

**SKRINING SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
PROPAGUL BUAH MANGROVE *Rhizophora mucronata*
DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK TERHADAP
*Artemia salina***

SKRIPSI

RETNOWATI



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**SKRINING SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
PROPAGUL BUAH MANGROVE *Rhizophora mucronata*
DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK TERHADAP
Artemia salina.**

**RETNOWATI
L111 14 307**

SKRIPSI

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



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRINING SENYAWA METABOLIT SEKUNDER PROPAGUL BUAH MANGROVE
Rhizophora mucronata DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK TERHADAP *Artemia salina*

Disusun dan diajukan oleh

RETNOWATI

L11114307

Telah dipertahakan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Ilmu Kelautan dan Fakultas
Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin
pada tanggal 18 Maret 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Prof. Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si
NIP. 196512031992021001

Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Syafiuddin, M.Si
NIP. 196601201991031002

Ketua Program Studi

Dr. Ahmad Faizal, ST., M.Si
NIP. 197507272001121003

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Retnowati
Nim : L111 14 307
Program Studi : Ilmu Kelautan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Propagul Buah Mangrove *Rhizophora mucronata* dan Uji Toksisitas Ekstrak Terhadap *Artemia salina*

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya sendiri

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan Skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 13 April 2021

Yang Menyetakan



Retnowati
L111 14 307

PERNYATAAN AUTHORSHIP

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Retnowati

Nim : L111 14 307

Program Studi : Ilmu Kelautan

Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi Skripsi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan tim pembimbing sebagai author dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan Skripsi) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan Skripsi ini, maka pembimbing sebagai salah satu seorang dari penulis berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap dikutipkan.

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kelautan,



Dr. Ahmad Faizal, ST., M.Si
NIP. 197507272001121003

Makassar, 13 April 2021

Penulis



Retnowati
L111 14 307

ABSTRAK

RETNOWATI. L111 14 307. “Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Propagul Buah Mangrove *Rhizophora mucronata* dan Uji Toksisitas Ekstrak Terhadap *Artemia salina*”. Dibimbing oleh Abdul Haris sebagai Pendamping Utama dan Syafiuddin sebagai Pendamping Anggota.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder pada propagul buah mangrove *Rhizophora mucronata* dan menguji toksisitas ekstrak propagule buah mangrove *R. mucronata* terhadap *A. salina*. Pengambilan sampel dilakukan di Kampung Bira, Desa *Lantebung*, Kecamatan Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel yang diambil adalah bagian propagul buah mangrove dari beberapa individu *R. mucronata* sebanyak 1 kg. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut *metanol*, *etil asetat* dan *n-heksan* p.a. sehingga diperoleh rendemen ekstrak dari proses maserasi (*metanol*: 5 gram, *etil-asetat*: 2,5 gram, dan *n-heksan*: 3,5 gram). Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak propagul buah mangrove *R. mucronata* dilakukan dengan uji GC-MS. Pengujian toksisitas *A. salina* terhadap ekstrak propagul buah mangrove *R. mucronata* dilakukan dengan metode uji sitotoksitas *BSLT*. Hasil skrining senyawa metabolit sekunder ekstrak propagul buah mangrove *R. mucronata* dengan pelarut *metanol* teridentifikasi senyawa metabolit sekunder jenis steroid, pada ekstrak dengan pelarut etil -asetat mengandung senyawa steroid, sedangkan pada ekstrak dengan pelarut *n-heksan* positif mengandung senyawa steroid

Kata Kunci: *R. mucronata*, metabolit sekunder, GC-MS, toksisitas, *BSLT*, *A. salina*

ABSTRACT

RETNOWATI. L111 14 307. “Screening for Secondary Metabolite Compounds of *Rhizophora mucronata* Mangrove Fruit Propagul and Toxicity Test of Extracts Against *Artemia salina*”. Supervised by Abdul Haris as the Main Guide and Syafiuddin as Member Advisor.

This study aims to determine the class of secondary metabolite compounds in *Rhizophora mucronata* mangrove fruit propagules and to test the toxicity of *Rhizophora mucronata* mangrove fruit propagule extract against *Artemia salina*. The samples were taken in Bira Village, Lantebung Village, Tamalanrea District, Makassar City, South Sulawesi. Samples taken were 1 kg of mangrove fruit propagules from several individuals of *Rhizophora mucronata*. Extraction was carried out by maceration method with methanol, ethyl acetate and n-hexane p.a. in order to obtain the extract yield from the maceration process (methanol: 5 grams, ethyl-acetate: 2.5 grams, and n-hexane: 3.5 grams). Identification of secondary metabolites in the mangrove fruit propagule extract *Rhizophora mucronata* was carried out by GC-MS test. Toxicity testing of *Artemia salina* against mangrove fruit propagule extracts of *Rhizophora mucronata* was carried out using the BSLT cytotoxicity test method. Screening results of secondary metabolite compounds of *Rhizophora mucronata* mangrove fruit propagule extract with methanol solvent identified secondary metabolites of steroids, the extract with ethyl-acetate solvent contained steroid compounds, while the extract with positive n-hexane solvent contained steroid compounds.

Keywords: *R. mucronata*, secondary metabolites, GC-MS, toxicity, BSLT, *A. salina*

RIWAYAT HIDUP



Retnowati, dilahirkan di Kabupaten. Maros pada tanggal 16 November 1995, merupakan anak kelima dari enam bersaudara dari pasangan Usman Abidin dan Sulastri. Penulis menyelesaikan pendidikan formal Sekolah Dasar di SDN 108 Home Base Moncongloe Bulu Kecamatan Moncongloe, Kabupaten Maros, Kota Makassar tahun 2007. Pada tahun itu juga penulis melanjutkan Pendidikan Menengah Pertama di SMPN 06 Moncongloe, Kabupaten Maros dan tamat pada tahun 2010. Kemudian melanjutkan Sekolah Menengah Kejuruan di

SMK Komputer Mutiara Ilmu, Kota Makassar dan selesai pada tahun 2013. Pada tahun 2014 Penulis melanjutkan pendidikan melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN), tepatnya di Universitas Hasanuddin (UNHAS) Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan pada Program Studi Ilmu Kelautan. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Ekotoksikologi Laut. Di bidang keorganisasian mahasiswa, penulis pernah menjadi pengurus Keluarga Mahasiswa Jurusan Ilmu Kelautan periode 2016/2017, masuk dalam Koordinator Kesekretariatan. Penulis menyelesaikan rangkaian tugas akhir yaitu Kuliah Kerja Nyata Reguler Gelombang 96 di Kelurahan Bonto Lebang, Kecamatan Bissappu, Kota Bantaeng tahun 2017, Praktek Kerja Lapang di UPTD PPI Paotere Makassar pada tahun 2018. Terakhir, penulis melakukan penelitian dengan judul "Skrining metabolit sekunder pada propagul buah mangrove jenis *Rhizophora mucronata* dan uji toksisitas ekstrak propagul buah mangrove *Rhizophora munronata* terhadap *Artemia salina*" yang dilaksanakan pada tahun 2018.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil Alamin. Puji Syukur Kehadirat Allah SWT, atas limpahan Ridha dan Rahmat-Nya dan tidak lupa shalawat kepada junjungan besar Nabi dan Rasul Muhammad SAW serta para sahabatnya atas segala perjuangannya ajaran Islam yang telah membawa ummat islam dari alam yang Biadap menuju ke alam yang beradap seperti sekarang ini.

