

- Saponin
 - Filtrat dikocok kuat dengan tangan atau menggunakan vortex
 - Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya buih yang stabil (Ayoola et al., 2008)
3. Triterpenoid/ steroid
- Diambil 1 gram sampel, lalu tambahkan EtOH panas
 - Dipanaskan filtrate hingga kering, lalu tambahkan 1 ml dimetil eter
 - Dihomogenkan dengan menggunakan vortex
 - Ditambahkan 1 tetes H₂SO₄ pekat dan 1 tetes CH₃COOH anhidrat
 - Hijau/ biru menunjukkan reaksi positif steroid, merah/ ungu menunjukkan reaksi positif triterpenoid (Tiwari et al., 2011)
4. Hidrokuinon
- Diambil 1 gram sampel, lalu tambahkan MeOH
 - Dipanaskan hingga mendidih, lalu saring dengan menggunakan kertas saring
 - Ditambahkan 3 tetes NaOH 10% pada 21epresen
 - Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah (Tiwari et al., 2011)

3.3 Ekstraksi (maserasi bertingkat) dan evaporasi sampel terpilih

Maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel, lalu isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Sampel yang diekstraksi adalah sampel yang akan difraksinasi menggunakan kromatografi kolom, yaitu akar *B. gymnorrhiza*, akar *A. marina*, dan daun *X. granatum*.

- Dimaserasi 300 gram serbuk simplisia masing-masing sampel dalam pelarut selama dua hari (48 jam) pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya.
- Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian pelarut sejenis (remaserasi) setiap 24 jam, 17 jam, dan 7 jam. Total rendemen yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan dengan menggunakan vaccum rotary evaporator.
- Residu selanjutnya dimaserasi lagi (maserasi bertingkat) dengan pelarut lain. Adapun dalam penelitian ini digunakan empat jenis pelarut secara berurutan berdasarkan kepolarannya, yaitu: hexane, etil asetat, ethanol, dan air (Handayani, 2016).

3.4. Penentuan eluen terbaik dengan KLT (Rouessaac dan Roussac 2007)

- Ekstrak yang akan digunakan dilarutkan dengan metanol pada konsentrasi 2%.
- Disiapkan pelat KLT (fase diam silika G50F254) dengan ukuran 2x10 cm, diberi garis batas awal dan akhir masing-masing 1 cm dari ujung-ujung pelat sehingga jarak Rf 8 cm. Pelat kemudian dielusi dengan metanol p.a hingga mencapai garis batas akhir kemudian dikeringkan.
- Sebanyak 10 mL eluen dijenuhkan dalam bejana kromatografi selama 15 menit. Eluen yang digunakan, yaitu metanol, etil asetat, diklorometana, kloroform, aseton, etanol, dan n-heksana.
- Dilakukan penotolan sampel pada pelat dengan volume 10 μ L dan lebar pita 8 mm menggunakan autosampler CAMAG Linomat 5. Pelat dikeringudarkan selama 5 menit kemudian dielusi dalam bejana kromatografi dengan eluen yang telah dijenuhkan.
- Setelah eluen mencapai garis batas akhir kemudian pelat dikeringudarkan. Pita-pita yang terbentuk diamati dengan sinar UV pada 254 dan 366 nm.

3.5. Uji aktivitas antibakteri dengan KLT bioautografi kontak (Yuliaty et al., 2011)

- Dilakukan penotolan sampel dengan konsentrasi 2% pada pelat dengan volume 10 μ L menggunakan autosampler CAMAG Linomat 5. Pelat dikeringudarkan selama 5 menit kemudian dielusi dalam bejana kromatografi dengan eluen terpilih yang telah dijenuhkan.
- Setelah eluen mencapai garis batas akhir kemudian pelat dikeringudarkan. Pita-pita yang terbentuk diamati dengan sinar UV pada 254 dan 366 nm.
- Pelat ditempelkan di atas suspensi banteri yang sudah ditumbuhkan pada medium TSA. Kemudian medium yang sudah ditemeli KLT tersebut diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam.
- Adanya zona bening pada medium yang ditemeli KLT mengindikasikan adanya aktiv Daerah inhibisi pada kromatogram ditandai dan dibandingkan dengan kromatogram yang telah dideteksi sebelumnya dengan sinar UV pada λ 254 untuk menentukan nilai Rf yang memiliki aktivitas penghambatitas antibakteri.

