp lainnya.

## C. Tinjauan Umum Bakteri Uji

### 1. Bakteri

Bakteri adalah sel prokariot yang bersifat uniseluler. Sel bakteri ada yang berbentuk bulat, batang, atau spiral. Umumnya ukuran diameter bakteri yaitu antara 0,5 sampai 1,0  $\mu\text{m}$ , dan panjangnya 1,5 sampai 2,5  $\mu\text{m}$  (Pelczar dan Chan 2005). Bahan sel bakteri (sitoplasma dan intinya) dikelilingi oleh membran sitoplasma yang berfungsi mengendalikan keluar masuknya suatu bahan ke dalam sel. Bagian luar yang menutupi membran sitoplasma ialah dinding sel yang kaku yang mengandung peptidoglikan. Peptidoglikan ini yang memberikan bentuk dan kakunya dinding sel (Lay dan Hastowo 1992).

Berdasarkan perbedaan komposisi dan struktur dinding selnya maka bakteri dibedakan menjadi bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Pelczar dan Chan 2005). Gambar 2. menunjukkan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Perbedaan susunan dinding sel dapat menyebabkan perbedaan kesensitifan bakteri terhadap senyawa tertentu.



Gambar 2. Struktur dinding sel Bakteri Gram negatif dan Gram positif (Moat dan Foster 1988)

Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang tebal (15-80 nm) dan mempunyai lapisan tunggal (mono), peptidoglikan sebagai lapisan tunggal yang merupakan komponen utama dimana lebih dari 50 % berat kering pada beberapa bakteri (Pelczar dan Chan 2005). Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis (10-15 nm) dan berlapis tiga (multi). Peptidoglikan terdapat pada lapisan kaku sebelah dalam dan jumlahnya sedikit, sekitar 10 % berat kering. Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan membran luar yang menyebabkan dinding selnya mengandung lipid yang tinggi (11-22 %).

Lapisan membran luar ini tidak hanya terdiri dari fosfolipida saja tetapi juga mengandung lipida lainnya, polisakarida, dan protein. Bakteri Gram negatif ini tidak memiliki asam teikoat. Pertumbuhannya kurang dapat dihambat oleh zat-zat warna dasar dan kurang rentan terhadap penisilin. Persyaratan nutrisi relatif lebih sederhana serta kurang resisten terhadap gangguan fisik. Contoh bakteri yang termasuk dalam bakteri gram negatif ini adalah *Vibrio parahaemolyticus*.

## **2. *Vibrio parahaemolyticus***

Pertumbuhan mikroorganisme dalam makanan memegang peran penting dalam pembentukan senyawa yang memproduksi bau tidak enak dan menyebabkan makanan menjadi tak layak makan. Beberapa mikroorganisme yang mengkontaminasi makanan dapat menimbulkan bahaya bagi yang mengkonsumsinya, kondisi tersebut dinamakan keracunan makanan.

Salah satu mikroba bakteri yang mengkontaminasi makanan (kerang, udang dan hasil laut lainnya), menyebabkan keracunan makanan dan gastroenteritis (diare akut) adalah bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Karena bumi ini merupakan planet biru dimana sebagian besar wilayahnya merupakan lautan dan rata-rata penduduk

dunia menyukai produk makanan laut, maka penting bagi kita untuk mengetahui mikroba yang mengkontaminasi produk makanan dari laut sehingga kita dapat mencegah, menanggulangi dan mengobati penyakit akibat bakteri ini (Maria, 2008).

Berikut klasifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menurut Kanagawa (1985) dalam Marlina (2004) yang menyebutkan :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Species : *Vibrio parahaemolyticus*

*Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri halofilik Gram negatif, bakteri ini muncul secara musiman. Biasanya, pada musim panas *Vibrio parahaemolyticus* relatif mudah dideteksi pada air laut, sedimen, plankton, ikan, krustasea dan moluska yang merupakan tempat hidupnya di ekosistem. Mereka terkonsentrasi dalam saluran pencernaan moluska, seperti kerang, tiram dan mussel (Gambar 4) yang mendapatkan makanannya dengan cara mengambil dan menyaring air laut (Charles-Hernández *et al.*, 2006).

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* hidup pada sekitaran muara sungai (brackish water atau estuaries), pantai (coastal waters) tetapi tidak hidup pada laut dalam (deep sea). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada terutama hidup di perairan Asia Timur. Bakteri ini tumbuh pada kadar NaCl optimum 3%, kisaran suhu 5-43°C, pH 4.8-11 dan aw 0.94-0.99. Pertumbuhan berlangsung cepat pada kondisi suhu optimum (37°C) dengan waktu generasi hanya 9-10 menit.





Gambar 4. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan Kerang yang terkontaminasi (Maria, 2008)

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* masuk ke dalam tubuh manusia yang mengonsumsi produk makanan laut seperti udang, kerang, ataupun ikan mentah yang dimasak kurang sempurna. Penularan juga dapat terjadi pada makanan yang telah dimasak sempurna namun tercemar oleh penjamah yang pada saat bersamaan memegang produk ikan mentah.

Kasus keracunan karena mengonsumsi pangan tercemar *Vibrio parahaemolyticus*, biasanya berlangsung secara musiman. Karena bakteri ini biasanya berkembang dengan baik pada saat suhu lingkungan perairan di atas 15°C, maka kasus keracunan karena *Vibrio parahaemolyticus* biasa terjadi pada musim panas dimana suhu permukaan laut naik hingga mencapai di atas 15°C (McLaughlin *et al.*, 2005).

#### **D. Analisis Senyawa Bioaktif Mangrove *Avicennia marina***

##### **1. Ekstraksi Senyawa Bioaktif**

Ekstraksi adalah proses untuk menghasilkan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk

yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku ekstrak yang telah ditetapkan (Erliza, 2006).

Tujuan ekstraksi adalah memisahkan bahan padat dan bahan cair suatu zat dengan bantuan pelarut. Ekstraksi dapat memisahkan campuran senyawa dengan berbagai sifat kimia yang berbeda. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi bahan alam umumnya dilakukan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut (Tohir, 2010).

Prinsip pemilihan pelarut adalah *like dissolve like*, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar (Achmadi, 1992).

Tabel 2. Beberapa Jenis Pelarut dan Sifat Fisiknya

Pelarut	Titik Didih (°C)	Titik Beku (°C)	Konstanta Dielektrik
Heksana	68	-94	1,8
Dietil eter	35	-116	4,3
Kloroform	61	-64	4,8
Etil asetat	77	-84	6,0
Aseton	56	-95	20,7
Etanol	78	-117	24,3
Metanol	65	-98	32,6
Air	100	0	80,2

Sumber : Nur dan Adijuwana, 1989

Proses ekstraksi terdiri dari beberapa tahap, yaitu penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan tahap pemisahan.

Penghancuran bertujuan agar dapat mempermudah pengadukan dan kontak bahan dengan pelarutnya pada saat proses perendaman. Kemudian bahan ditimbang untuk mengetahui berat awal bahan sehingga dapat menentukan rendamen yang dihasilkan.

Bahan yang telah ditimbang kemudian direndam dalam pelarut, seperti heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Proses perendaman ini disebut dengan maserasi. Tahap selanjutnya, yaitu tahap pemisahan yang terdiri dari penyaringan dan evaporasi. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan sampel dengan pelarut yang telah mengandung bahan aktif. Untuk memisahkan pelarut dengan senyawa bioaktif yang terikat dilakukan evaporasi, sehingga pelarutnya akan menguap dan diperoleh senyawa hasil ekstraksi yang dihasilkan (Khopkar, 2003).

## **2. Uji Aktifitas Antibakteri**

Menurut (Lalitha, 2004). Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode Difusi Lempeng Agar (*Agar Disk-Diffusion Assay*) pada bakteri uji *Vibrio parahaemolyticus* dan sebagai kontrol positif menggunakan kloramfenikol dengan pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali.

Dalam prosesnya menggunakan control positif dan negatif. ekstrak yang didapatkan ditetesi pada *paper disc* ukuran 6 mm, sedangkan untuk control negatifnya digunakan pelarut yang sama pada proses maserasi. Penggunaan pelarut pada *paper disc* untuk membuktikan bahwa pelarut yang digunakan tidak berpengaruh sebagai anti bakteri dan sebagai nilai koreksi jika terdapat zona bening di sekitar *paper disc* pelarut. Untuk control positifnya sendiri menggunakan kloramfenikol yang pada dasarnya bersifat sebagai antibakteri.

Daerah hambatan yang terbentuk merupakan daerah bening di sekitar kertas cakram, yang menunjukkan bakteri patogen atau mikroorganisme yang diuji telah dihambat oleh senyawa antimikrobal yang berdifusi ke dalam agar dari kertas cakram (Amsterdam, 1992).

Kontrol positif akan digunakan sebagai tolak ukur dalam menentukan kemampuan ekstrak menghambat bakteri. Hal ini dapat dilihat dari nilai dari zona bening yang dihasilkan ekstrak, jika nilai yang dihasilkan mendekati atau melebihi nilai kontrol positif maka ekstrak berpotensi sebagai antibakteri.

### **3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan proses analisis pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan prinsip distribusi fase atau perpindahan komponen yang dianalisa dari fase gerak menuju fase diam melalui proses kesetimbangan. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan pada kromatogram (Stahl, 1985).

Pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam medium tertentu. Pada kromatografi, komponen-komponennya akan dipisahkan antara dua buah fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal. Sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat.

Kromatografi lapis tipis bekerja berdasarkan distribusi fase adsorpsi cair ke padat. Sebagai adsorben atau fase padatnya berupa lapisan tipis bubuk alumina,

silika gel yang menempel pada selembur lempeng kaca atau lempeng aluminium. Fase cairnya merupakan eluen yang digunakan untuk membawa zat yang diperiksa bergerak melalui fase padat. Senyawa yang diperiksa ditotolkan pada permukaan lapis tipis dalam garis sejajar, kemudian di masukkan kedalam botol kromatografi yang berisi eluen dan dibiarkan hingga eluen dan senyawa bergerak naik pada lapis tipis. Warna akan terlihat di bawah sinar ultraviolet atau disemprotkan larutan vanillin-asam sulfat (Ihsan, 2011).

#### **E. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder**

Senyawa metabolit adalah senyawa yang digolongkan berdasarkan biogenesisnya, artinya berdasarkan sumber bahan baku dan jalur biosintesisnya. Terdapat 2 jenis metabolit yaitu metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer polisakarida, protein, lemak dan asam nukleat merupakan penyusun utama makhluk hidup, sedangkan metabolit sekunder meski tidak sangat penting bagi eksistensi suatu makhluk hidup tetapi sering berperan menghadapi spesies-spesies lain. Misalnya zat kimia untuk pertahanan, penarik seks, feromon (Manitto, 1981).

Metabolit sekunder didefinisikan sebagai senyawa yang disintesis oleh organisme (mikroba, tumbuhan, insektisida dan sebagainya), tidak untuk memenuhi kebutuhan primernya (tumbuh dan berkembang) melainkan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungannya (Sumaryono, 1999). Beberapa kelompok metabolit sekunder yang dihasilkan dari metabolisme sekunder pada tumbuhan antara lain : alkaloid, terpenoid dan flavonoid.

Senyawa metabolit sekunder sangat dipengaruhi kondisi lingkungan dalam memproduksi senyawa. Selain kondisi lingkungan yang buruk komponen biotik di sekitar (organisme asosiasi, predator, makro dan mikroorganisme patogen)

kompetisi ruang dan makanan. Mantell dan Smith (1983) menyatakan bahwa pada umumnya kandungan metabolit sekunder dalam kultur relatif rendah. Hal ini disebabkan oleh pembentukan metabolit sekunder dipengaruhi oleh faktor internal dan faktor eksternal. Faktor eksternal seperti pemberian elisitor untuk menimbulkan kondisi tercekam dapat digunakan untuk meningkatkan metabolit sekunder (Di Cosmo dan Misawa, 1995).

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2012 - Februari 2013. Lokasi pengambilan sampel daun mangrove *Avicennia marina* dilakukan di Dusun Puntondo Pusat Pendidikan Lingkungan Hidup Puntondo (PPLH-P) Kec. Mangarabombang, Kab. Takalar dan di Dusun Borrimasungguh Kec. Maros Baru, Kab. Maros (Gambar 8). Proses ekstraksi, uji aktivitas antibakteri (Difusi) dan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Jurusan Ilmu Kelautan, Universitas Hasanuddin Makassar.



Gambar 5. Peta lokasi pengambilan sampel daun mangrove *Avicennia marina*.

#### B. Alat dan Bahan

##### 1. Alat dan bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada saat pengambilan sampel mangrove di lapangan yaitu GPS, kamera, timbangan, kantong sampel, *water quality cheker*

(WKC), pengukur pH tanah, termometer, *hand refractometer*, sedangkan alat-alat yang digunakan di laboratorium adalah blender, *laminary air flow*, inkubator, autoklaf, timbangan analitik, ayakan, vortex, lemari pendingin, *waterbath*, *magnetic stirrer*, mikropipet, tabung efendof, *hot plate*, tabung reaksi, labu erlenmeyer, gelas piala, cawan petri, pipet, ose, spoit, pentul, bunsen, jangka sorong, botol kaca, botol vial, penggaris, kotak chambers.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel daun mangrove *Avicennia marina*, pelarut metanol dan kloroform p.a, nutrisi agar (NA), NaCl, kloramfenikol (30 ppm), isolat bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, Kertas lempeng KLT air laut steril, akuades, alkohol, spritus, *paper disc*, kapas, aluminium foil, tisu, dan kertas label.

### **C. Prosedur Penelitian**

#### **1. Pengambilan Sampel dan Data Parameter Lingkungan.**

Pengambilan sampel mangrove *Avicennia marina* dilakukan pada dua lokasi yang berbeda, sampel pertama diambil di Kab. Takalar dan sampel kedua di Kab. Maros. Penentuan stasiun pengambilan sampel dilakukan secara acak (*random sampling*). Sampel mangrove yang diambil adalah daun mangrove tua dan kondisinya utuh, sampel kemudian dimasukkan dalam kantong sampel ditimbang hingga beratnya 1 kg.

Dalam pengambilan sampel juga dilakukan pengambilan data parameter lingkungan seperti salinitas, Do, suhu perairan, pH tanah, pH air, dan BOT dengan menggunakan alat *water quality cheker* (WKC), pengukur pH tanah, termometer, dan *hand refraktometer* berdasarkan standar operasional prosedur penggunaan alat tersebut serta dilakukan pengamatan langsung komponen biotik dan abiotik



disekitar mangrove *A. Marina*. Terbatasnya kesediaan alat dalam mengukur beberapa parameter lingkungan seperti pH air, BOT, DO pada lokasi Maros dilakukan dengan pengambilan sampel air menggunakan botol gelap yang kemudian dianalisis di Laboratorium Oseanografi Kimia, Jurusan Ilmu Kelautan, Universitas Hasanuddin, (Lampiran 4).

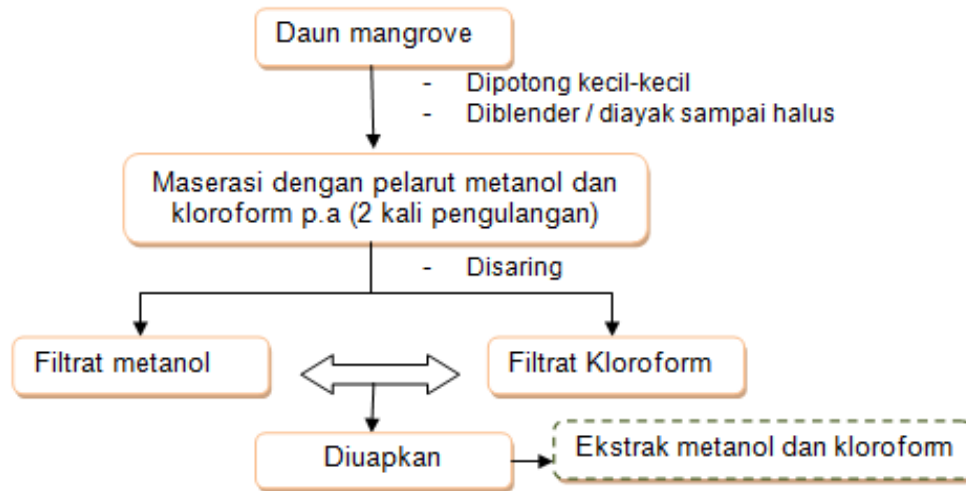
## **2. Ekstraksi Daun Mangrove *Avicennia marina***

Tahapan penelitian terdiri dari ekstraksi daun mangrove *Avicennia marina* dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan kloroform p.a. Daun mangrove yang diperoleh di lapangan terlebih dahulu dicuci dengan air tawar untuk menghilangkan garam, kotoran atau epifit di daun, dibilas menggunakan aquades untuk memastikan daun bersih. Dijemur di bawah sinar matahari langsung hingga kering yang nantinya akan dicacah halus kemudian diblender hingga halus dan diayak (Lampiran 5).

Sampel yang telah halus dimaserasi dengan pelarut metanol p.a dan kloroform p.a. Maserasi dilakukan selama 2 x 24 jam pada suhu kamar dengan pelarut metanol p.a sebanyak 300 ml untuk 50 g sampel mangrove (Abeyasinghe *et al.*, 2006), direndam pada labu erlenmeyer dan dengan perlakuan yang sama pada pelarut kloroform. Proses maserasi dilakukan selama 2 hari dengan pengulangan sebanyak 2 kali, sampel nantinya akan disaring menggunakan kertas saring whatman (Lampiran 5).

Hasil dari penyaringan (filtrat) kemudian dimasukkan dalam cawan yang sebelumnya telah ditimbang bobotnya. Pelarut dalam cawan diuapkan dengan menggunakan kipas angin untuk mempercepat proses penguapan. Setelah pelarut

kering hasil ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk kemudian disimpan di freezer (-20°C) yang nantinya akan digunakan untuk uji selanjutnya.



Gambar 6 : Skema prosedur ekstraksi daun *Avicennia marina* (Maserasi)

### 3. Sterilisasi Alat dan Bahan yang Digunakan

Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat melakukan uji difusi dilakukan sterilisasi alat dan bahan yang digunakan terlebih dahulu. Proses sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

### 4. Pembuatan Medium Agar (NA)

Sebanyak 2,3 gram *Nutrien Agar* (NA) yang digunakan kemudian dimasukkan ke dalam gelas beker, ditambahkan dengan air laut steril sebanyak 100 ml. Hasil dari campuran tersebut diaduk menggunakan *hot plate with magnetic stirrer* sampai homogen.