Selama penyusunan Skripsi penulis mengalami banyak kendala, selayaknya manusia sebagai mahluk sosial yang tidak dapat hidup sendiri atau mencukupi kebutuhannya sendiri, namun kendala yang dihadapi dapat teratasi karena adanya dukungan dan dorongan motivasi dari berbagai pihak baik secara moral maupun materil kepada penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak yang telah membantu penulis, yakni kepada:

1. Kepada Kedua Orang Tua Tercinta Usman Abidin dan Sulastri yang telah membesarkan dan mendidik penulis. Demikian pula kepada saudara (i) yang telah mengorbankan waktu, materi dan kasih sayang, Muhammad Anwar, Ismail, Hasnah, Rusli, Hamsidar, Slamet, Anni Suryani, St. Mardianti, Haris, Jamilah, Muh. Ardiansyah, dan Fathur Rahman
2. Dr. Muh. Anshar Amran, M.Si, selaku penasehat akademik atas segala bentuk bimbingan dan nasihat selama masa studi.
3. Prof. Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si, selaku pembimbing utama penelitian yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, bantuan, dan dengan ikhlas meluangkan waktu dan pikiran selama penelitian hingga penyusunan tugas akhir ini.
4. Dr. Ir. Syafiuddin, M. Si, selaku pembimbing pendamping dalam penelitian yang selalu memberikan arahan dan motivasi
5. Prof. Dr. Ir. Andi Niartriningsih, MP, dan Dr. Ir. Shinta Werorilangi, selaku penguji penelitian atas saran-sarannya.
6. Dr. Ahmad Faizal, ST., M.Si, selaku Ketua Departemen Ilmu Kelautan.
7. Kepada seluruh dosen yang telah memberikan ilmu yang sangat berharga, motivasi dan pembinaan karakter selama selama di bangku kuliah dan Seluruh Staff FIKP Unhas yang telah membantu penulis dalam mengurus administrasi selama kuliah.
8. Ibu Nita dan Ibu Yayi sebagai Laboran, karena telah bersedia membantu dalam uji penelitian.
9. KEMENRISTEKDIKTI yang telah memberikan bantuan biaya kuliah melalui BIDIKMISI sehingga penulis dapat menyelesaikan Kuliah dengan Baik.
10. Teman-Teman Ilmu Kelautan 2014 "TRITON" kita Tetap Seombak Se Jiwa.

11. IKAB Squad teman seperjuangan Bidikmisi dalam bingkai kekeluargaan
12. Keluarga Mahasiswa (KEMA) Kelautan Unhas atas segala dukungan dan kebersamaannya
13. Sahabat seperjuangan Andi Annisar Dzati Iffah, Ayu Novita Sari, Nurdina A. Rahman, Mirdayanti, Sitti Aisyah, Nurul Asirah, Nirmawati, Fatyah Nurjannah Mahu.
14. Kepada teman-teman KEMAJIK FIKP UH dan MEC-UH terima kasih atas motivasi dan kerjasamanya selama berorganisasi. Pengalaman yang diberikan sangat penting dalam menunjang mental penulis dalam melakukan penelitian.
15. Terakhir untuk semua pihak yang telah membantu tapi tidak sempat disebutkan satu persatu, semoga Allah SWT membalas semua bentuk kebaikan dan ketulusan hati, *Aamiin*.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan hanyalah milik Allah Subhanahu Wa Ta'ala. 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 bidang kelautan dan kesejahteraan masyarakat.

Makassar, 13 April 2021

Penulis



Retnowati

Nim. L11114307

DAFTAR ISI

Nomor	Halaman
SAMPUL	
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
PERNYATAAN AUTORSHIP	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan dan Kegunaan	3
C. Ruang Lingkup	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Ekologi Mangrove	4
B. Deskripsi Artemia Salina sebagai hewan Uji	8
C. Kandungan Metabolit Sekunder	11
D. Golongan Senyawa	18
E. Ekstraksi	19
F. Gas Chromotography Mass Spectrometry	19
G. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)	20
H. Lethal Concentration 50 (LC ₅₀)	21
I. Analisis Probit	21
III. METODE PENELITIAN	21
A. Waktu dan Tempat	21
B. Alat dan Bahan	24
C. Prosedur Penelitian	25
D. Analisis Data	27
IV. HASIL	28

A. Ekstraksi Propagul Buah Mangrove <i>R. mucronata</i>	28
B. Skrining Senyawa Metabolit Sekunder	28
C. Uji Toksisitas	33
V. PEMBAHASAN.....	19
A. Ekstraksi Propagul Buah Mangrove <i>R. mucronata</i>	36
B. Skrining Senyawa Metabolit Sekunder	36
C. Uji Toksisitas	40
VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	19
A. Simpulan.....	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
DAFTAR LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Tingkat Nilai Toksisitas LC ₅₀	21
2. Transformasi Dari Perhitungan Probit.....	22
3. Hasil analisis propagul mangrove <i>R. mucronata</i> dengan pelarut metanol.....	30
4. Hasil analisis propagul mangrove <i>R. mucronata</i> dengan pelarut n-heksan.....	32
5. Pengukuran nilai LC50 dengan metode BSLT	33

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Mangrove <i>R. mucronata</i>	6
2. Siklus Hidup <i>Artemia Salina</i>	10
3. Tiga Jenis Struktur Flavonoid	11
4. Kerangka -Kerangka dasar struktur dari flavonoid	12
5. Kelompok-kelompok Penting Struktur dari Flavonoid alami	12
6. Jenis-jenis Alkaloida	17
7. Peta Lokasi Pengambilan Sampel	23
8. Tahapan Penelitian	25
9. Hasil Ekstraksi propagule buah mangrove <i>R. mucronata</i>	25
10. Hasil GC-MS untuk pelarut metanol.....	29
11. Struktur kimia komponen mayor	31
12. Hasil GC-MS untuk pelarut n heksan.....	31
13. Hasil GC-MS untuk Pelarut etil asetat	33
14. Analisis probit ekstrak metanol	34
15. Analisis probit ekstrak n-heksan	35
16. Analisis probit ekstrak etil-asetat.....	35
17. Senyawa alkane komponen kimia propane dan butene	37
18. Senyawa organik komponen kimia butane	37

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Hasil identifikasi GC-MS menggunakan pelarut metanol pada ekstrak propagul buah mangrove <i>R. mucronata</i>	47
2. Hasil identifikasi GC-MS menggunakan pelarut etil asetat pada ekstrak propagul buah mangrove <i>R. mucronata</i>	50
3. Hasil identifikasi GC-MS menggunakan pelarut n-heksan pada ekstrak propagule buah mangrove <i>R. mucronata</i>	51
4. Hasil perhitungan LC ₅₀ untuk ekstrak propagule buah mangrove jenis <i>Rhizophora mucronata</i> dengan menggunakan pelarut metanol	53
5. Hasil perhitungan LC ₅₀ untuk ekstrak propagule buah mangrove jenis <i>Rhizophora mucronata</i> dengan menggunakan pelarut n-heksan	56
6. Hasil perhitungan LC ₅₀ untuk ekstrak propagule buah mangrove jenis <i>R. mucronata</i> dengan menggunakan pelarut etil asetat	58
7. Data Uji Toksisitas	60

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mangrove merupakan salah satu ekosistem langka dan khas di dunia, karena luasnya hanya 2% permukaan bumi. Indonesia merupakan kawasan ekosistem mangrove terluas di dunia. Ekosistem ini memiliki peranan ekologi, sosial-ekonomi, dan sosial-budaya yang sangat penting. Fungsi ekologi hutan mangrove meliputi tempat sekuestrasi karbon, remediasi bahan pencemar, menjaga stabilitas pantai dari abrasi, intrusi air laut, dan gelombang badai, menjaga kealamian habitat, menjadi tempat bersarang, pemijahan dan pembesaran berbagai jenis ikan, udang, kerang, burung dan fauna lain, serta pembentuk daratan. Fungsi sosial-ekonomi hutan mangrove meliputi kayu bangunan, kayu bakar, kayu lapis, bubur kertas, tiang telepon, tiang pancang, bagan penangkap ikan, dermaga, bantalan kereta api, kayu untuk mebel dan kerajinan tangan, atap huma, tannin, bahan obat, gula, alkohol, asam asetat, protein hewani, madu, karbohidrat, dan bahan pewarna, serta memiliki fungsi sosial-budaya sebagai areal konservasi, pendidikan, ekoturisme dan identitas budaya (Odum, 1971).

Potensi besar yang dimiliki mangrove *Rhizophora mucronata* 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 (Maria, 2008).

Propagul mangrove *R. mucronata* memiliki potensi yang sangat baik untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan. Propagul adalah buah mangrove yang telah mengalami perkecambahan. Propagul sebagai bahan pakan memiliki nilai bahan aktif yang tinggi diantaranya antimikroba, antifungi, antiviral, insektisida dan aktivitas antileukimia (Soetarno, 2000).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa mangrove kaya akan kandungan metabolit sekunder yang dapat terkandung antara lain fraksi senyawa *lipid taktersabunkan (nonsaponifiable lipid/NSL)* yaitu alkaloid, terpenoid, saponin, alkana, alkohol rantai panjang dan fitosterol. Selain itu, daun dan akar tanaman mangrove juga mengandung senyawa-senyawa *polifenol* (Basyuni, 2008). Senyawa tersebut selain

dipergunakan sebagai *chemical defence* bagi dirinya, juga dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis.

Seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, beberapa pakar giat melakukan penelitian tentang mangrove. Penemuan-penemuan baru dibidang 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. Mangrove *R. mucronata* sebagai sampel untuk penelitian daya hambat terhadap bakteri karena sejak beberapa abad yang lalu, masyarakat pesisir di berbagai tempat di Indonesia secara tradisional telah memanfaatkan jenis pohon api-api untuk pakan ternak (propagul), 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 (Withanawasam, 2002).

Skrining adalah mengidentifikasi atau prosedur atau strategi yang digunakan untuk mencari kondisi atau penanda risiko yang belum dikenal. Pengujian ini dapat diterapkan untuk individu atau seluruh populasi. Pada penelitian sebelumnya memang sudah ada penelitian terkait bioaktif propagul buah mangrove *R. mucronata*, namun ekstrak nya belum memakai pelarut methanol, n-heksan, etil asetat dan blum memakai langsung propagul dari buah mangrove *R. mucronata* untuk di ekstrak dan lngsung di uji di GCMS, seperti Uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak etanol daun mangrove *R. mucronata* dan efek. Kemudian ada penelitian tentang aktivitas antibakteri bedak yang diperkaya dengan konsentrasi ekstrak buah *R. mucronata*, dan ada uji fitokimia secara kualitatif pada buah dan ekstrak air buah mangrove, dan terakhir yang saya tahu ada bioaktivitas ekstrak limbah buah bakau (*R. mucronata Lamk*) terhadap rayap tanah *Coptotermes curvignathus holmgren*.

Pada penelitian ini menggunakan *Artemia salina* karena untuk menentukan nilai, Uji dengan organisme ini sesuai untuk aktifitas farmakologi dalam ekstrak tanaman yang bersifat toksik. Banyak di budidayakan, banyak yg menggunakan hewan uji ini untuk menntukan nilai LC₅₀, belum ada penelitian sebelumnya yang mempunyai hasil signifikan, sehingga pentingnya penelitian ini untuk men skrining senyawa metabolit *R. mucronata* dan uji tokisitas ekstrak terhadap *A. salina*, sehingga para peneliti dapat menjadikan penelitian ini sebagai acuan atau rujukan untuk mengembangkan suatu penelitiannya.

B. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada propagul buah mangrove *R. mucronata*, kemudian untuk menguji daya racun sebagai potensi anti kanker dari ekstrak propagul buah mangrove *R. mucronata terhadap A. salina*.

Kegunaan dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan informasi dasar mengenai senyawa bioaktif pada propagul buah mangrove *R. mucronata* serta pemanfaatan dari golongan senyawa metabolit sekunder dan memberikan informasi mengenai khasiat propagul buah mangrove *R. mucronata* serta kemungkinan pemanfaatannya sebagai bahan baku obat anti kanker.

C. Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam penelitian ini mencakup skrining golongan senyawa bioaktif dari propagul buah mangrove *R. mucronata* dan meliputi ekstraksi propagul buah mangrove *R. mucronata* dan ekstrak dengan menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ekologi Mangrove

1. Defenisi Mangrove

Secara umum hutan mangrove didefinisikan sebagai tipe hutan yang tumbuh pada daerah pasang surut (terutama pantai yang terlindung, laguna, muara sungai) yang tergenang pada saat pasang dan bebas genangan pada saat surut yang komunitas tumbuhannya bertoleransi terhadap garam (Kusmana *et al.*, 2003). Mangrove merupakan suatu tipe hutan tropik dan subtropik yang khas, tumbuh di sepanjang pantai atau muara sungai yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Mangrove banyak dijumpai di wilayah pesisir yang terlindung dari gempuran ombak dan daerah-daerah yang landai. Mangrove tumbuh optimal di wilayah pesisir yang memiliki muara sungai besar dan delta yang aliran airnya banyak mengandung lumpur. Sedangkan di wilayah pesisir yang tidak bermuara sungai, pertumbuhan vegetasi mangrove tidak optimal. Mangrove sukar tumbuh di wilayah pesisir yang terjal dan berombak besar dengan arus pasang surut kuat, karena kondisi ini tidak memungkinkan terjadinya pengendapan lumpur yang diperlukan sebagai substrat bagi pertumbuhannya (Dahuri, 2003).

Hutan mangrove adalah komunitas vegetasi pantai tropis, dan merupakan komunitas yang hidup di dalam kawasan lembap dan berlumpur serta dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Mangrove disebut juga sebagai hutan pantai, hutan payau, atau hutan bakau. Pengertian mangrove sebagai hutan pantai (pesisir), baik daerah yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut maupun wilayah daratan pantai yang dipengaruhi oleh ekosistem pesisir. Sedangkan pengertian mangrove sebagai hutan payau atau hutan bakau adalah pohon-pohonan yang tumbuh di daerah payau pada tanah aluvial atau pertemuan air laut dan air tawar di sekitar muara sungai. Pada umumnya formasi tanaman didominasi oleh jenis-jenis tanaman bakau. Oleh karena itu, istilah bakau hanya untuk jenis-jenis tumbuhan dari genus *Rhizophora*, sedangkan istilah mangrove digunakan untuk segala tumbuhan yang hidup di sepanjang pantai atau muara sungai yang dipengaruhi pasang surut air laut (Harahab, 2010).

Fungsi hutan mangrove dapat digolongkan menjadi tiga macam yaitu fungsi fisik, fungsi ekologis dan fungsi ekonomis. Fungsi hutan mangrove secara fisik di antaranya: menjaga kestabilan garis pantai dan tebing sungai dari erosi atau abrasi, mempercepat perluasan lahan dengan adanya jerapan endapan lumpur yang terbawa oleh arus ke kawasan hutan mangrove, mengendalikan laju intrusi air laut sehingga air

sumur disekitarnya menjadi lebih tawar, melindungi daerah di belakang mangrove dari hempasan gelombang, angin kencang dan bahaya tsunami. Hasil penelitian di Teluk Grajagan, Banyuwangi, menunjukkan bahwa dengan adanya hutan mangrove telah terjadi reduksi tinggi gelombang sebesar 0,7340 m dan perubahan energi gelombang sebesar (E) 19635,26 joule (Pratikto, 2002).

Fungsi hutan mangrove secara ekologis diantaranya sebagai tempat mencari makan (*feeding ground*), tempat memijah (*spawning ground*), dan tempat berkembang biak (*nursery ground*) berbagai jenis ikan, udang, kerang dan biota laut lainnya, tempat bersarang berbagai jenis satwa liar terutama burung dan reptil. Bagi beberapa jenis burung, vegetasi mangrove dimanfaatkan sebagai tempat istirahat, tidur bahkan bersarang. Selain itu, mangrove juga bermanfaat bagi beberapa jenis burung migran sebagai lokasi antara (*stop over area*) dan tempat mencari makan, karena ekosistem mangrove merupakan ekosistem yang kaya sehingga dapat menjamin ketersediaan pakan selama musim migrasi (Howes *et al*, 2003). Vegetasi mangrove juga memiliki kemampuan untuk memelihara kualitas air karena vegetasi ini memiliki kemampuan luar biasa untuk menyerap polutan (logam berat Pb, Cd dan Cu), di Evergaldes negara bagian California Amerika Serikat, mangrove adalah komponen utama dalam menyaring polutan sebelum dilepas ke laut bebas (Arisandi, 2010).

Fungsi ekologis lain dari mangrove adalah sebagai penyerap karbon. Hasil valuasi ekonomi yang dilakukan LPP mangrove tahun 2006 terhadap kawasan hutan mangrove di Batu Ampar, Pontianak menyatakan bahwa, nilai manfaat hutan mangrove sebagai penyerap karbon sebesar Rp 6.489.979.146. /tahun. Fungsi hutan mangrove secara ekonomis di antaranya adalah hasil hutan berupa kayu, hasil hutan bukan kayu seperti madu, obat-obatan, minuman, bahan makanan, tanin dan lain-lain, sumber bahan bakar (arang dan kayu bakar). Nilai kalori yang terdapat pada arang kayu *R. mucronata* sebesar 7.300 kal/g. Pada tahun 1998 produksi arang mangrove sekitar 330.000 ton yang sebagian besar diekspor dengan negara tujuan Jepang dan Taiwan melalui Singapura. Harga ekspor arang mangrove sekitar US\$ 1.000/10 ton, sedangkan harga lokal antara Rp 400,- - Rp 700,-/kg. Jumlah ekspor arang mangrove tahun 1993 mencapai 83.000.000 kg dengan nilai US\$ 13.000.000 (Inoue, *et al.*, 1999 dalam Anwar, 2004).