3.6. Fraksinasi dengan kromatografi kolom

Fraksinasi menggunakan kolom berdiameter 1.5 cm dengan tinggi 47 cm. Fase diam yang digunakan yaitu silika 60 dengan massa 17.2854 g. Metode yang digunakan yaitu isokratik dengan fase gerak kloroform : diklorometana (9:1). Eluat ditampung ke dalam vial setiap 5 mL. Eluat dikeringudarkan kemudian dilihat pola KLT dari eluat yang sudah diperoleh untuk menentukan jumlah fraksi yang diperoleh selama pemisahan.

3.7. Uji antibakteri

1. Uji antibakteri

- Persiapan
 - Pembuatan stok kultur bakteri
 - Disiapkan semua peralatan dan bahan yang dibutuhkan
 - Pembuatan media nutrient agar
 - Disterilisasi semua peralatan dan media yang dibutuhkan
 - Pembuatan stok sampel ekstrak

- Uji antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram (Balouiri et al., 2016)
 - sebanyak 1 ml suspensi bakteri dengan densitas 10^6 sel/ ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 15 ml nutrient agar cair.
 - Cawan petri kemudian digoyangkan dengan membentuk angka “8” sebanyak 5 – 10 X sehingga media dan 23epresen tercampur.
 - Setelah agar memadat, ke dalam setiap cawan petri tersebut dimasukkan 6 cakram kertas dan diberi kode untuk masing-masing ekstrak, 23eprese positif, dan 23eprese 23epresen.
 - masing-masing ekstrak, 23eprese positif, dan 23eprese 23epresen diteteskan dengan mikropipet sebanyak 10 μ l. setiap perlakuan dilakukan triplo
 - Cawan petri diinkubasi pada suhu 37 oC selama 24 jam.
 - Zona inhibisi yang terbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong.

BAB IV

HASIL PENCAPAIAN

4.1. Rumusan Protokol *extract library*

1. Sampling

Extract library sangat terkait dengan bagaimana tumbuhan atau sumber bahan alam lainnya dalam menghasilkan metabolit sekunder. Produksi metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh musim, keadaan lingkungan, umur, jenis organ.

2. Preparasi dan penyimpanan simplisia

- Waktu antara sampling, penyimpanan sampel sementara, penyimpanan sampel dalam freezer, dan proses preparasi simplisia harus diusahakan seminimal mungkin. Rentang waktu yang panjang dari proses sampling sampai proses preparasi simplisia akan mempengaruhi hasil ekstrak terkait dengan aktivitas enzim interseluler sampel itu sendiri dan aktivitas mikroba (bakteri dan jamur yang melekat pada sampel).
- Pencatatan detail-detail sampling sampai penyimpanan simplisia perlu dicatat dengan baik supaya dapat menjadi acuan jika diperluka koleksi ulang.

3. Ekstraksi dan penyimpanan ekstrak

- Penggunaan metode ekstraksi ditentukan beberapa hal antara lain, efisiensi biaya, waktu, dan hasil ekstraksi.
- Terlepas dari metode ekstraksi yang dipakai, perlu dilakukan optimasi ekstraksi sehingga rendemen ekstraksi mencapai hasil optimum baik dari segi kuantitas maupun kualitas demi mencapai jumlah ekstrak yang memadai.
- Perlu dikembangkan juga optimasi penyimpanan ekstrak terkait dengan efektivitas kegiatan skrining. Penyimpanan ideal harus meliputi daya simpan yang panjang dan kualitas ekstrak yang konsisten sehingga menghasilkan hasil yang representatif dari sekian banyak proses skrining untuk berbagai jenis penyakit.

4.2. Mangrove sebagai objek *extract library*

Seluruh sampel yang telah berhasil dikoleksi dirangkum dalam lampiran 16. Seluruh sampel diberi kode dan dikeringkan. Jumlah sampel yang diperoleh berbeda-beda sesuai dengan ketersediaan bahan di lokasi pengambilan sampel. Susut pengeringan terbesar ditemukan pada bagian daun dari semua bagian tanaman, sedangkan susut pengeringan terkecil ditemukan pada bagian batang. Susut pengeringan perlu ditentukan sebagai dasar untuk pengambilan sampel selanjutnya bila sampel yang sudah dikoleksi habis.