NA yg telah dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam 4 gelas botol kaca dengan takaran masing-masing botol kaca diisi 20 ml NA, lalu dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilisasi. Penuangan media NA ke cawan petri dilakukan dalam laminari yang telah disterilkan dengan UV dan blower.

## 5. Peremajaan dan Suspense Bakteri Uji

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* diambil sebanyak 2 ose dari stok bakteri yang diperoleh dari Balai Kesehatan Kota Makassar, diinokulasi dengan menggosokkan ose pada medium NA dan selanjutnya diinkubasi pada incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak 2 ose bakteri yang sudah diremajakan diambil dari media agar pada cawan petri lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0.99% sebanyak 100 ml kemudian divortex hingga homogen (Lampiran 6).

## 6. Uji Antibakteri Ekstrak Daun *Avicennia marina* dengan Menggunakan Metode Difusi Agar

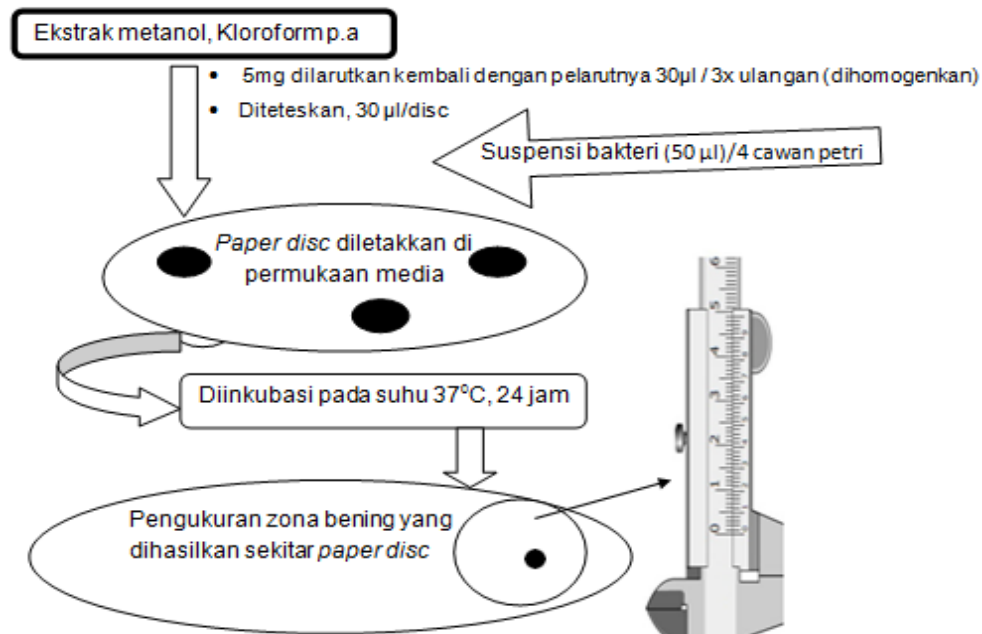
Ekstrak metanol dan kloroform p.a ditimbang sebanyak 5 mg dan dimasukkan dalam tabung *evendof* masing-masing kemudian dilarutkan dengan pelarut ekstrak tiap tabung *evendof* 30 µl x 3 (ulangan). Selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan vortex untuk siap dilakukan pengujian (Abeyasinghe *et al.*, 2006)

Suspensi bakteri uji *Vibrio parahaemolyticus* diambil sebanyak 200µl (50/gelas kaca) dicampurkan dalam media agar (NA) yang hangat dalam gelas kaca. Media agar yang telah tercampur bakteri dituang secara perlahan di dalam cawan petri dan dibiarkan memadat (Lampiran 5)

Ekstrak berdasarkan pelarutnya kemudian diteteskan sebanyak 30 µl / *paper disc* yang berbeda dan dibiarkan hingga betul-betul pelarutnya menguap. Diletakkan secara hati-hati pada permukaan media agar yang telah homogen dengan bakteri uji. Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol (30 ppm), dan pelarutnya sebagai kontrol negatif. Kontrol positif sebagai tolak ukur menentukan kemampuan ekstrak menghambat bakteri. Jika nilai zona bening

yang dihasilkan mendekati atau melebihi nilai control positif maka ekstrak berpotensi sebagai antibakteri. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Lampiran 5).

Kemampuan ekstrak sebagai antimikroba ditunjukkan dengan adanya daya hambat (zona bening) di sekitar *paper disc*. Untuk mendapatkan nilai dari zona bening yang dihasilkan dilakukan pengukuran dengan menggunakan jangka sorong. Skema prosedur uji aktivitas antibakteri dengan cara difusi agar disajikan pada gambar berikut (Gambar 7).



Gambar 7. Skema prosedur uji aktivitas antibakteri ekstrak daun *Avicennia marina* (Difusi agar)

## 7. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun mangrove yang diambil dari dua lokasi berbeda maka dilakukan Uji KLT. Dilakukan dengan mentotolkan ekstrak pada lempeng KLT, dibiarkan kering.

Lempeng KLT kemudian dicelupkan ke dalam *chamber* KLT yang mengandung eluen metanol dan kloroform p.a dengan perbandingan 2 : 1.

Dilakukan pengamatan terhadap noda pada lempeng KLT mencapai batas tang telah ditentukan pada lempeng KLT. Kemudian diamati fase gerak hingga noda mencapai batas yang telah ditentukan pada lempeng. Untuk melihat dengan jelas bentuk dan pola noda pada lempeng KLT dilakukan pengamatan dengan menggunakan sinar Ultra Violet (UV) dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Lampiran 7).

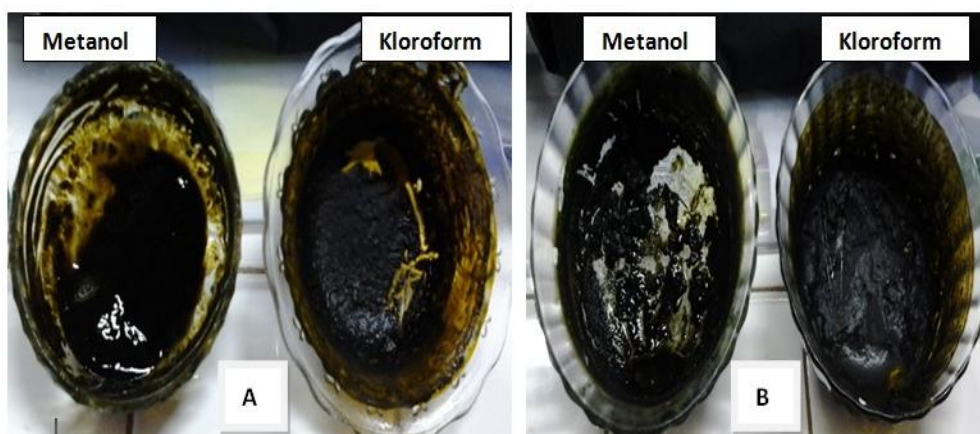
## **8. Analisis Data**

Data yang diperoleh berupa hasil ekstrak berdasarkan pelarut dan lokasi, diameter zona bening dari masing-masing ekstrak dan perbedaan senyawa yang ditandai dengan noda pada uji KLT dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan tabel dan gambar. Untuk mengetahui perbedaan kemampuan ekstrak metanol, kloroform dan kloramfenikol (kontrol positif) lokasi Maros dan Takalar dalam menghambat bakteri uji dilakukan dengan Analisis Varians (One-Way), jika terdapat perbedaan nyata dilakukan uji lanjut Duncan. Sedangkan untuk melihat perbedaan parameter parameter lingkungan antara kedua lokasi pengambilan sampel dilakukan Uji T berpasangan. Analisis ini menggunakan program perangkat lunak SPSS versi 16 (Santoso, 2005).