2. Tumbuhan Mangrove *Rhizophora mucronata*

Pada tumbuhan bakau *R. mucronata* merupakan salah satu jenis tumbuhan mangrove yang mempunyai habitat dekat atau terletak pada pematang sungai pasang surut dan di muara sungai. Jenis ini masuk dalam flora mangrov inti yang mempunyai peran utama dalam formasi mangrove (Kusmana *et al.* 2003).



Gambar 1. Mangrove *Rhizophora mucronata* (Indrianti, 2017)

Morfologi bakau kurap dengan nama spesies *R. mucronata* merupakan tumbuhan tinggi dengan akar tunggang yang banyak. Batang yang terdapat celah ini berdiameter 70 cm dengan warna gelap atau kemerahan. Serta memiliki permukaan yang kasar atau kadang bersisik. Daun berbentuk lonjong berwarna hijau mengkilap di bagian permukaan atas dan lebih pudar serta terdapat titik-titik hitam di bagian permukaan bawah daun. Bunga berkelompok sekitar 4-8 kuntum dengan daun mahkota berwarna putih dan berambut dengan panjang hingga 9 mm. Serta buah yang berbentuk seperti telur berwarna hijau kecoklatan.

Pada umumnya *R. mucronata* tumbuh secara berkelompok. Hidup di pematang sungai, daerah pesisir yang datar dan terkena banjir pasang surut setiap hari. *R. mucronata* sulit tumbuh pada daerah yang jauh dari pasang surut. Pertumbuhan akan terjadi dengan optimal jika tumbuhan ini diletakkan pada areal yang tergenang dan kaya akan humus. Dibandingkan dengan spesies mangrove lainnya, mangrove jenis ini tampak lebih toleran terhadap genangan dan seringkali membentuk daerah cemara. Bahkan dapat terjadi tegakan murni atau mungkin tumbuh dengan *Rhizophora apiculata*. Bakau kurap adalah tumbuhan yang dilindungi di Afrika Selatan. *R. mucronata* tumbuh pada pantai-pantai tropis seperti Afrika Timur ke Madagaskar, pulau-pulau di Samudera Hindia, daratan Asia Tenggara, Indonesia dan Filipina, timur laut Australia dan Kepulauan Pasifik Selatan sejauh kelompok Tonga. Dan pada tahun 1922 mangrove jenis ini diintroduksi ke Hawaii dan tumbuh dengan liar.

Pertumbuhan hutan mangrove sangat erat kaitannya dengan pendangkalan pantai dan penyempitan laut. Daerah hutan bakau merupakan suatu tempat yang bergerak, dimana tanah lumpur dan daratan secara terus menerus dibentuk oleh tumbuh-tumbuhan yang kemudian secara perlahan-lahan berubah menjadi daerah semi terrestrial (semi daratan). (Hutabarat dan Evans, 1985)

Cara perkembangbiakan *R. mucronata* adalah dengan beregenerasi dari biji. Jika biji jatuh dari pohon induk saat air surut, kemungkinan semai mangrove akan dihasilkan. Karena ketika biji tersebut langsung jatuh menancap ke lumpur, pada saat itu akan membentuk akar baru yang kemudian membentuk hipokotil. Namun jika biji jatuh pada waktu air pasang, maka biji tersebut akan terbawa oleh air dan mengapung tanpa terjadi perkembangan akar. Akan tetapi ada kemungkinan nanti terjadi perkembangan akar walaupun akan sangat lambat. Atau setelah air surut, biji yang terbawa oleh air akan terdampar sehingga akar dapat berkembang dan akan tumbuh keluar. *R. mucronata*, salah satu jenis mangrove yang paling tersebar luas ini mempunyai proses pembungaan yang terjadi sepanjang tahun. Seringkali terjadi hambatan dalam pertumbuhan, seperti gangguan kepiting yang memakan mangrove yang masih muda. Namun tumbuhan akan dapat lebih tahan terhadap gangguan kepiting jika telah dikeringkan selama beberapa hari. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya akumulasi tanin di dalam jaringan tumbuhan yang berfungsi sebagai pertahanan atau pelindung.

Banyak manfaat yang diperoleh dari *R. mucronata*. Diantaranya untuk membantu mencegah erosi pantai dan dalam restorasi habitat mangrove. Buahnya dapat dimasak atau diekstraksi untuk menghasilkan anggur. Juga tunas mudanya yang dapat dikonsumsi sebagai sayuran. Kayunya dapat digunakan untuk membuat bahan bakar arang, bahan bangunan, tiang, pembuatan jebakan ikan dan jika direbus dengan air, air rebusan (ekstraknya) dapat digunakan sebagai obat diare dan anti muntah, serta cacahan kayunya dapat menghentikan pendarahan pada luka luar yang baru. Tanin yang ada dalam kulit kayu dapat bermanfaat dalam penyamakan dan pewarna yang diekstraksi dari kulit kayu dan dedaunan. Dapat juga digunakan untuk mengobati perdarahan pada air seni. Kulit akar dan getah buahnya dapat dipakai untuk obat anti nyamuk. Daun muda yang masih segar jika dikunyah dapat berguna sebagai anti septik. Dan berbagai bagian tumbuhannya dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. *R. mucronata* juga dapat melindungi pematang dengan cara menanamnya di sepanjang tambak.

Ekologi *R. mucronata* berada di areal yang sama dengan *R. apiculata* tetapi lebih toleran terhadap substrat yang lebih keras dan pasir. Pada umumnya tumbuh dalam kelompok, dekat atau pada pematang sungai pasang surut dan di muara sungai, jarang sekali tumbuh pada daerah yang jauh dari air pasang surut. Pertumbuhan optimal terjadi pada areal yang tergenang dalam, serta pada tanah yang kaya akan humus. Merupakan salah satu jenis tumbuhan mangrove yang paling penting dan paling tersebar luas. Perbungaan terjadi sepanjang tahun. Anakan seringkali dimakan

oleh kepiting, sehingga menghambat pertumbuhan mereka. Anakan yang telah dikeringkan dibawah naungan untuk beberapa hari akan lebih tahan terhadap gangguan kepiting. Manfaat Kayu digunakan sebagai bahan bakar dan arang. Tanin dari kulit kayu digunakan untuk pewarnaan, dan kadang-kadang digunakan sebagai obat dalam kasus hematuria (perdarahan pada air seni). Kadang-kadang ditanam di sepanjang tambak untuk melindungi pematang.

Tumbuhan mangrove diketahui merupakan salah satu sumber senyawa metabolit sekunder, yang aktif sebagai senyawa anti mikroba (Naiborhu, 2002). Senyawa organik dan anorganik seperti asam fenolat, glikosida, alkaloid, proteinsaponin, flavonoid, terpenoid, steroid, dan senyawa logam yang terikat pada senyawa organik diguga dapat dimanfaatkan sebagai agen untuk pengendalian bakteri, khususnya pengendalian bakteri penyebab penyakit. Pertumbuhan bakteri dipengaruhi dengan adanya perbedaan tekanan osmosis di dalam dan di luar sel, penggumpalan protein terdenaturasi di dalam sel, rusaknya membran sel karena iritasi, perubahan pH, emulsi dan difusi cairan sel (Eryanti *et al.*, 1999).

Dari semua tumbuhan mangrove, spesies *R. mucronata* merupakan salah satu sumber yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, tanin dan lain-lain. Selain itu mangrove kaya akan senyawa anti mikrobial yang terdapat pada mangrove diantaranya alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, tanin dan saponin (Kordi, 2012).

Menurut Aulia (2008), antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, menginaktivasi enzim, dan destruksi atau kerusakan fungsi material genetik. Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, pH (keasaman), ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antara beberapa faktor tersebut (Wijaningsih 2008).