4.3. Uji kualitatif fitokimia simplisia

Pada simplisia yang sudah kering dilakukan uji kualitatif fitokimia simplisia. Masing-masing simplisia tidak selalu menghasilkan reaksi positif terhadap semua uji. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman mangrove cukup kaya akan metabolit sekunder dan komposisinya tidak sama satu sama lainnya. selanjutnya hasil uji ini dapat menjadi asumsi sederhana untuk lanjutan skrining antibakteri dan antitumor. Berikut hasil uji fitokimia simplisia disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil uji fitokimia simplisia

Sampel	Kode	Fenolik			Quinon	Steroid	Triterpenoid	Alkaloid		
		Flavonoid	Tanin	Saponin				Mayer	Wagner	Dragendof
Daun <i>R. apiculata</i>	72	-	++	+	-	++	-	-	-	-
Batang <i>R. apiculata</i>	73	-	++	+++	-	-	+	-	-	-
Akar <i>R. apiculata</i>	74	+	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Daun <i>B. gymnorrhiza</i>	75	+++	+++	+++	-	++	-	-	-	-
Batang <i>B. gymnorrhiza</i>	76	+	++	+++	+	-	+	-	-	-
Akar <i>B. gymnorrhiza</i>	77	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-
Daun <i>R. mucronata</i>	79	+	+++	+++	-	++	-	-	-	-
Batang <i>R. mucronata</i>	80	-	+++	+++	+	-	-	-	-	-
Akar <i>R. mucronata</i>	81	+++	++	+++	+	-	-	-	-	-
Daun <i>T. populnea</i>	82	-	+	+++	-	+++	-	-	-	-
Buah <i>T. populnea</i>	83	-	+++	-	-	+	-	-	-	-
Daun <i>A. marina</i>	84	++	++	++	-	+	-	-	-	-
Akar <i>A. marina</i>	85	-	-	+	-	+	-	-	-	-
Daun <i>X. granatum</i>	86	-	+	+++	-	+	-	-	-	-
Daun <i>C. tagal</i>	87	+	++	+	-	+	-	+	+	+
Daun <i>S. caseolaris</i>	88	++	+++	-	-	+	-	-	-	-

4.4. Hasil proses ekstraksi

Simplisia yang sudah kering diekstraksi dan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.2. Keseluruh 64 sampel telah berhasil diekstraksi pada tahun kesatu. Foto ekstrak yang telah didapat tercantum dalam Lampiran 5.

Tabel 4.2. Hasil Ekstraksi yang sudah dikoleksi

No	Pelarut	Rendemen (%)	Rataan
72/V/17 (Daun <i>R. apiculata</i>)			
1	Heksana	1.66	1.28
		1.28	
		0.90	
2	Etil asetat	2.22	3.22
		1.82	
		5.62	

3	Etanol	10.81	6.55
		4.34	
		4.49	
4	Air	10.81	16.20
		16.61	
		21.18	
79/V/17 (Daun <i>R. mucronata</i>)			
5	Heksana	1.18	1.04
		0.91	
		1.02	
6	Etil asetat	1.69	2.36
		2.23	
		3.16	
7	Etanol	2.24	2.49
		2.14	
		3.07	
8	Air	17.42	13.26
		12.22	
		10.15	
75/V/17 (Daun <i>B. gymnorrhiza</i>)			
9	Heksana	3.24	2.60
		1.84	
		2.72	
10	Etil asetat	1.32	1.34
		1.29	
		1.41	
11	Etanol	7.21	7.09
		6.94	
		7.11	
12	Air	22.42	20.32
		18.21	
		24.10	
84/V/17 (Daun <i>A. marina</i>)			
13	Heksana	2.60	1.83
		1.54	
		1.34	
14	Etil asetat	1.47	1.40
		1.32	
		1.40	
15	Etanol	7.98	7.42
		8.21	
		6.08	
16	Air	23.33	26.23
		32.15	
		23.20	
85/V/17 (Akar <i>A. marina</i>)			

17	Heksana	0.58	0.50
		0.44	
		0.47	
18	Etil asetat	0.86	0.89
		0.89	
		0.92	
19	Etanol	2.00	1.98
		1.98	
		1.97	
20	Air	9.46	10.31
		12.41	
		9.05	
82/V/17 (Daun <i>T. populnea</i>)			
21	Heksana	2.85	2.46
		2.20	
		2.34	
22	Etil asetat	2.80	2.73
		2.59	
		2.79	
23	Etanol	3.34	3.55
		3.38	
		3.92	
24	Air	13.81	
		12.81	
		18.68	
86/V/17 (Daun <i>X. granatum</i>)			
25	Heksana	0.86	0.76
		0.71	
		0.71	
26	Etil asetat	1.83	1.79
		1.92	
		1.62	
27	Etanol	6.51	6.94
		6.51	
		7.82	
28	Air	23.13	21.18
		19.23	
88/V/17 (Daun <i>S. caseolaris</i>)			
29	Heksana	1.56	1.52
		1.24	
		1.75	
30	Etil asetat	1.36	1.43
		1.53	
		1.40	
31	Etanol	9.57	9.46