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1.1 Ekstraksi Daun Mangrove *Avicennia marina* dari Takalar dan Maros

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder daun *Avicennia marina* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan kloroform p.a. Diperoleh hasil ekstrak daun *A. marina* berdasarkan pelarut dan lokasi yang disajikan pada Gambar 8 :



Gambar 8 : Ekstrak metanol dan kloroform daun *Avicennia marina* dari proses maserasi (A : Maros, B : Takalar)

Hasil dari proses maserasi diperoleh empat ekstrak yaitu ekstrak metanol dan kloroform daun *Avicennia marina* dari Lokasi Takalar dan Maros. Hasil ekstrak daun *A. marina* lokasi Takalar (ekstrak metanol : 13,56 g, ekstrak kloroform : 2,38 g) dan ekstrak yang berasal dari lokasi Maros (ekstrak metanol : 15,30 g, ekstrak kloroform : 4,10 g). Nilai berat ekstrak diperoleh dari hasil penimbangan cawan dengan mengurangi bobot awal cawan. Adanya perbedaan ditunjukkan pada ekstrak metanol daun *A. marina* dari lokasi Takalar dan Maros dengan ekstrak kloroform daun *A. Marina* pada lokasi yang sama

Berdasarkan pelarut yang digunakan, metanol menghasilkan ekstrak yang lebih besar dibanding dengan pelarut kloroform. Hal ini diduga dikarenakan senyawa

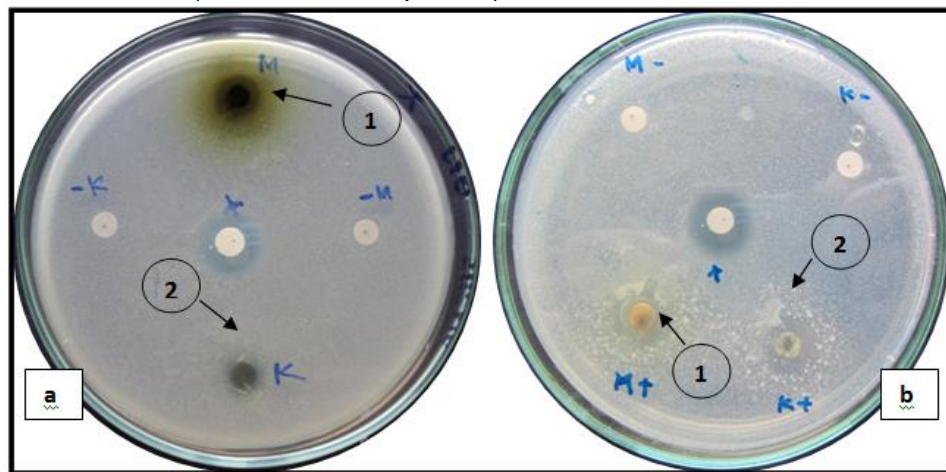
yang terkandung pada daun *Avicennia marina* baik yang berasal dari Takalar maupun yang berasal dari Maros cenderung bersifat polar. Pelarut yang digunakan tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Hal ini juga ditemukan oleh Darwis, (2000) yang menyatakan bahwa secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena hampir dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder.

Menurut Houghton dan Raman (1998) dalam Meydia (2006) hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut agar bahan dapat larut. Ada tiga jenis pelarut, yaitu pelarut polar, semi-polar dan non polar. Kloroform yang bersifat semi polar mempunyai keterbatasan dalam mengisolasi senyawa polar, berbeda dengan metanol yang sifatnya dapat melarutkan berbagai senyawa polar maupun non polar (Pavia *et al.*,1985). Penggunaan pelarut kloroform diharapkan dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang belum tertarik oleh pelarut metanol.

Terjadinya perbedaan berat ekstrak yang dihasilkan juga diduga dipengaruhi oleh proses evaporasi filtrat ekstrak. Pelarut metanol membutuhkan waktu tiga hari sampai menghasilkan ekstrak kering dibandingkan dengan kloroform. Bombardelli (1991) menyatakan bahwa lama ekstraksi menentukan jumlah komponen yang dapat diekstraksi dari bahan. Lama ekstraksi berhubungan dengan waktu kontak antara bahan dan pelarut. Semakin lama waktu ekstraksi maka kesempatan untuk bersentuhan antara bahan dan pelarut semakin besar sehingga kelarutan komponen bioaktif dalam larutan akan meningkat dan ekstrak juga akan semakin bertambah hingga larutan mencapai titik jenuhnya.

## B. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Daun *Avicennia marina*

Berdasarkan hasil uji daya hambat ekstrak daun *Avicennia marina* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode difusi agar, menunjukkan adanya daya hambat ekstrak terhadap bakteri uji. Aktivitas daya hambat yang dihasilkan diindikasikan dengan nampaknya zona bening pada sekitar *paper disc* ekstrak. Menurut Pratama (2005), zona bening di sekitar *paper disc* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Gambar 9, Lampiran 7).



Gambar 9 : Zona bening ekstrak daun *Avicennia marina* ( a : Takalar, b : Maros, 1 : ekstrak metanol, 2 : ekstrak kloroform).

Adanya zona bening yang dihasilkan disekitar *paper disc* yang ditetesi ekstrak daun *A. marina* yang ditunjukkan pada gambar di atas. Pada ekstrak metanol daun *A. marina* dari lokasi Takalar dan Maros zona bening yang dihasilkan lebih besar dibandingkan zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak kloroformnya. Perbedaan yang ditimbulkan diduga disebabkan adanya perbedaan komposisi dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak dalam menghambat bakteri.

Merujuk pada hasil ekstrak yang diperoleh, metanol memiliki ekstrak yang lebih berat sehingga konsentrasi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diisolasi oleh pelarut metanol diduga memiliki kandungan senyawa lebih besar



dibandingkan dengan kloroform sehingga dalam proses merusak dinding sel bakteri uji *Vibrio parahaemolyticus* senyawa-senyawa tersebut lebih efektif sehingga menghasilkan daya hambat yang lebih besar. Hal ini juga ditemukan Naiborhu *et al.*, (1999) bahwa senyawa antimicrobial dapat bersifat bakteristatik pada konsentrasi minimum tertentu dan jika bahan antimikrobia dihilangkan, perkembangbiakan bakteri berjalan kembali seperti semula.

Senyawa terpen contohnya triterpenoid merupakan golongan yang berpotensi sebagai antimikroba (Robinson,1995), dan pada beberapa golongan senyawa fenolik seperti flavonoid (Harbone,1987). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Harbone (1987) dan Hosettmann (1991) ditemukan kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun *Avicennia marina* ditemukan senyawa seperti alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, terpenoid, triterpenoid dan glikosida.

Ditemukan Marlina (2004), *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri Gram negatif dengan dinding sel yang lebih tipis dari gram positif karena mengandung peptidoglikan (5%-10%) dari komposisi dinding sel. Sehingga dibutuhkan konsentrasi senyawa-senyawa yang sesuai dalam merusak dinding sel bakteri. Menurut Jawetz *et al.*, (2001) pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat adanya penghambatan terhadap sintesis protein oleh senyawa-senyawa bioaktif. Menurut Jawetz (1998) ketahanan bakteri Gram negatif dan Gram positif terhadap senyawa antibakteri berbeda-beda. Perbedaan kepekaan bakteri Gram negatif dan Gram positif berkaitan dengan struktur dalam dinding selnya, seperti jumlah peptidoglikan (adanya reseptor, pori-pori dan lipid), sifat ikatan silang dan aktivitas enzim autolitik. Komponen tersebut merupakan faktor yang menentukan penetrasi, pengikatan dan aktivitas senyawa antimikroba.

Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membrane sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1972).

**C. Potensi Daun *Avicennia marina* Sebagai Antibakteri *Vibrio parahaemolyticus***

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas daya hambat ekstrak metanol dan kloroform *Avicennia marina* dari lokasi Takalar dan Maros, menunjukkan adanya potensi antibakteri pada ekstrak terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Potensi diindikasikan dengan besar zona bening di sekitar *paper disc* (Tabel 3).

Tabel 3. Daya hambat ekstrak daun *Avicennia marina* berdasarkan lokasi dan pelarut.

Lokasi (Zona)	Jenis pelarut	Ulangan	Diameter zona hambat (mm)		Kontrol positif (mm)	Keterangan penghambatan	
			Zona bening	Rata-rata		+	-
Takalar	Metanol p.a	1	4.00	3.13	8.03	+	-
		2	3.00			-	
		3	2.40			-	
	Kloroform p.a	1	3.10	3.03		-	-
		2	4.00			-	
		3	2.00			-	
Maros	Metanol p.a	1	8.00	7.50	8.30	+	-
		2	7.00			+	
		3	9.30			+	
	Kloroform p.a	1	6.00	7.20		+	-
		2	8.00			+	
		3	7.60			+	

Ket : ada potensi (+), tidak ada potensi (-), 6.00mm (diameter *paper disc*)

Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan kloroform daun *A. marina* yang berasal dari Maros memiliki zona bening yang lebih besar 9,30 mm (3), 8 mm (1) dan 7 mm (2) dengan rata-rata 7.50 mm pada ekstrak metanol dan 8 mm (2), 7.60 (3), 6 mm (1) dengan rata-rata 7.20 pada zona bening yang dihasilkan ekstrak kloroform. Jika dibandingkan dengan zona bening ekstrak metanol dan kloroform *A. marina* yang berasal dari lokasi Maros terdapat perbedaan yang sangat besar.

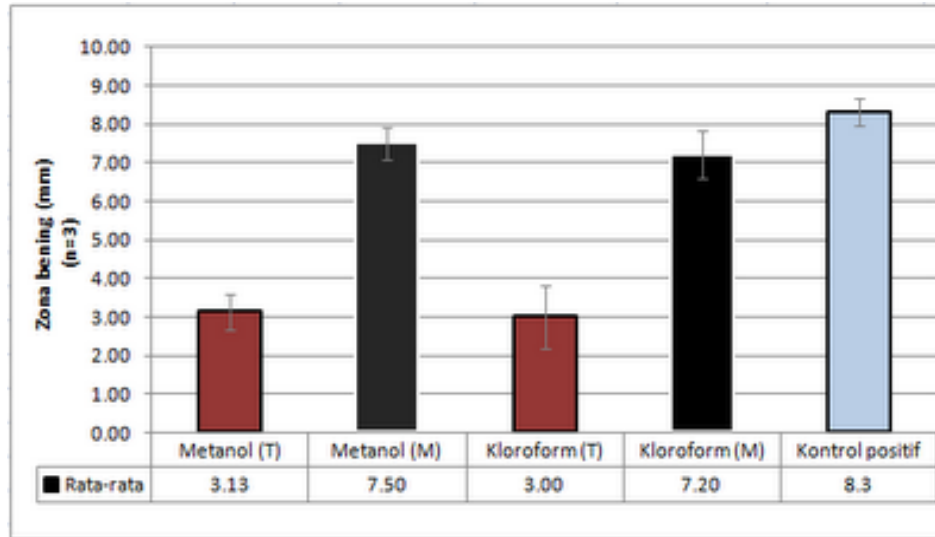
Ekstrak yang menghasilkan daya hambat berupa zona bening bukan berarti berpotensi sebagai antibakteri. Untuk menentukan potensi ekstrak positif sebagai antibakteri dilihat berdasarkan tolak ukur kontrol positifnya pada uji difusi. Hasil pengujian menunjukkan nilai rata-rata daya hambat kontrol positif adalah 8,30 mm. Pada beberapa ulangan dan nilai rata-rata pada ekstrak metanol dan kloroform daun *A. marina* dari lokasi Maros menunjukkan zona bening yang dihasilkan mendekati bahkan ada yang melebihi kontrol positif yang digunakan.