B. Deskripsi *Artemia salina* Sebagai Hewan Uji

1. Biologi *Artemia*

Artemia merupakan zooplankton dari anggota *crustacea*. *Artemia* digunakan sebagai pakan alam9\

C, lebih dari 85% spesies hewan budidaya, *Artemia* mempunyai nilai gizi tinggi, dapat menetas dengan cepat, ukurannya relatif kecil dan pergerakan lambat serta dapat hidup pada kepadatan tinggi (Tyas 2004).

a. Klasifikasi

Mudjiman (1988), *A. salina* adalah salah satu jenis crustacea tingkat rendah yang termasuk ke dalam:

Kingdom: Animalia

Phylum: Arthropoda

Order: Anostraca

Family: Artemidae

Genus: *Artemia*

Species: *A. salina*

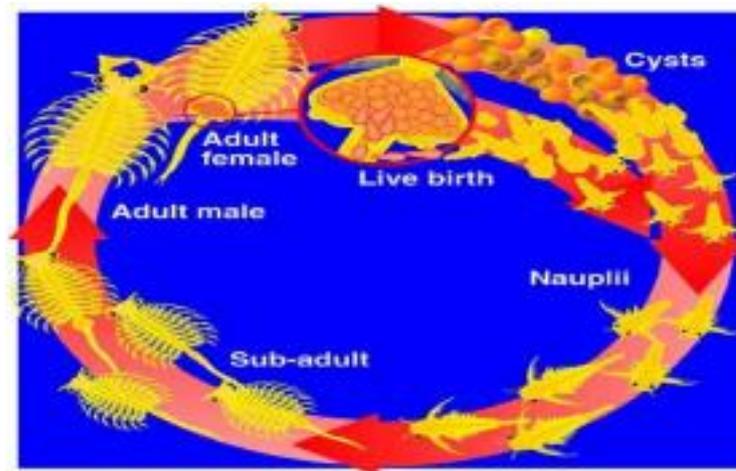
b. Sifat dan Morfologi

Artemia hidup sebagai zooplankton di perairan yang berkadar garam tinggi (antara 15 – 300 per mil). Suhu yang dikehendaki berkisar antara 25 – 30 °C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/l, dan pH antara 7,3 – 8,4.

c. Siklus Hidup *Artemia salina*

Selama siklus hidupnya *A. salina* melewati beberapa fase/stadia seperti yang ada pada Gambar 2. Di jelaskan bawah untuk mencapai stadia *Nauplius* *Artemia* melampaui 10 substadia kehidupan. Sesudah stadia Larva dan sebelum menginjak dewasa stadia yang harus dilampaui adalah Stadia I sampai VIII. Stadia I-VIII ini berlangsung selama 7 hingga 14 hari. Untuk berkembang biak *Artemia* dapat melakukannya baik secara *Ovipar* (bertelur) maupun secara *Ovovivipar* (beranak). Pada salinitas atau kadar garam yang mencapai 200-300 ppt *A. salina* berkembang biak dengan cara bertelur. Sedangkan pembiakan secara beranak dapat terjadi apabila habitatnya mempunyai kadar garam kurang dari 200 ppt. *A. salina* dapat melakukan pembentukan embrio baik melalui perkawinan di antara induk jantan dan betina (*Zygogenetic* atau Bisexual) maupun tidak melalui perkawinan (*Parthenogenetic*). *Artemia* yang sudah dewasa ditandai dengan adanya “riding couple” (gandengan). Proses pemijahannya dapat digambarkan sebagai berikut. Induk jantan menjepit daerah di sekitar pinggang betina selama 3-5 hari, kemudian terjadi kopulasi (perkawinan). Dalam waktu 1-3 hari induk *Artemia* akan menghasilkan telur atau

langsung berupa anak (*Nauplii*). Sekali bertelur induk *Artemia* mampu menghasilkan telur sebanyak 200 butir.



Gambar 2. Siklus hidup *A. salina* (Abatzopoulos et al., 1996)

Artemia memiliki beberapa fase dalam daur hidupnya yakni:

- Kista** : Kista setelah dimasukkan dalam air laut (5-70 %) akan mengalami hidrasi berbentuk bulat dan di dalamnya terjadi metabolisme embrio yang aktif. Sekitar 24 jam kemudian cangkang kista pecah dan muncul embrio yang masih di bungkus oleh selaput.
- Nauplius** : Beberapa saat setelah embrio muncul, selaput penetasan pecah dan muncul nauplius yang berenang bebas. Nauplius ini adalah larva stadium instar pertama berwarna orange kecoklatan karena adanya kandungan kuning telur (*yolk egg*).
- Dewasa** : *Artemia* dewasa dicirikan oleh adanya sepasang mata majemuk bertangkai, antena sensor, saluran pencernaan dan 11 pasang thoracopoda.

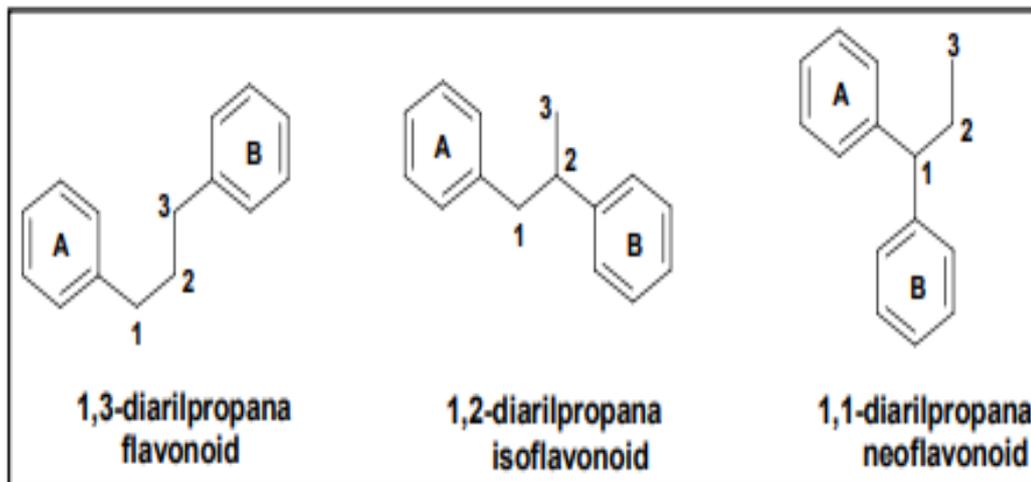
Perkembangbiakan *A. salina* ada dua cara yakni *parthenogenesis* dan *biseksual*. Pada *Artemia* yang termasuk jenis *parthenogenesis* populasinya terdiri dari betina semua yang dapat membentuk telur dan embrio berkembang dari telur yang tidak dibuahi. Sedangkan pada *Artemia* jenis biseksual, populasinya terdiri dari jantan dan betina yang berkembang melalui perkawinan dan embrio berkembang dari telur yang dibuahi. Hasil perkembangbiakan dapat terjadi secara ovovivipar, telur berkembang menjadi nauplius (Anonim, 1990). Uji aktivitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* menggunakan larva *A. salina* pada fase nauplius yang aktif, yang telah berumur 48 jam digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian pemantauan aktivitas sitotoksik senyawa bioaktif teripang (Alam, 2002).

C. Kandungan Metabolit Sekunder

1. Flavonoid

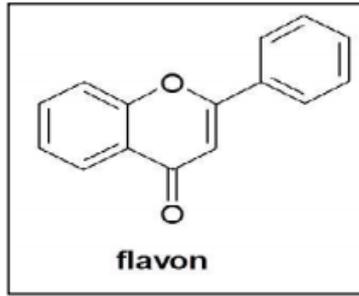
Flavonoid mudah larut dalam air mempunyai aktivitas biologi dan bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, menghambat pelepasan histamine, anti inflammanatory, anti jamur dan yang paling penting adalah anti bakteri (Mulyani,2013). Salah satu fungsi flavonoid dari tumbuhan adalah sebagai kerja antimikroba dan antivirus. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri (Robinson, 1995).