		9.38	
		9.45	
32	Air	4.75	7.58
		10.41	
87/V/17 (Daun <i>C. tagal</i>)			
33	Heksana	2.43	2.41
		2.37	
		2.42	
34	Etil asetat	2.31	2.27
		2.17	
		2.34	
35	Etanol	11.84	10.86
		9.84	
		10.89	
36	Air	15.85	19.58
		22.01	
		20.89	
73/V/17 (Batang <i>R. apiculata</i>)			
37	Heksana	0.59	0.42
		0.25	
38	Etil asetat	0.66	0.43
		0.42	
		0.21	
39	Etanol	3.56	3.33
		3.10	
40	Air	1.53	1.84
		2.14	
		1.84	
76/V/17 (Batang <i>B. gymnorrhiza</i>)			
41	Heksana	0.27	0.26
		0.24	
		0.28	
42	Etil asetat	0.23	0.27
		0.25	
		0.34	
43	Etanol	2.28	2.34
		2.40	
44	Air	3.66	1.28
		2.40	
		10.29	
77/V/17 (Akar <i>B. gymnorrhiza</i>)			
45	Heksana	0.30	0.29

		0.23	
		0.33	
46	Etil asetat	0.33	0.32
		0.32	
		0.31	
47	Etanol	8.77	8.95
		9.32	
		8.77	
48	Air	3.67	4.14
		3.88	
		4.86	
74/V/17 (Akar <i>R. apiculata</i>)			
49	Heksana	0.28	0.25
		0.25	
		0.22	
50	Etil asetat	0.25	0.25
		0.27	
		0.24	
51	Etanol	13.14	11.92
		10.97	
		11.66	
52	Air	5.13	6.31
		7.48	
		5.35	
80/V/17 (Batang <i>R. mucronata</i>)			
53	Heksana	0.21	0.26
		0.27	
		0.28	
54	Etil asetat	0.23	0.23
		0.24	
		0.21	
55	Etanol	7.62	4.88
		3.28	
		3.75	
56	Air	5.15	3.72
		3.22	
		2.78	
81/V/17 (Akar <i>R. mucronata</i>)			
57	Heksana	0.12	0.14
		0.19	
		0.12	
58	Etil asetat	0.15	0.15
		0.15	
		0.16	
59	Etanol	3.68	3.59
		3.83	

		3.26	
60	Air	1.83	2.53
		1.91	
		3.84	
83/V/17 (Buah <i>T. populnea</i>)			
61	Heksana	3.84	3.10
		2.27	
		3.12	
62	Etil asetat	2.23	3.64
		4.23	
		4.47	
63	Etanol	2.57	2.99
		2.98	
		3.43	
64	Air	27.02	13.41
		3.82	
		9.40	

4.5. Uji skrining antibakteri dan antikanker

Uji skrining yang dilakukan adalah uji skrining antibakteri yang dapat dilihat pada tabel 4.4. dan uji skrining antitumor dapat dilihat pada tabel 4.6. Dari kedua uji tersebut dapat dilihat sebagian besar berpotensi besar sebagai antibakteri sebagai ekstrak kasar. Uji skrining antibakteri sejauh ini baru dilakukan untuk bakteri Gram positif *S. aureus* (20 ekstrak) dan bakteri Gram negatif *P. acne* (24 ekstrak) dari total 64 ekstrak. Hasil uji antibakteri dari 16 jenis spesies Mangrove dengan 4 jenis pelarut: 4 ekstrak menunjukkan potensi antibakteri untuk bakteri gram-positif (72A, 75A, 79A, 84A) dan 9 ekstrak menunjukkan potensi anti bakteri untuk bakteri gram-negatif (72H, 74H, 74Ea, 76H, 76Ea, 82H, 84H, 86H, 88H). Uji antibakteri penelitian pendahuluan dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.3. Hasil uji skrining antibakteri (*S. aureus*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter		No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2			1	2	1	2
1	72 Ea	10	125	6	6	11	79Et	10	125	6	6
2	72Et	10	125	6	6	12	79A	10	125	8.23	8.71
3	72A	10	125	7.28	6.93	13	82H	10	125	6	6
4	75H	10	125	6	6	14	82Ea	10	125	6	6
5	75Ea	10	125	6	6	15	82Et	10	125	6	6
6	75Et	10	125	6	6	16	84H	10	125	6	6
7	75A	10	125	6.54	6.31	17	84Ea	10	125	6	6
8	76H	10	125	6	6	18	84Et	10	125	6	6
9	79H	10	125	6	6	19	84A	10	125	10.21	11.23
10	79Ea	10	125	6	6	20	88H	10	125	6	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Tabel 4.4. Hasil uji skrining antibakteri (*P. acne*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter		No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2			1	2	1	2
1	72H	10	125	7	8.07	12	77Ea	10.5	125	6	6
2	72Ea	10	125	6	6	13	79H	10.5	125	6	6
3	73H	10.4	125	6	6	14	79Ea	10	125	6	6
4	73Ea	10.3	125	6	6	15	82H	10.2	125	7.07	6.75
5	74H	10.1	125	6.13	6.21	16	82Ea	10.4	125	6.97	6.77
6	74Ea	10	125	6.33	6.24	17	84H	10.4	125	6.97	6.77
7	75H	10.2	125	6	6	18	84Ea	10.1	125	6	6
8	75Ea	10	125	6	6	19	86H	10.7	125	8.04	6
9	76H	10.1	125	6.73	7.07	20	86Ea	10.2	125	6	6
10	76Ea	10.6	125	6.78	6.99	21	87H	10.2	125	6	6
11	77H	10.3	125	6	6	22	87Ea	10	125	6	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