Hasil uji One-way anova menunjukkan perbedaan nyata daya hambat bakteri yang dihasilkan ekstrak metanol *A. marina* dari kedua lokasi dan ekstrak kloroform *A. marina* kedua lokasi, pada taraf  $\alpha = 0,05$ , Tabel 4.

Tabel 4. Uji one way Anova daya hambat ekstrak metanol dan kloroform daun *Avicennia marina*.

Metanol (mm)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.696	2	23.848	47.171	.000
Within Groups	3.033	6	.506		
Total	50.729	8			
Kloroform (mm)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40.242	2	20.121	20.863	.002
Within Groups	5.787	6	.964		
Total	46.029	8			

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa zona bening ekstrak metanol *A. marina* kedua lokasi berbeda nyata, sedangkan kontrol positif tidak berbeda nyata dengan zona bening ekstrak metanol dari lokasi Maros. Ekstrak kloroform *A. marina* kedua lokasi juga menunjukkan perbedaan nyata tetapi kontrol positif tidak berbeda nyata dengan ekstrak kloroform dari lokasi Maros.



Gambar 10. Grafik diameter zona bening ekstrak daun *Avicennia marina* berdasarkan pelarut dan lokasi ( T : Takalar, M : Maros ).

Diameter zona bening yang dihasilkan ekstrak berdasarkan pelarutnya menunjukkan perbedaan yang besar dapat dilihat dari nilai rata-rata ekstrak pada Gambar 10 di atas. Zona bening yang dihasilkan ekstrak metanol (7.50mm) dan kloroform (7.20mm) daun *A. marina* yang berasal dari lokasi Maros lebih besar dan berpotensi sebagai antibakteri dibandingkan ekstrak metanol (3.13mm) dan kloroform (3.00mm) daun *A. marina* yang berasal dari Takalar. Adanya perbedaan yang signifikan antara zona bening yang dihasilkan ekstrak dari kedua lokasi diduga disebabkan oleh komposisi dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan daun *A. marina* berbeda yang berasal dari lokasi Maros dan

Takalar. Menurut Naiborhu *et al.* (1999) hal ini dimungkinkan oleh konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang tinggi pada ekstrak.

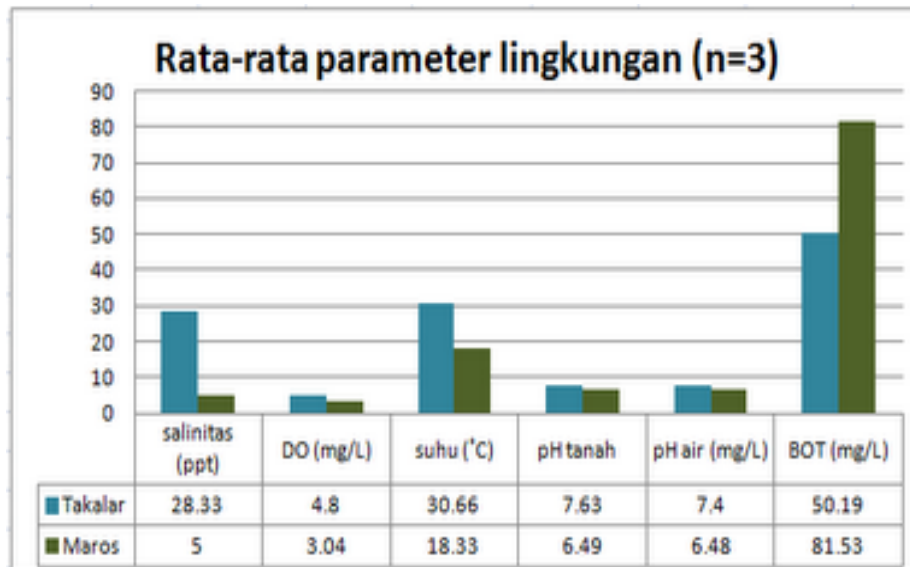
Kondisi lingkungan perairan dan komponen biotik yang berbeda pada kedua lokasi mempengaruhi produktivitas mangrove *A. marina* dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasi dan eksistensinya terhadap kondisi lingkungannya, sehingga menyebabkan kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri uji berbeda berdasarkan komposisi dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun mangrove *A. marina*.

Hal yang sama ditunjukkan juga pada beberapa ulangan pada uji difusi didapatkan nilai zona bening yang dihasilkan ekstrak metanol dan kloroform daun *A. marina* yang berasal dari lokasi Maros lebih besar dan mendekati kontrol positif (Kloramfenikol) yang digunakan sehingga dapat dikatakan memiliki potensi antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus*, sedangkan ekstrak metanol dan kloroform *A. marina* yang dari lokasi Takalar memiliki kemampuan dalam menghambat aktivitas bakteri namun tidak berpotensi sebagai anti bakteri. Berikut akan dibahas secara rinci hubungan parameter lingkungan dengan senyawa metabolit sekunder.

#### **D. Keterkaitan Antara Senyawa Metabolit Sekunder Daun *Avicennia marina* Dengan Parameter Lingkungan**

Lokasi pengambilan sampel daun *Avicennia marina* dilakukan pada dua lokasi lingkungan perairan yang berbeda dan pada kondisi air laut sedang surut. Sampel dari lokasi Takalar diambil di sekitar garis pantai PPLH yang lingkungannya masih alami, sedangkan untuk untuk sampel Maros diambil di muara sungai Maros yang berdekatan dengan pemukiman penduduk dan banyaknya aktivitas masyarakat disekitarnya (Lampiran 4).

Hasil analisis uji T berpasangan parameter lingkungan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada beberapa parameter lingkungan dari kedua lokasi (Lampiran 6). Hal ini juga diduga menyebabkan perbedaan produktivitas senyawa metabolit sekunder mangrove dalam hubungannya dengan eksistensi terhadap lingkungan.



Gambar 11. Grafik parameter lingkungan lokasi Takalar dan Maros.

Parameter lingkungan yang menunjukkan perbedaan nyata pada Gambar 11 di atas akan dibahas secara umum untuk melihat pengaruh perbedaan parameter lingkungan terhadap mangrove *Avicennia marina*. Salinitas pada kedua lokasi sangat berbeda nilai yang tinggi pada lokasi Takalar (28.33 ppt) disebabkan letak dari *Avicennia marina* yang tidak jauh dari garis pantai jika dibandingkan dengan lokasi Maros (0-5 ppt) yang adalah muara sungai yang suplai air tawarnya sangat besar sehingga salinitas mendekati tawar. Salah satu kemampuan mencolok spesies mangrove adalah tumbuh dalam berbagai tingkat salinitas mulai dari air tawar sampai ke tingkat di atas air laut. Beberapa studi sebelumnya menunjukkan bahwa cekaman garam menginduksi perubahan konsentrasi triterpenoid di

mangrove jenis non-sekresi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid memainkan peran penting untuk melindungi mangrove dari cekaman garam (Oku *et al.*, 2003). Hal ini yang diduga memungkinkan mangrove *Avicennia marina* mampu beradaptasi pada kondisi salinitas perairan yang ekstrim yang merupakan mangrove pioner. Kondisi yang tercekam terhadap salinitas mendekati tawar maupun salinitas tinggi yang memicu beberapa senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid bereaksi sebagai bentuk pertahanan mangrove terhadap kondisi lingkungannya. Dalam kondisi cekaman garam, tanaman dapat mengubah tingkat metabolit sekunder seperti triterpenoid atau senyawa fenolik untuk meningkatkan sistem pertahanan mereka terhadap stress oksidatif.

Oksigen terlarut (DO) menunjukkan perbedaan pada lokasi Maros (3.04 mg/L) dan Takalar (4.80 mg/L) dikarenakan kondisi perairan yang berbeda sehingga berpengaruh terhadap suplai oksigen pada perairan. Hal ini juga dimungkinkan dengan kandungan bahan organik, anorganik dan organisme perairan yang berbeda sehingga kebutuhan dan produktivitas DO akan berpengaruh. Salmin (2000) menyatakan kandungan oksigen terlarut pada perairan menjadikan terjadinya kompetisi akan kebutuhan oksigen antara mangrove dan organisme-organisme perairan dan vegetasi perairan sekitarnya. Mangrove melakukan bentuk adaptasi dengan memanfaatkan kandung senyawa bioaktif metabolit sekundernya dalam memperoleh oksigen dari kompetitor pada lingkungan perairan. Senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid melakukan aktivitas antioksidan dengan cara menekan pembentukan spesies oksigen reaktif terhadap organisme lain (Harborne, 1987). Kelarutan oksigen juga sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor terutama suhu, pada ke dua lokasi suhu menunjukkan perbedaan nyata. Dengan peningkatan suhu akan menyebabkan konsentrasi oksigen akan menurun dan sebaliknya suhu yang

semakin rendah akan meningkatkan konsentrasi oksigen terlarut semakin tinggi (Barus, 2004).