Struktur flavonoid memiliki 15 atom karbon, terdiri dari 2 cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Dapat ditulis sebagai berikut C₆-C₃-C₆ (Manitto, 1992). Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid (1,3-diarilpropana), isoflavonoid (1,2-diarilpropana), neoflavonoid (1,1-diarilpropana) seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



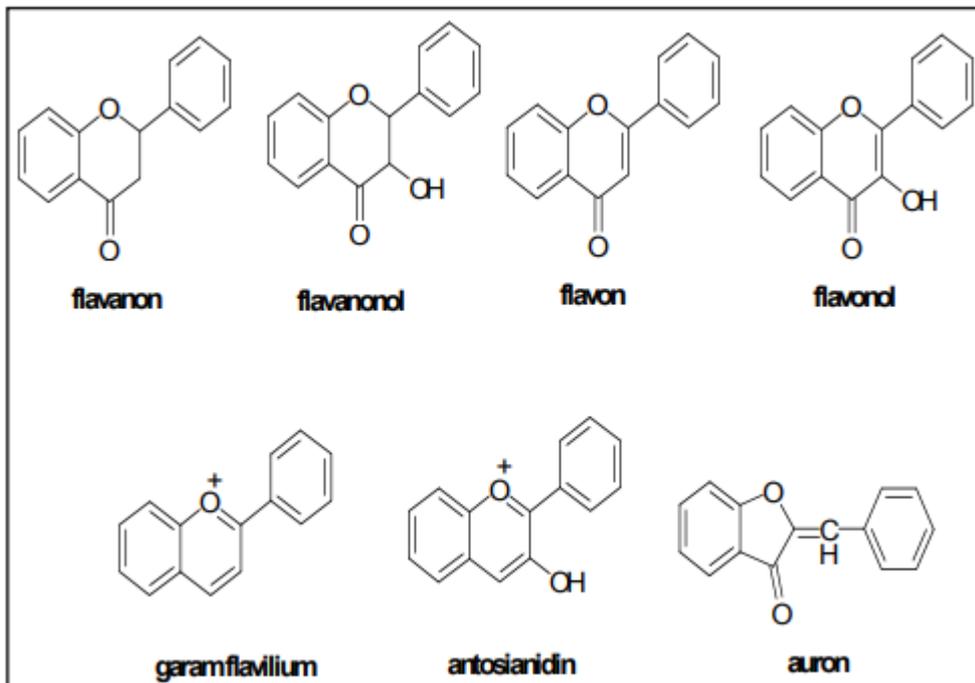
Gambar 3. Tiga jenis struktur flavonoid (Sumber: Achmad, 1986)

Flavonoid merupakan istilah yang dikenakan pada suatu golongan besar senyawa yang berasal dari kelompok senyawa yang paling umum yaitu senyawa flavon yang ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kerangka dasar struktur flavon (Manitto, 1992)

Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis, bergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dari sistem 1,3-diarilpropana. Beberapa jenis struktur flavonoid alami ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kelompok-kelompok penting struktur dari flavonoid alami (Manitto, 1992)

Aglikon flavonoid adalah flavonoid yang tidak mengikat gugus gula dan bersifat kurang polar. Contoh flavonoid ini adalah isoflavon, flavanon, flavon, serta flavonol yang termetoksi. Karena sifatnya yang kurang polar maka aglikon cenderung mudah larut dalam pelarut eter dan kloroform. Flavonoid glikosida adalah flavonoid yang mengikat gugus gula. Pada senyawa ini satu gugus hidroksil terikat pada satu gugus gula, flavonoid ini disebut flavonoid O-glikosida. Selain itu juga terdapat flavonoid C-glikosida dimana gula terikat langsung pada inti benzena dengan ikatan karbon - karbon. Pengaruh glikosida menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air (Markham, 1988).

Beberapa contoh senyawa flavonoid yang diisolasi dari tumbuhan dapat berkhasiat sebagai obat, seperti silimarin dari *Silybum marianum* dapat berfungsi mengobati gangguan hati serta menghambat sintesis prostaglandin. Kuersetin 3-rutinosida bermanfaat untuk mengobati kerapuhan pembuluh kapiler pada manusia. Beberapa xanton dan flavonoid oligomer dalam makanan mempunyai efek anti-hipertensi dengan menghambat kerja enzim pengubah angiotensin. Selain itu, dari golongan isoflavanoid seperti rotenon telah dimanfaatkan oleh manusia untuk insektisida (Robinson, 1995).

Isolasi flavonoid dapat dilakukan dari tumbuhan segar maupun yang telah kering. Pada tumbuhan yang terserang jamur, ada kecenderungan glikosida diubah menjadi aglikon, aglikon yang peka akan teroksidasi. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang bersifat polar yang ditandai dengan adanya gugus hidroksil atau suatu gula dan terdapatnya pasangan elektron bebas pada atom oksigen. Oleh karena, itu flavonoid dapat diekstrak dari tumbuhan dengan menggunakan pelarut polar seperti metanol. Pengaruh glikosilasi menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Sebaliknya aglikon flavonoid seperti isoflavan dan flavon cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non-polar seperti kloroform dan eter. Pemurnian flavonoid dari senyawa-senyawa lain dari ekstrak kasar dapat dilakukan dengan metode kromatografi (Markham, 1988).

2. Tanin

Senyawa aktif tanin banyak ditemukan hampir disetiap bagian dari tanaman, seperti kulit kayu, daun, buah, dan akar (Naiborhu, 2002). Menurut Masduki (1996) kemampuan tanin dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin juga mempunyai efek yang sama secara fenolik. Efek antibiotik tanin antara lain melalui reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville et al., 2010). Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin mempunyai berat molekul 0,5-3 KD. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air, warna larutan tanin bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau coklat, karena setiap tanin memiliki warna yang khas tergantung sumbernya (Ahadi, 2003).

Tanin pada tanaman diklasifikasikan sebagai tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan jenis tanin yang mempunyai struktur

poliester yang mudah dihidrolisis oleh asam atau enzim, dan sebagai hasil hidrolisisnya adalah suatu asam polifenolat dan gula sederhana. Golongan tanin ini dapat dihidrolisis dengan asam, mineral panas dan enzim-enzim saluran pencernaan. Sedangkan tanin terkondensasi, yang sering disebut proantosianidin, merupakan polimer dari katekin dan epikatekin (Maldonado, 1994). Tanin yang tergolong tanin terkondensasi, banyak terdapat pada buah-buahan, biji-bijian dan tanaman pangan, sementara yang tergolong tanin terhidrolisis terdapat pada bahan non-pangan (Makkar, 1993).

Menurut Susanti (2000), sifat utama tanin pada tanaman tergantung pada gugus fenolik-OH yang terkandung dalam tanin. Secara garis besar sifat tanin dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Tanin secara umum memiliki gugus fenol dan bersifat koloid.
2. Semua jenis tanin dapat larut dalam air, kelarutannya besar dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu pula dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya.
3. Reaksi warna terjadi bila disatukan dengan garam besi. Reaksi ini digunakan untuk menguji klasifikasi tanin. Reaksi tanin dengan garam besi akan memberikan warna hijau dan biru kehitaman, tetapi uji ini kurang baik karena selain tanin yang dapat memberikan reaksi warna, zat-zat lain juga dapat memberikan reaksi warna yang sama.
4. Tanin mulai terurai pada suhu $98,8^{\circ}$
5. Tanin dapat dihidrolisis oleh asam, basa, dan enzim. C.
6. Ikatan kimia yang terjadi antara tanin-protein atau polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan ikatan kovalen.
7. Tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin amorf (tidak berbentuk) dan tidak mempunyai titik leleh.
8. Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya atau dibiarkan di udara terbuka.
9. Tanin mempunyai sifat bakteristatik dan fungistatik. Tanin dikenal sebagai senyawa antinutrisi karena kemampuannya membentuk ikatan kompleks dengan protein.

Kemampuan tanin untuk mengendapkan protein ini disebabkan tanin memiliki sejumlah group fungsional yang dapat membentuk kompleks kuat dengan molekul-molekul protein, oleh karena itu secara umum tanin dianggap sebagai anti-nutrisi yang merugikan. Ikatan antara tanin dan protein sangat kuat sehingga protein tidak mampu

tercerna oleh saluran pencernaan. Pembentukan kompleks ini terjadi karena adanya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan kovalen antara kedua senyawa tersebut (Makkar, 1993).

Menurut Ariningsih (2004), ikatan kovalen terbentuk apabila tanin telah mengalami oksidasi dan membentuk polimer quinon yang selanjutnya melalui reaksi adisi eliminasi atom N dari gugus asam amino protein menggantikan atom oksigen dari senyawa poliquinon. Ikatan hidrogen yang terbentuk merupakan ikatan antara atom H yang polar dengan atom O baik dari protein (dari asam amino yang memiliki rantai samping non-polar) atau tanin (cincin benzena), adapun yang mendominasi kekuatan ikatan ini adalah ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Pembentukan ikatan antara tanin-protein dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu (1) karakteristik protein, seperti komposisi asam amino, struktur, titik isoelektrik dan bobot molekul, (2) karakteristik tanin, seperti berat molekul, struktur, dan heterogenitas tanin, (3) kondisi pereaksi, seperti pH, suhu, waktu, komposisi pelarut. Semakin rendah pH, jumlah tanin yang berinteraksi semakin kecil. Hal ini menunjukkan penurunan afinitas tanin terhadap protein untuk membentuk kompleks dikarenakan adanya efek elektrostatik dari protein, pada pH tinggi dimana group fenolhidroksil terionisasi maka tanin tidak berinteraksi dengan protein. Tanin merupakan senyawa yang mampu mengurangi produksi gas metan. Semakin tinggi konsentrasi tanin maka produksi CH₄ akan menurun.