Tabel 4.5. Hasil uji skrining antibakteri (*P. mussolli*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter		No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2			1	2	1	2
1	72H	10	125	6	6	31	80Et	10.4	125	6	6
2	72Ea	10	125	6	6	32	80A	10.3	125	6	6
3	72Et	10.4	125	6	6	33	81H	10	125	7	8.07
4	72A	10.3	125	6	6	34	81Ea	10	125	6.25	6.24
5	73H	10	125	6	6	35	81Et	10.4	125	6	6
6	73Ea	10	125	6	6	36	81A	10.3	125	6	6
7	73Et	10.4	125	6	6	37	82H	10	125	6	6
8	73A	10.3	125	6	6	38	82Ea	10	125	6	6
9	74H	10	125	6	6	39	82Et	10.4	125	6	6
10	74Ea	10	125	6	6	40	82A	10.3	125	6	6
11	74Et	10.4	125	6	6	41	83H	10	125	7.58	7.61
12	74A	10.3	125	6	6	42	83Ea	10	125	6	6
13	75H	10	125	6	6	43	83Et	10.4	125	6	6
14	75Ea	10	125	6	6	44	83A	10.3	125	6	6
15	75Et	10.4	125	6	6	45	84H	10	125	6	6
16	75A	10.3	125	6	6	46	84Ea	10	125	6	6
17	76H	10	125	6	6	47	84Et	10.4	125	6	6
18	76Ea	10	125	7.55	7.63	48	84A	10.3	125	6	6
19	76Et	10.4	125	6	6	49	85H	10	125	6	6
20	76A	10.3	125	6	6	50	85Ea	10	125	6	6
21	77H	10	125	6	6	51	85Et	10.4	125	6	6
22	77Ea	10	125	7.93	7.85	52	86H	10.3	125	6	6
23	77Et	10.4	125	6	6	53	86Ea	10	125	6	6
24	77A	10.3	125	6	6	54	86Et	10	125	6	6
25	79H	10	125	7	6	55	87H	10.4	125	6	6
26	79Ea	10	125	6	6	56	87Ea	10.3	125	6	6

27	79Et	10.4	125	6	6	57	87Et	10.2	125	6	6
28	79A	10.3	125	6	6	58	88H	10.2	125	6	6
29	80H	10	125	6	6	59	88Ea	10	125	6	6
30	80Ea	10	125	6	6	60	88Et	10.1	125	7.12	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

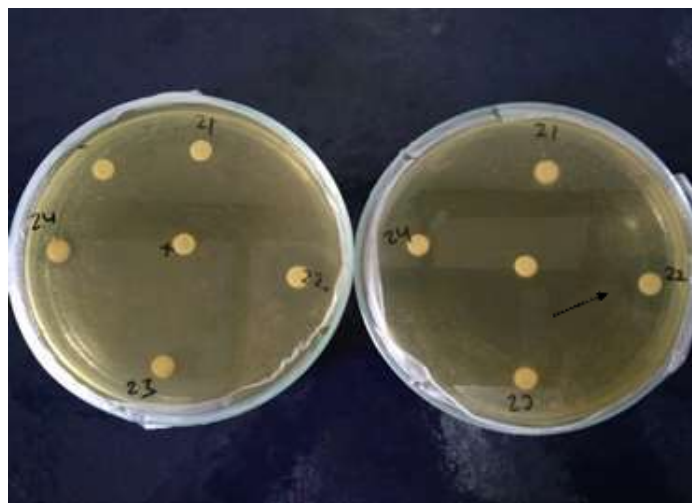
Tabel 4.6. Hasil uji skrining antibakteri (*R. equi*)