Tingkat keasaman tanah (pH) lokasi Takalar (7.63 mg/L) dengan kondisi tanah lumpur berlempung pasir dan Maros (6.49 mg/L) dengan kondisi tanah berlumpur dan lempung sangat halus. Perbedaan nilai yang ditunjukkan tidak jauh berbeda dikarenakan lokasi pengambilan sampel memiliki tanah berlumpur yang hampir cenderung sama. Jenis tanah akan mempengaruhi tingkat keasaman (pH) tanah tersebut.. Reaksi tanah yang penting adalah masam, netral dan alkalin. Suatu tanah disebut masam apabila pH nya kurang dari 7, netral bila sama dengan 7 dan basa bila lebih dari 7 ( Hakim, dkk. 1986 ). Menurut Novizan (2002) Mengetahui mudah tidaknya unsur-unsur hara dalam tanah diserap oleh tanaman. Unsur hara akan mudah diserap oleh tanaman (akar tanaman) pada pH netral dan menunjukkan kemungkinan adanya unsur-unsur beracun pada tanah yang mudah masuk dalam tubuh tumbuhan. Tumbuhan mangrove memiliki antioksidan alami yang diproduksi oleh senyawa bioaktif metabolit sekunder untuk menangkal racun yang berasal dari perairan. Antioksidan utama yang diproduksi oleh tumbuhan adalah metabolit sekunder yang meliputi senyawa fenolat sederhana dan kompleks. Senyawa antioksidan alami umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid (Pratt dan Hudson 1990).

Kehidupan organisme dan toksisitas perairan berhubungan dengan tingkat keasaman perairan (pH). Pada lokasi Takalar (7.4 mg/L) dengan kondisi lingkungan perairan yang masih alami dan dipengaruhi pasang surut secara langsung sedangkan pada lokasi Maros (6.48 mg/L) dengan kondisi perairan yang berdekatan dengan rumah penduduk dan aktivitas masyarakat. Kisaran pH air 6-8 masih dikatakan normal, Yan *et al.*, (2010) mengemukakan bahwa penurunan pH akan



menyebabkan toksisitas logam berat menjadi semakin besar dimana sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan yang sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan. Beberapa senyawa metabolit sekunder memiliki kemampuan dalam mentolerir logam berat pada perairan, sejumlah senyawa flavonoid efisien dalam mengikat logam, diantaranya logam besi bebas dan tembaga bebas, (Harbone, 1987).

Bahan organik terlarut (BOT) mempengaruhi kesuburan tanah mangrove, tergantung dari endapan yang dibawa oleh air, yang umumnya kaya akan bahan organik dan mempunyai nilai nitrogen tinggi. Perbedaan nilai kandungan BOT pada kedua lokasi sangat besar, pada lokasi Takalar (50.19 mg/L) sedangkan pada lokasi Maros (81.53 mg/L). Bahan organik yang terdapat di dalam tanah, terutama berasal dari sisa tumbuhan yang diproduksi oleh mangrove sendiri. Serasah secara lambat akan diuraikan oleh mikroorganisme, seperti bakteri, jamur dan lainnya (Soeroyo, 1993). Hadirnya mikroorganisme sebagai bentuk gangguan ekstrenal lingkungan sekitar mangrove akan memberikan gangguan terhadap kompetisi ruang dan makan dan menjadi epifit pada bahagian mangrove yang dapat merusak dapat merusak membran, organel, dan makromolekul sehingga mangrove memproduksi berbagai jenis antioksidan dari senyawa bioaktif sebagai suatu mekanisme perlindungan terhadap senyawa oksidatif yang dihasilkan sebagai respon terhadap tekanan lingkungan yang (Mittler, 2002; Noctor & Foyer, 1998). Perubahan tekstur yang cepat dan tiba-tiba menyebabkan terganggunya vegetasi yang ada di tempat tersebut. (Tomlinson, 1986). Panjaitan (2009), mengemukakan bahwa mangrove memiliki kemampuan dalam menyerap bahan-bahan organik dan non organik dari lingkungannya ke dalam tubuhnya melalui membran sel. Proses ini

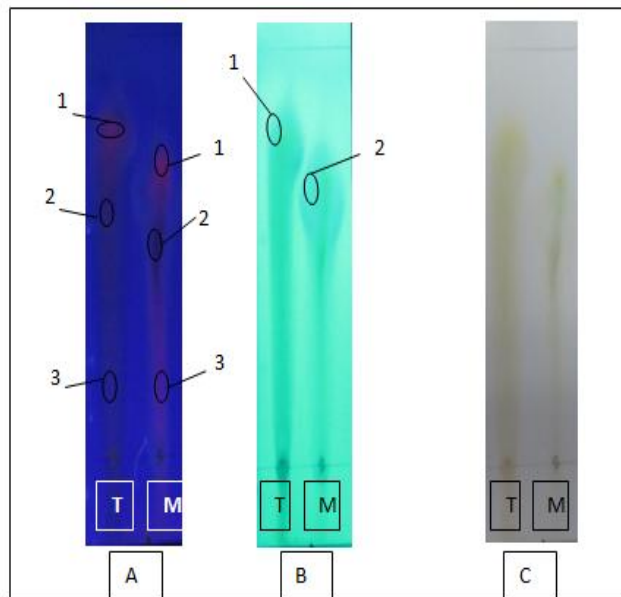
merupakan bentuk adaptasi mangrove terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim (Amin, 2001).

Komponen biotik pada kedua lokasi juga berbeda didasarkan lingkungan perairannya yang menyebabkan adaptasi dan daya kompetisi yang berbeda dalam kehidupan mangrove. Berdasarkan pengamatan secara langsung pada lokasi Takalar tumbuhan yang berasosiasi dengan mangrove *Avicennia marina* terdiri dari mangrove yang sejenis dan beberapa tumbuhan peskapre yang jumlahnya sedikit dengan tingkat kerapatan yang kecil. Beberapa organisme yang ditemukan sekitar mangrove berupa serangga, *crustacea* dan beberapa jenis moluska kecil. Sedangkan pada lokasi Maros tumbuhan yang berasosiasi didominasi beberapa jenis tumbuhan muara dan mangrove *Rhizophora sp* yang kerapatannya tinggi, organisme perairan yang lebih bervariasi terdiri dari ikan air tawar, moluska, *crustacea* dan beberapa jenis serangga pada daun mangrove.

Perbedaan faktor biotik dan abiotik di atas dari kedua lokasi pengambilan sampel daun *Avicennia marina* diduga menyebabkan perbedaan dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder disebabkan bentuk adaptasi dan intensitas biokimianya berbeda. Besarnya senyawa yang dihasilkan bergantung pada seberapa besar gangguan yang dihasilkan dari lingkungan tersebut yang tidak dapat ditoleransi oleh mangrove *Avicennia marina*. Ada kecenderungan semakin besar gangguan biotik dan abiotik di lingkungan organisme tersebut hidup, maka semakin tinggi produksi dan bioaktivitas metabolit sekunder yang dihasilkan. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Lozano *et al.*, (1998). Hal ini juga dibuktikan oleh beberapa penelitian menunjukkan bahwa antioksidan memegang peranan penting dalam adaptasi tumbuhan terhadap tekanan abiotik dan biotik (Burritt & Mackenzie, 2003; Vranova *et al.*, 2002).

### E. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun *Avicennia marina*

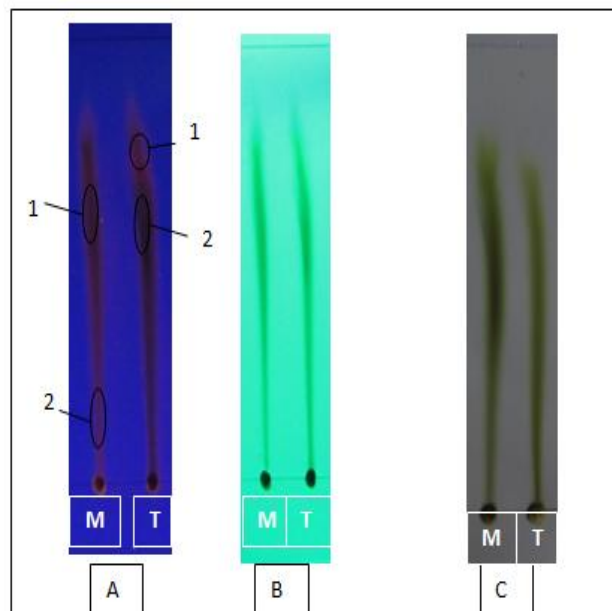
Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak berdasarkan pelarut dan lokasinya dilakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT) yang ditandai dengan noda pada lempeng KLT. Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan noda pada masing-masing pelarut dari kedua lokasi (Gambar 12 dan Lampiran 7).