Menurut Patra et al. (2006), tanin yang terkandung dalam ekstrak tanaman *Terminalia chebula* mempunyai aktivitas anti-metanogenik. Sementara itu McSweeney et al. (2001) menyatakan bahwa penurunan produksi gas CH₄ dapat pula disebabkan oleh penurunan degradasi karbohidrat struktural akibat terbentuknya suatu kompleks antara tanin dengan selulosa atau hemiselulosa.

3. Alkaloid

Peran alkaloid bagi tumbuhan yaitu untuk melindungi tumbuhan dari serangga, antifungus, dan dapat menghambat pembentukan peptidoglikan sebagai penyusun dinding sel bakteri (Robinson, 1995).

Beberapa sifat dari alkaloid menurut Lenny (2006), yaitu:

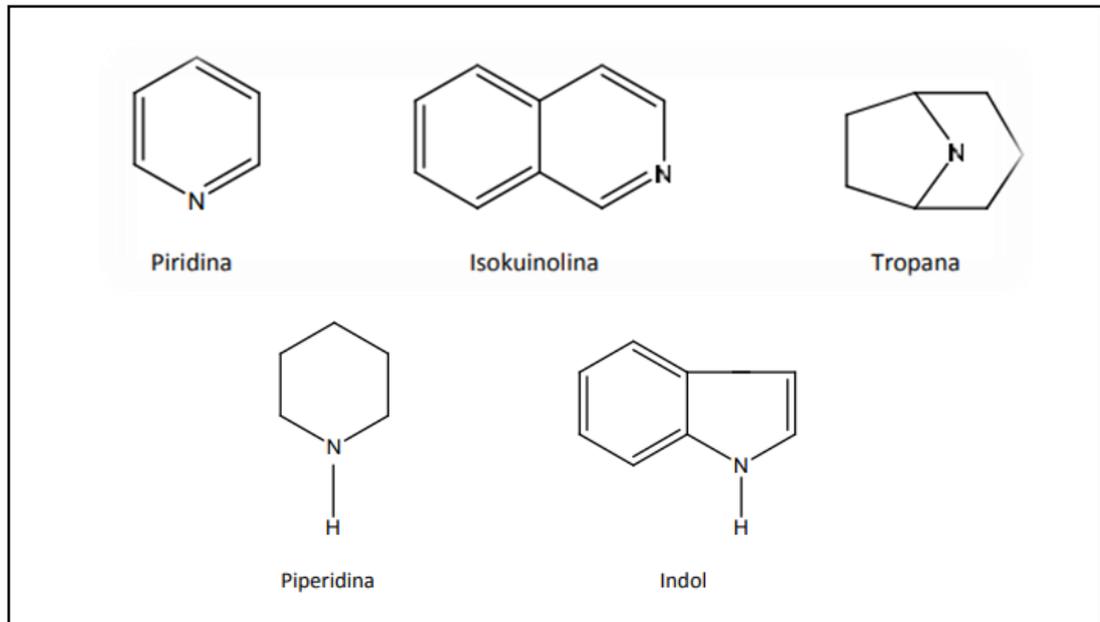
1. Mengandung atom nitrogen yang umumnya berasal dari asam amino.
2. Umumnya berupa Kristal atau serbuk amorf.
3. Alkaloid yang berbentuk cair yaitu konini, nikotin dan spartein.
4. Dalam tumbuhan berada dalam bentuk bebas, dalam bentuk N-oksida atau dalam bentuk garamnya.
5. Umumnya mempunyai rasa yang pahit.

6. Alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air, tetapi larut dalam kloroform, eter dan pelarut organik lainnya yang bersifat relative non polar.
7. Alkaloid dalam bentuk garamnya mudah larut dalam air.
8. Alkaloid bebas bersifat basa karena adanya pasangan elektron bebas pada atom N-nya.
9. Alkaloid dapat membentuk endapan dengan bentuk iodide dari Hg, Au dan logam berat lainnya (dasar untuk identifikasi alkaloid).

Menurut (Lenny, 2006), Klasifikasi alkaloida dapat dilakukan berdasarkan beberapa cara yaitu:

- a. Berdasarkan jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul. Berdasarkan hal tersebut, maka alkaloida dapat dibedakan atas beberapa jenis seperti alkaloida piperidin, alkaloida piperidin, alkaloida isokuinolin, alkaloida kuinolin, dan alkaloida indol yang ditunjukkan pada Gambar 6.
- b. Berdasarkan jenis tumbuhan darimana alkaloida ditemukan. Cara ini digunakan untuk menyatakan jenis alkaloida yang pertama-tama ditemukan pada suatu jenis tumbuhan. Berdasarkan cara ini, alkaloida dapat dibedakan atas beberapa jenis yaitu alkaloida tembakau, alkaloida amaryllidaceae, alkaloida erythrine dan sebagainya. Cara ini mempunyai kelemahan, yaitu : beberapa alkaloida yang berasal dari tumbuhan tertentu dapat mempunyai struktur yang berbeda-beda.
- c. Berdasarkan asal-usul biogenetik. Cara ini sangat berguna untuk menjelaskan hubungan antara berbagai alkaloida yang diklasifikasikan berdasarkan berbagai jenis cincin heterosiklik. Dari biosintesa alkaloida, menunjukkan bahwa alkaloida berasal hanya dari beberapa asam amino tertentu saja. Berdasarkan hal tersebut, maka alkaloida dapat dibedakan atas tiga jenis utama, yaitu: (1) Alkaloida alisiklik yang berasal dari asam-asam amino ornitin dan lisin. (2) Alkaloida aromatik jenis fenilalanin yang berasal dari fenilalanin, tirosin dan 3,4-dihidrofенilalanin. (3) Alkaloida aromatik jenis indol yang berasal dari triptofan.
- d. Sistem klasifikasi berdasarkan Hegnauer yang paling banyak diterima, dimana alkaloida dikelompokkan atas: (a). Alkaloida sesungguhnya Alkaloida ini merupakan racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas fisiologis yang luas, hamper tanpa terkecuali bersifat basa, umumnya mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik, diturunkan dari asam amino, biasanya terdapat dalam tanaman sebagai garam asam organik. Beberapa pengecualian terhadap aturan tersebut adalah kolkhisin dan asam aristolokhat yang bersifat bukan

basa dan tidak memiliki cincin heterosiklik dan alkaloida quartener yang bersifat agak asam daripada bersifat basa. (b). Protoalkaloida Protoalkaloida merupakan amin yang relative sederhana dimana nitrogen asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloida diperoleh berdasarkan biosintesa dari asam amino yang bersifat basa. Pengertian amin biologis sering digunakan untuk kelompok ini.



Gambar 6. Jenis-jenis Alkaloida

4. Terpenoid/Steroid

Menurut Lutfiyanti et, al., (2012) terpenoid termasuk triterpenoid. Senyawa triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri. Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprene dan dibuat secara biosintesis dari skualen, suatu C₃₀ Flavanoid adalah senyawa yang terdiri atas C hidrokarbon alisiklik. Senyawa tersebut mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks, kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehid atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak berwarna, kristalin, sering mempunyai titik lebur tinggi, Triterpen dapat ditemukan pada resin, kulit kayu, dan dalam lateks (Sirait, 2007). Menurut Heinrich *et al.* (2009), triterpen juga merupakan komponen resin dan eksudat resin dari tanaman yang diproduksi jika pohon menjadi rusak sebagai perlindungan fisik terhadap serangan fungi dan bakteri. Selain itu, banyak komponen terpenoid resin ini memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi, baik membunuh mikroba yang berpotensi

menyerang maupun memperlambat pertumbuhannya hingga pohon dapat memperbaiki kerusakannya.

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Mereka berupa senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, seringkali bertitik leleh tinggi dan aktif optik yang umumnya sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya. Triterpenoid dapat dibagi menjadi empat kelompok senyawa, yaitu triterpen sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida jantung (Harborne, 1987).

Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid. Adapun contohnya adalah sterol, sapogenin, glikosida jantung dan vitamin D. Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dari triterpena yaitu lanosterol dan saikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat (Harborne, 1987).

D. Golongan Senyawa

Senyawa metabolit sekunder dapat ditemukan di alam, baik pada tumbuhan maupun pada hewan. Sejauh ini telah banyak dilakukan penelitian tentang senyawa metabolit pada biota laut yang berpotensi sebagai obat atau untuk menunjang berbagai kepentingan industri (Lenny 2006).