No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter		No.	Kode	Jumlah (mg)		Diameter	
		1	2	1	2			1	2	1	2
1	72H	10	125	6	6	31	80Et	10.4	125	6	6
2	72Ea	10	125	6	6	32	80A	10.3	125	6	6
3	72Et	10.4	125	6	6	33	81H	10	125	6.73	6.63
4	72A	10.3	125	6	6	34	81Ea	10	125	8.43	6.08
5	73H	10	125	6.18	6.23	35	81Et	10.4	125	6	6
6	73Ea	10	125	6	6	36	81A	10.3	125	6	6
7	73Et	10.4	125	6	6	37	82H	10	125	7.14	7.12
8	73A	10.3	125	6.76	6.77	38	82Ea	10	125	6.03	6.05
9	74H	10	125	6	6	39	82Et	10.4	125	6	6
10	74Ea	10	125	7.98	7.98	40	82A	10.3	125	6	6
11	74Et	10.4	125	7.95	7.87	41	83H	10	125	6.97	6.87
12	74A	10.3	125	6	6	42	83Ea	10	125	6	6
13	75H	10	125	6	6	43	83Et	10.4	125	6.89	6.7
14	75Ea	10	125	6.56	6.32	44	83A	10.3	125	6	6
15	75Et	10.4	125	6	6	45	84H	10	125	6.77	6.82
16	75A	10.3	125	6	6	46	84Ea	10	125	6	6
17	76H	10	125	6	6	47	84Et	10.4	125	6	6
18	76Ea	10	125	6	6	48	84A	10.3	125	6	6
19	76Et	10.4	125	6.48	6.55	49	85H	10	125	7.89	7.67
20	76A	10.3	125	6	6	50	85Ea	10	125	6	6
21	77H	10	125	6	6	51	85Et	10.4	125	6	6
22	77Ea	10	125	6	6	52	86H	10.3	125	6.88	6.73
23	77Et	10.4	125	6	6	53	86Ea	10	125	6	6
24	77A	10.3	125	6	6	54	86Et	10	125	6	6
25	79H	10	125	7	6	55	87H	10.4	125	6.43	6.55
26	79Ea	10	125	6.73	6.23	56	87Ea	10.3	125	6	6
27	79Et	10.4	125	6	6	57	87Et	10.2	125	6	6
28	79A	10.3	125	6	6	58	88H	10.2	125	6.67	6.65
29	80H	10	125	6	6	59	88Ea	10	125	6	6
30	80Ea	10	125	7.24	7.25	60	88Et	10.1	125	7.12	6

Keterangan: H: Heksana, Ea: Etil asetat, Et: Etanol, dan A: Air

4.6. Ringkasan hasil uji bakteri

Hasil ekstraksi dari delapan spesies mangrove diperoleh 64 jenis ekstrak dengan menggunakan empat jenis pelarut, yaitu air, etanol, etil asetat dan heksana. Keempat jenis pelarut ini diberi kode A, Et, Ea dan H secara berurutan. Uji antibakteri menggunakan lima jenis bakteri yang berbeda, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* dan *Rhodococcus equi* yang mewakili gram positif bakteri dan *Pseudomonas mosselii* dan *Escherichia coli* yang mewakili gram negative bakteri. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa terdapat 37 ekstrak yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Dari ke-37 ekstrak ini telah dipilih ekstrak 77Ea (ekstrak akar gymnorhiza yang diekstrak menggunakan pelarut etil asetat). Ekstrak ini menunjukkan aktifitas antibakteri yang cukup baik, yaitu dengan diameter zona bening 17.39 mm dengan indeks daya hambat sebesar 1.8983 (Gambar 4.1).



Gambar 4.1. Zona penghambatan terbesar terbentuk karena penambahan ekstrak akar *B. gymnorhiza* (77Ea) pada media agar dengan bakteri gram negatif *E. coli* dengan diameter 17,39 mm dan nilai indeks penghambatan 1,8983 (ditunjukkan oleh panah).