Gambar 12. Profil noda pada ekstrak metanol *Avicennia marina* dari lokasi Takalar (T) dan Maros (M). ( A) Tampak pada UV 366; B) Tampak pada UV 254; C) Tampak awal)

Pada lempeng KLT ekstrak metanol *Avicennia marina* dari lokasi Takalar dan Maros menunjukkan adanya profil noda. Pada ekstrak metanol *A. marina* dari lokasi Takalar (T) A 1,2, nampak pemisahan noda. A1 berwarna merah ungu (violet) dan ungu kecoklatan pada noda A2, sedangkan pada ekstrak metanol *A. marina* dari lokasi Maros (M) adanya profil noda ditunjukkan pada A 1, 2,3, profil noda A1 berwarna merah ungu (violet) , A2 ungu tua dan sedikit kecoklatan, A3 merah muda (violet) dan sedikit kecoklatan kemungkinan adanya senyawa triterpenoid dan

flavonoid. Menurut Sulistijowati dan Gunawan (2001) menyebutkan bahwa golongan senyawa flavonoid di bawah sinar UV 366 menunjukkan noda berwarna merah muda dan golongan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak noda berwarna merah ungu (violet) (Listiani *et al.*, 2005), coklat (Rita *et al.*, 2008) dan ungu tua (Bawa, 2009). Lempeng KLT B pada B1 dan B2 juga menunjukkan profil noda biru, menurut Stahl (1985) Jika terdapat senyawa terpenoid yang terdiri dari golongan monoterpenoid dan sesquiterpenoid maka akan timbul warna violet / ungu, merah, biru, abu-abu / coklat, atau hijau.



Gambar 13. Profil noda pada ekstrak kloroform *Avicennia marina* Takalar (T) dan Maros (M). ( A) Tampak pada UV 366; B) Tampak pada UV 254; C) Tampak awal)

Pada lempeng KLT ekstrak kloroform *A. marina* dari lokasi Takalar dan Maros menunjukkan adanya profil noda yang dihasilkan. A1 dan 2 pada ekstrak kloroform *A. marina* dari lokasi Maros adanya noda berwarna ungu tua kecoklatan, merah ungu (violet) dan hampir menyerupai warna orange atau merah, Soetarno dan Soediro, (1997) apabila ada noda yang naik yang memberikan perubahan

warna menjadi orange atau merah, diduga positif alkaloid, sedangkan pada ekstrak kloroform *A. marina* dari lokasi Takalar terlihat pada A1 noda yang berwarna ungu dan A2 ungu tua kecoklatan, (Tabel 4).

Tabel 4 : Identifikasi kandungan golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol dan kloroform daun *Avicennia marina*

No.	Lokasi	Ekstrak berdasarkan pelarut	Profil noda	Golongan senyawa
1	Takalar	Metanol	A1 : Merah ugu (Violet), A2 : U <u>h</u> gu kecoklatan B1 : Biru	A1 : Triterpenoid A2 : Flavonoid B1 : Terpenoid
	Maros		A1 : Merah ungu (violet) A2 : Ungu tua sedikit kecoklatan B2 : Biru	A1 : Triterpenoid A2 : Flavonoid B2 : Terpenoid
2	Takalar	Kloroform	A1 : Ungu A2 : Ungu tua kecoklatan	A1 : Triterpenoid A2 : Flavonoid
	Maros		A1 : Ungu tua kecoklatan A2 : Merah ungu (violet), menyerupai orange atau merah	A1 : Triterpenoid A2 : Triterpenoid/ Alkaloid

Ket : A : Tampak pada UV 366  
B : Tampak pada UV 254

Terjadi perbedaan profil noda yang dihasilkan dari hasil uji KLT hal ini diduga disebabkan sifat pelarut ekstrak. Menurut Khopkar (2003) fase gerak bekerja berdasarkan prinsip kapilaritas terhadap fase diam. Fase gerak yang dielusikan akan menggerakkan komponen senyawa dalam sampel dengan berbagai laju karena perbedaan tingkat interaksi dari setiap komponen dengan matriks dan kelarutannya dalam pelarut. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder baik dari komposisi senyawa pada ekstrak dan konsentrasi senyawa berdasarkan profil noda pada lempeng KLT yang dihasilkan ekstrak daun *A. marina* berdasarkan pelarut dan lokasinya.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

1. Ekstrak metanol dan kloroform daun mangrove *Avicennia marina* yang berasal dari kedua lokasi memiliki sifat daya hambat terhadap aktivitas bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, sedangkan yang berpotensi sebagai antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah ekstrak metanol dan kloroform yang berasal dari lokasi Maros
2. Berdasarkan Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada ekstrak daun *Avicennia marina* diidentifikasi beberapa senyawa metabolit sekunder. Pada ekstrak metanol daun *A. marina* dari lokasi Takalar dan Maros terdapat kandungan senyawa golongan terpenoid, triterpenoid dan flavonoid sedangkan pada ekstrak kloroform dari kedua lokasi diidentifikasi golongan senyawa alkaloid, triterpenoid dan flavonoid.

### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengisolasi senyawa murni dari fraksi ekstrak daun mangrove *Avicennia marina* dan penelitian terhadap ekstrak bahagian lain tumbuhan mangrove *A. marina* untuk melihat potensi sebagai antibakteri. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) dari ekstrak daun *A. marina* diharapkan dapat dianalisis lebih lanjut dengan metode GC-MS dan HPLC.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abeyasinghe, P.D, R.P. *Wanigatunge, 2006. Evaluation of antibacterial activity of different mangrove plant extracts.* Faculty of Science University of Ruhuna
- Achmadi, S.S. 1992. Teknik Kimia Organik. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Aksornkoe, S. (1993). Ecology and Management of Mangrove. IUCN - TheWorld Conservation Union, Bangkok, Thailand. 176 pp.
- Amin, B. 2001. *Akumulasi dan Distribusi Logam Berat Pb Dan Cu pada Mangrove Avicennia marina di Perairan Pantai Dumai, Riau*, 85 hal
- Amsterdam, D., 1992. Susceptibility. Dalam Alexander, M., D.A., Hopwood, Iglewski, B.H. dan Laskin, A.I., peny. *Encyclopedia of Microbiology.* Academic Press Inc., San Diego.
- Badrudin, A. 1993. *Sekilas mengenai hutan bakau di Propinsi Riau.* Makalah disampaikan dalam seminar sehari deforesasi hutan mangrove. 7 Januari 1993. Fakultas Perikanan Universitas Riau. Pekanbaru 10 hal.
- Bandaranayake, WM. 1998. Traditional and Medicinal Uses of Mangroves. *Mangroves and Salt Marshes.* 2:133-148.
- Barus, T. A. 2004. Pengantar Limnologi Studi Tentang Ekosistem Air Daratan. Medan: USU Press
- Bawa, I.G.A.G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah pare (*Momordica charatialis*) . Bukit Jimbaran: Jurnal Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 3(2). ISSN 1907-9850: 1117-124.
- Bombardelli, E. 1991. Technologis for The Processing of Medicinal Plants. Di dalam R. O. B. Wijesekera. *The Medicinal Plant Industry.* CRC Press, Boca Raton.
- Burritt, D.J. & MacKenzie, S. 2003. Antioxidant metabolism during acclimation of *Begonia erythrophylla* to high light levels. *Ann Bot* 91 : 783 94.
- Cahyo, W. 2009. Pemanfaatan Mangrove Api-api (*Avicennia spp*) Sebagai Bahan Pangan Dan Obat. *Skripsi* Dep. Silvikultur, Fakultas Kehutanan IPB.
- Chapman, V.J. 1977. Wet Coastal Ecosystems. *Ecosystems of the World: 1*, dalam Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia, Noor, R.Y., M. Khazali, dan I.N.N. Suryadiputra. 1999. PHKA/WI-IP, Bogor
- Charles-Hernández, G.L., E. Cifuentes, S.J. Rothenberg. 2006. *Environmental factors associated with the presence of Vibrio parahaemolyticus in sea*



*products and the risk of food poisoning in communities bordering the Gulf of Mexico.* Journal of Environmental Health Research, Vol. 5 issue 2

Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* New York : Columbia University Press.

Coremap, 2012. Bakau. <http://www.coremap.or.id/datin/mangrove/?act=searchform>

Darwis.D,2000, Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alayam Hayati, FMIPA Universitas Andalas Padang.

Dasuki, A.U. (1991). *Sistematika Tumbuhan Tinggi.* Bandung : ITB.

Di Cosmo, F., and M. Misawa. 1995. Plant Cell and Tissue Culture : Alternatives for Metabolites Production. *Biotechnology Advances* 3 : 425-453.

Eryanti, 1999. *Identifikasi dan isolasi senyawa kimia dari Mangrove (hutan Bakau).* Laporan Hasil Penelitian Pusat Penelitian Kawasan Pantai dan Perairan Universitas Riau. 18 hal.

Erliza, N., 2006. Ekstraksi Giberalin dari Akar Eceng Gondok. Skripsi Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.

Hakim, N, M. Y. Nyakpa,S.G. Nugroho, A.M. Lubis, M.R. Saul, M. A. Diha, G. B. Hong, dan H. H. Bailey. 1986. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah.* Lampung: Universitas Lampung.