Metabolit sekunder merupakan hasil metabolisme makhluk hidup yang tidak esensial bagi perkembangan dan pertumbuhan makhluk hidup yang umumnya merupakan senyawa *aromatic*. Metabolit sekunder ini merupakan bentuk pertahanan diri yang diproduksi hanya saat dibutuhkan dan umumnya dihasilkan oleh tanaman. Metabolit sekunder memiliki struktur yang beragam yang dipengaruhi oleh letak geografis, paparan sinar matahari, ataupun keragaman secara genetis. Metabolit sekunder berperan sebagai antibiotik, antioksidan, antibakteri, anti kanker, antikoagulan darah, dan dapat menghambat efek karsinogenetik (Handayani, 2013).

Banyak usaha yang telah dilakukan untuk melawan bakteri-bakteri patogen, antara lain dengan upaya penemuan senyawa yang mampu membunuh dan menghambat bakteri tersebut. Zat-zat seperti ini kemudian dikenal dengan istilah zat antibakteri. Perkembangan obat antibakteri merupakan suatu kemajuan terpenting dalam bidang pengobatan, karena pengobatan efektif terhadap infeksi serius telah memperbaiki kualitas hidup dan memberi banyak kemajuan dalam bidang kedokteran maupun di bidang industri obat (Kumala, 2006).

Mikroba dan tumbuhan baik darat maupun laut merupakan salah satu sumber utama bahan obat. Berbagai obat penting yang diresepkan di dalam terapi klinik seperti

antibiotik, statin, vinkristin, taksol didapatkan dengan pemurnian dari sumber alami yakni mikroba dan tumbuhan. Demikian halnya beberapa jenis-jenis senyawa yang berpotensi sebagai agen promosi kesehatan seperti katekin, genistein, flavonoid, stilbenoid, dan lain-lain juga diisolasi dari bahan alam, baik dari mikroba, tumbuhan, jamur maupun sarang serangga seperti propolis (sarang lebah) atau pun sarang semut.

E. Ekstraksi

Ekstraksi Tumbuhan sudah dikenal sejak lama mengandung komponen metabolit sekunder yang umumnya terdapat dalam daun, bunga, akar, buah dan biji. Berbagai cara dilakukan untuk mendapatkan komponen metabolit sekunder, salah satunya dengan menggunakan ekstraksi. Tiwari *et al.* (2011) menyatakan bahwa ekstraksi adalah suatu pemisahan komponen aktif dalam suatu jaringan tanaman dan jaringan hewan menggunakan pelarut yang telah ditentukan oleh standar. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi ke dalam material padat dan berdifusi kepada komponen yang memiliki kepolaran yang sama. Teknik ekstraksi yang sering dilakukan antara lain maserasi, perkolasi, soxhlet, ekstraksi air-alkohol. Perbedaan dalam proses ekstraksi akan menghasilkan jumlah dan komposisi metabolit sekunder yang berbeda-beda. Faktor yang mempengaruhinya antara lain: tipe ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu, pelarut organik, konsentrasi pelarut dan kepolaran. Hal yang perlu dilakukan dalam menentukan pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi antara lain: pelarut memiliki toksisitas rendah, mudah untuk dievaporasi dalam suhu rendah, serta cepat dalam menyerap ekstrak.

F. Gas Chromatography Mass Spectrometry

Gas Chromatography Mass Spectrometry merupakan gabungan dua buah alat yaitu *kromatografi gas* dan *spektrometri massa*. GC-MS digunakan untuk mendeteksi massa antara 10 m/z hingga 700 m/z (Fessenden, 1982). Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel (Agusta, 2000). Prinsip kerja dari kromatografi gas terkait dengan titik didih senyawa yang dianalisis serta perbedaan interaksi analit dengan fase diam dan fase gerak. Senyawa dengan titik didih yang tinggi memiliki waktu retensi yang lama. Senyawa yang lebih terikat dalam fase cair pada permukaan fase diam juga memiliki waktu retensi yang lebih lama (Clark, 2007).

Spektrometri massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000). Prinsip kerja spektrometri massa adalah menembak bahan yang sedang dianalisis dengan

berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spektrum fragmen ion positif. Fragmen-fragmen tersebut berkelompok sesuai dengan massanya (Fessenden, 1982).

Kebanyakan analisis dengan GC-MS dapat dibagi dalam dua kelompok, yaitu: kualitatif dan kuantitatif. Kedua analisis tersebut menggunakan spektrometer massa sebagai detektor (Munson, 1991). Berdasarkan analisis GC-MS diperoleh dua informasi dasar, yaitu hasil analisis kromatografi gas yang ditampilkan dalam bentuk kromatogram dan hasil analisis spektrometri massa yang ditampilkan dalam bentuk spektrum massa. Kromatogram memberikan informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis (jika sampel berbentuk campuran) yang ditunjukkan oleh jumlah puncak yang terbentuk pada kromatogram berikut kuantitas masing-masing. Spektrum massa hasil analisis sistem spektroskopi massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu komponen kimia (masing-masing puncak pada kromatogram). Setiap fragmen yang terbentuk dari pemecahan suatu komponen kimia memiliki berat molekul yang berbeda dan ditampilkan dalam bentuk diagram dua dimensi, m/z (m/e , massa/muatan) pada sumbu X dan intensitas pada sumbu Y yang disebut spektrum massa (Agusta, 2000).

G. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu bio massa yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji coba. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (Meyer, 1982).

Pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis yang rendah dan sebagian besar senyawa anti tumor adalah sitotoksik, maka digunakan "*Brine Shrimp Lethality Test*". Akan tetapi pengujian lethalitas yang sederhana tidak spesifik untuk anti tumor, tetapi merupakan indikator sitotoksitas yang baik dengan pengujian anti tumor lainnya, seperti uji leukemiatikus. Prosedur ini menentukan nilai LC_{50} dalam $\mu\text{g/ml}$ dari ekstrak dan senyawa aktif dalam medium air asin. Aktivitas yang luas dari senyawa aktif yang diketahui dianggap terhadap udang, akan tetapi prosedur yang sederhana, biaya yang rendah, dan korelasinya terhadap pengujian sitotoksitas dan pengujian anti tumor membuat pengujian ini sebagai uji

pendahuluan untuk aktivitas anti tumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di laboratorium dengan fasilitas sederhana (Meyer, 1982).

H. *Lethal Concentration 50 (LC₅₀)*

LC₅₀ digunakan untuk perlakuan secara inhalasi atau percobaan toksisitas dalam media air (Klaassen, 1986). Pengujian efek toksik dengan larva *Artemia salina*, dihitung dengan metode LC₅₀ yang mana kematian setelah 6 jam pemaparan dimasukkan kedalam kategori LC₅₀ akut dan pemaparan setelah 24 jam digolongkan LC₅₀ kronis, akan tetapi dalam pengerjaannya biasanya digunakan perhitungan LC₅₀ setelah 24 jam mengingat kelarutan ekstrak yang sukar larut membutuhkan waktu yang lebih panjang. Penunjukan efek toksik yang dihasilkan memberikan indikasi terganggunya proses pembentukan sel. Dalam hal ini diasumsikan sebagai sel kanker (Anderson *et.al.*, 1991).

Penentuan LC₅₀ dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan grafik probit log konsentrasi, metode grafik, perhitungan secara matematik. Penentuan metode grafik probit konsentrasi dilakukan dengan menempatkan persentase respons dari tiap kelompok hewan pada kordinat dan logaritma dosis obat yang diberikan secara absis (Loomis, 1978).

Tabel 1. Tingkat nilai toksisitas LC₅₀

No	Nilai LC ₅₀ (µg/ml)	Tingkat Toksisitas
1	0-250	Sangat Toksik
2	250-500	Toksik
3	500-750	Sedang
4	750-1000	Tidak Toksik

(Sumber: Anderson, 1991)

I. Analisis Probit

Analisis probit adalah jenis regresi digunakan untuk menganalisis variabel respon binomial. Analisis probit (Finney, 1971) untuk mendapatkan nilai LC₅₀ apabila mortalitas pada perlakuan kontrol lebih besar 0% dan lebih kecil 20 % maka mortalitas artemia pada perlakuan dikoreksi dengan formula, Trisyono dan Whalon (1999). Nilai Probit dapat dilihat pada tabel analisis probit pada Tabel 2.

Tabel 2. Transformasi Dari Perhitungan Probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
-	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09