Indeks daya hambat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks daya hambat} = \frac{d \text{ zona hambat} - d \text{ cakram}}{d \text{ cakram}}$$

$$d \text{ zona hambat} = \text{diameter zona bening}$$

$$d \text{ cakram} = \text{diameter cakram}$$

Tabel 4.7. Bacterial inhibition zone (mm) and inhibition index of extracts.

No.	Sample code	Bacterial strains	Disk diameter + inhibition zone (mm)		Inhibition index	
			Positive control	Samples	Positive control	Samples
1	72H	<i>P acne</i>	15.95	7.54	1.6583	0.2567
		<i>E coli</i>	25.88	7.26	3.133	0.2100
2	72A	<i>S aureus</i>	17.32	7.11	1.8875	0.1850
		<i>E coli</i>	25.88	6.94	3.3133	0.1567
4	73H	<i>R equi</i>	20.4	6.21	2.4	0.0350
		<i>R equi</i>	25.36	6.77	3.2275	0.1275
6	73Et	<i>P acne</i>	25.66	6.50	3.2767	0.0833
		<i>P acne</i>	25.66	6.99	3.2767	0.1650
8	74H	<i>P acne</i>	15.95	6.17	1.6583	0.0283
		<i>P acne</i>	11.25	6.29	0.8750	0.0483
9	74Ea	<i>R equi</i>	25.36	7.98	3.2275	0.3300
		<i>P acne</i>	28.74	6.87	3.7892	0.1450
10	74Et	<i>R equi</i>	23.48	7.91	2.9125	0.3183
		<i>P acne</i>	28.74	7.49	3.7892	0.2483
12	75Ea	<i>R equi</i>	25.36	6.44	3.2275	0.0733
13	75A	<i>S aureus</i>	16.90	6.43	1.8175	0.0717

14	76H	<i>P acne</i>	12.49	6.90	1.0817	0.1500
15	76Ea	<i>P acne</i>	17.88	6.89	1.9800	0.1483
		<i>P mosselii</i>	11.63	7.59	0.9383	0.2650
16	76Et	<i>P acne</i>	23.32	7.30	2.8858	0.2167
		<i>R equi</i>	25.41	6.52	3.2342	0.0867
		<i>S aureus</i>	31.6	7.74	4.2667	0.2900
17	77Ea	<i>E coli</i>	34.40	17.39	4.7325	1.8983
		<i>P mosselii</i>	11.63	7.89	0.9383	0.3150
18	77Et	<i>P acne</i>	31.6	7.02	4.2667	0.1700
19	77A	<i>P acne</i>	31.6	7.96	4.2667	0.3267
		<i>E coli</i>	34.40	7.71	4.7325	0.2850
20	79Ea	<i>R equi</i>	20.81	6.48	2.4683	0.0800
21	79A	<i>S aureus</i>	17.32	8.47	1.8875	0.4117
22	80H	<i>S aureus</i>	30.31	6.79	4.0517	0.1317
23	80Ea	<i>R equi</i>	20.81	7.25	2.4683	0.2083
24	81H	<i>R equi</i>	21.80	6.68	2.6325	0.1133
25	81Ea	<i>P mosselii</i>	11.88	6.25	0.9792	0.0417
26	82H	<i>P acne</i>	11.85	6.91	0.9750	0.1517
		<i>R equi</i>	21.80	7.13	2.6325	0.1883
	83H	<i>E coli</i>	36.31	7.66	5.0517	0.2767
27		<i>P mosselii</i>	10.46	7.60	0.7442	0.2667
		<i>R equi</i>	21.80	6.92	2.6325	0.1533
28	83Ea	<i>S aureus</i>	27.50	6.59	3.5825	0.0983
		<i>E coli</i>	36.31	6.85	5.0517	0.1417
29	83Et	<i>R equi</i>	23.40	7.80	2.8992	0.3000
30	84H	<i>P acne</i>	11.85	6.87	0.9750	0.1450
		<i>R equi</i>	21.80	6.80	2.6325	0.1333
31	84A	<i>S aureus</i>	16.90	10.72	1.8175	0.7867
32	85H	<i>P acne</i>	21.04	6.41	2.5067	0.0683
		<i>R equi</i>	19.37	7.78	2.2283	0.2967
33	86H	<i>R equi</i>	19.37	6.81	2.2283	0.1350
34	87H	<i>R equi</i>	19.37	6.49	2.2283	0.0817
35	88H	<i>R equi</i>	19.37	6.66	2.2283	0.1100
36	88Et	<i>P acne</i>	24.78	8.39	3.1292	0.3983
37	88A	<i>P acne</i>	24.78	7.58	3.1292	0.2633