Harbone, JB., 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Ed ke-2. Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. Institut Tekhnologi Bandung. Bandung.

Houghton, P.J., A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook For The Fractination Of Natural Extract.* Chapman &Hall, London.

Hutabarat, S. dan Evans M.S. 1985. *Pengantar Oceanografi.* Universitas Indonesia Press Jakarta. 159 hal.

Hosettmann, K. 1991. *Methods in Plant Biochemistry.* Vol 6, Academic Press New York.

Ihsan, D. 2011. Bioaktivitas Minyak Atsiri Pohon Suren (*Toona sinensis* Roemor) Berdasarkan Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.

Jawetz, E., Melnick G.E. and C.A Adelberg. 2001. *Mikrobiologi kedokteran.* Edisi I. Diterjemahkan oleh Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. SalembaMedika. Surabaya.

- Jawetz, M; Adelberg's, 1998. Mikrobiologi Kedokteran. edisi 23. Alih Bahasa: Huriwati Hartanto dkk. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran ECG. 2005.
- Khopkar, SM. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Saptorahardjo, penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Basic Concept of Analytical Chemistry*
- Kint, A. 1934. *De luchtfoto en de topografische terreingesteldheid in de mangrove*. De Tropische Natuur, 23: 173-189.
- Kusmana, C.,2009. Ani. S, Yekti. H, Poppy. O,. *Pemanfaatan Jenis Pohon Mangrove Api-api (Avicennia Spp) Sebagai Bahan Pangan Dan Obat-Obatan*. Institut Pertanian Bogor.
- Lalitha, M.K, (2004). *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Christian Medical College. Vellore, Tamil Nadu.
- Listiani, L, Fidrianny dan Sukrasno. 2005. Telaah Kandungan Kimia dari daun Kucai (Allium Schoenoprasum L. Liliaceae). Bandung: *Jurnal Sekolah Farmasi*. ITB.
- Lay, Bibiana W. dan Hastowo, Sugyo, (1992), Mikrobiologi, Rajawali Press, Jakarta.
- Lozano, M.B, Farias F.G, Acosta, Gasca A.G, Zavala. 1998. Variatioj of Antimicrobial Activity of Sponge Aplysina fistularis (Pallas, 1766) and Its Relation to Associated Fauna. *J.Mar.Biol.Ecol.* 223 (1988): 1-18.
- Mantell, S. H., H. Smith, 2008. *In vitro* selection and characterization of drought tolerance somaclones of tropical maize (*Zea mays* L.). *In* : Mantell, J. M., E. Magiri, A. O. Rasha and J. Machuka
- Marlina, 2004 penelitian Karakteristik Molukuler Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Dari Sampel Air Laut Dan Uji Resistensi Antibiotiknya Fakultas MIPA Universitas Andalas
- Moat AG, Foster JW, Spector MP. 2002. Microbial Physiology. Fourth ed. New York: Wiley-Liss, Inc. 715 hal.
- Macnae, W. 1966. *A General Account of The Fauna and Flora of Mangrove Swamps and Forests in The Indowest-Pacific Region*. Adv. Mar. Biol. 6: 73 - 270.
- \_\_\_\_\_. 1968. A general account of the fauna and flora of mangrove swamps and forests in the Indo-West Pacific region, dalam Inventarisasi Hutan Mangrove Sebagai Bagian Dari Upaya Pengelolaan Wilayah Pesisir Kabupaten Deli Serdang, Ningsih, S.S. 2008. Tesis. USU e-Repository.
- Maria, F.S., 2008. *Vibrio parahaemolyticus* Penyebab Gastroenteritis [http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/maria-fransiska\\_silaonang0781141342.pdf](http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/maria-fransiska_silaonang0781141342.pdf)
- McLaughlin, J.B., A. DePaola, C.A. Bopp, K.A. Martinek, N.P. Napolilli, C.G. Alliso , S.L. Murray, E.C. Thompson, M.M. Bird, and J.P. Middaugh. 2005. Outbreak

of *Vibrio parahaemolyticus* Gastroenteritis Associated with Alaskan Oysters. The new england journal of medicine 353;14 www.nejm.org October 6

- Manitto, P. 1981. Biosintesis Produk Alami. Terjemahan : Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, Antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*; 7 : 405 10.
- Naiborhu, P.E, I, Efendi, dan N. Hasibuan 1999. Sensivitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap Mangrove (*Xylocarpus granatum*, *Avicennia alba*, *Sonneratia ovate*, *Excoecaria agallocha*). Hasil Penelitian Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau.
- Noctor, G. & Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione : keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1998; 49 :249 79.
- Noor, R, Y., M. Khazali, dan I N.N. Suryadiputra. 1999. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. PHKA/WI-IP, Bogor.
- Novizan, 2002. Petunjuk Pemupukan yang Efektif. PT. Agro Media Pustaka. Depok
- Oku, H. Baba, Kogah, Takarak, Iwasaki H. Lipid composition of mangrove sand its relevance to salt tolerance. *J Plant Res* 2003 : 116 : 37-45.
- Panjaitan, G. Y., 2009. Akumulasi Logam Berat Tembaga (Cu) Dan Timbal (Pb) Pada Pohon *Avicennia marina* Di Hutan Mangrove. Skripsi. Departemen Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan. 58 hal.
- Pavia, D.L; G.M. Lampman, G.S. Kriz, and R.G. Engel; 1985, *Organic Laboratory Techniques*, Saunders College Publishing, Florida, USA.
- Pelczar, MJ., Reid RD. 1972. *Microbiology*. 3rd ed. McGraw Hill Book Co. New York. 948 hal.
- Pratt, DE, Hudson B.J.F. 1990. Natural antioxidant not exploited commercially. Di dalam: Hudson B.J.F, editor. *Food Antioxidant*. London: Elsevier Applied Science. hlm. 230-429.
- Prisca, S.P., 2012. Analisa Proksimat, Ekstraksi, Dan Uji Fitokimia Pada Tumbuhan Api-api (*Avicennia* spp). *Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor*.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S., 2005, "Dasar-dasar Mikrobiologi 1".*

- Pratama, M.R. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar. *Laporan Hasil Penelitian Program Studi Biologi*. Fakultas MIPA Teknologi Sepuluh Nopember.
- Rita, W.S., Suirta, I. W dan Sabirin, A. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi Sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare*. Bukit Jimbaran: Jurnal Kimia FMIPA Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 2(1). ISSN 1907-9850: 1-6.
- Robinson, 1995. Phyto-chemistry in plants. Di dalam: Naidu AS. *Natural Food Mycrobial System*. USA: CRC Press
- Santoso, S. 2005. *Metodologi penelitian kuantitatif & kualitatif*. Jakarta. Prestasi pustaka publisher.
- Salmin, 2000. Kadar Oksigen Terlarut di Perairan Sungai Dadap, Goba, Muara Karang dan Teluk Banten. Dalam : *Foraminifera Sebagai Bioindikator Pencemaran, Hasil Studi di Perairan Estuarin Sungai Dadap, Tangerang*. (Djoko P. Praseno, Ricky Rositasari dan S. Hadi Riyono, eds.) P3O - LIPI hal 42 – 46
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, ITB, Bandung
- Soetarno, S., dan I.S., Soediro, (1997). *Standardisasi Mutu Simplisia dan Extrak Bahan Obat Tradisional*, Presidium Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi.
- Suradikusuma, E., 2001. *Penuntun Praktikum Uji Hayati Bogor*. Bogor : Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Sumaryono, W. 1999. *Produksi Metabolit Sekunder Tanaman Secara Bioteknologi*. Prosiding : Seminar Nasional Kimia Bahan Alam '99. Hal 38. Universitas Indonesia-unesco.
- Sulistijowati, AS., dan D Gunawan. 2001. *Efek ekstrak daun kembang bulan (Tithonia diversifolia A. Gray) terhadap Candida albicans serta profil kromatografinya*. Cermin Dunia Kedokteran No. 130. hal. 31-35.
- Tomlinson, P.B. 1986. *The Botany of Mangroves*. Cambridge: Cambridge University Press
- Tohir, AM., 2010. Teknik ekstraksi dan aplikasi beberapa pestisida nabati untuk menurunkan palatabilitas ulat grayak (*spodoptera litura* fabr.). *Buletin Teknik Pertanian* 15 (1): 37-40.
- Vranova, E., Atichartpongkul, S., Villarroel, R., Van Montagu, M., Inze, D., & Van Camp, W. 2002. *Comprehensive analysis of gene ex-expression in Nicotiana*

*tabacum* leaves accli-mated to oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99 : 10870-5.

Withanawasam, DM. 2002. Preliminary in Vitro Screening of Antibacterial and Anti-Fungal Compounds of Mangrove Plant Extracts for Pathogens from Different Sources.

Wibowo, C., Kusmana C., Suryani A, Hartati Y, Oktadiyani P. 2009. *Pemanfaatan Pohon Mangrove Api-Api (Avicennia spp.) sebagai bahan Pangan dan Obat*. [Prosiding Seminar Hasil-Hasil penelitian]. Bogor: Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.

Yan, Z. Z., L. Ke, N. F. Y. Tam. 2010. *Lead Stress in Seedlings of Avicennia marina*, 48 *Jurnal Mina Laut Indonesia*, Januari 2013 @FPIK UNHALU .

Yusran, 2000. *Komponen Kimia Dalam Praktek Phytochemistry*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