Tumbuhan memiliki kemampuan yang tidak terbatas dalam mensintesis senyawa aromatik. Golongan terbesar dari senyawa aromatik ini adalah fenol, mencapai hampir 12.000 jenis senyawa, kurang lebih 10% sudah diisolasi (Maddox, 2010). Pada beberapa kasus senyawa fenol, khususnya flavonoid, sangat terkait dengan pertahanan tumbuhan melawan predasi dari mikroorganisme, insekta dan herbivori. Walaupun demikian, kemungkinan metabolit sekunder lainnya, seperti terpenoid (minyak essensial), alkaloid, lektin dan polipeptida, memiliki potensi yang sama atau lebih kuat dalam hal kemampuan melawan predasi tersebut tetap ada.

Tabel 4.8. Golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri (Cowan, 1999)

Kelas	Subkelas	Contoh	Mekanisme
Fenolik	Fenol sederhana	Katekol epikatekin	Berikatan dengan substrat, merusak membran
	Asam fenolat	Asam sinamik	Berikatan dengan substrat, merusak membran
	Quinon	Hiperisin	Berikatan dengan adesin, berikatan dengan dinding sel, dan inaktivasi enzim
	Flavonoid	Krisia	Berikatan dengan adesin dan berikatan dengan dinding sel
	Flavon	Abisinon	inaktivasi enzim, dan menghambat enzim reverse transcriptase HIV
	Flavonol	Totarol	?
	Tannin	Elagitannin	Berikatan dengan protein, berikatan dengan adesin, menghambat kerja enzim, berikatan dengan substrat, berikatan dengan dinding sel, merusak membran, berikatan dengan ion metal
	Kumarin	Warfarin	Interaction with eucaryotic DNA (antiviral activity)
Terpenoids, essential oils		Capsaicin	Membrane disruption
Alkaloids		Berberine Piperine	Intercalate into cell wall and/or DNA

Lectins and polypeptides		Mannose-specific agglutinin, Fabatin	Block viral fusion or adsorption Form disulfide bridges
--------------------------	--	--------------------------------------	---

Secara sederhana, sampel yang menunjukkan reaksi positif pada uji kandungan fenolik (flavonoid dan tannin), alkaloid, terpenoid, hidrokuinon dari uji fitokimia simplisia dapat diasumsikan sebagai sampel yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba. Ekstrak kasar mengandung puluhan bahkan ratusan senyawa, senyawa paling potensial namun dalam jumlah sangat kecil atau adanya aktivitas antagonistik dapat menyebabkan aktivitas antibakterinya relatif kecil. Oleh karena itu, ekstrak yang menghasilkan zona hambat baik kecil maupun besar perlu dilanjutkan dengan proses fraksinasi dan isolasi yang idealnya dicapai senyawa murni.

Sebagai perbandingan juga dapat dilihat hasil uji skrining antibakteri pada penelitian pendahuluan, pada tabel dibawah berikut ini:

Tabel 4.9. Hasil Uji skrining antibakteri (penelitian pendahuluan)

Kons (%)	(+)		extraction						(-)
	tetra	chloram	<i>B. gymnorhiza</i> (eth)			<i>R. mucronata</i> (eth)			
	22.10	20.80	SA	EC	SE	SA	EC	SE	
0.40			9.32	6.20	6.59	6.57	6.36	6.88	
0.20			8.32	6.00	6.32	6.46	6.76	6.55	
0.10			8.08	6.00	6.16	6.00	6.00	6.00	
0.05			6.40	6.00	6.20	6.00	6.00	6.00	
									6.00

Keterangan: (+): control positif, (-): control negative, kons: konsentrasi, tetra: tetrasiklin, chloram: chloramphenicol, SA: *Streptococcus aureus*, EC: *Escherichia coli*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, eth: ethanol, dan DMSO: Dimetil Sulfoksid

Hasil dari penelitian pendahuluan ini menghasilkan dua tulisan, dan telah dipresentasikan pada 3rd International Conference on Biological Sciences and Biotechnology (ICBSB) di Medan pada tanggal 23 Agustus 2017 dan 5th Biotechnology Symposium di University Sabah Malaysia pada tanggal 27 November 2017. Kedua tulisan ini sudah dipublikasikan pada *IOP Conference Series of Earth Environmental Science Volume 130 012025* (2018) dan *the International Journal of Pharma and Bio Science* (In Press, 2018) secara berurutan.

Hasil positif palsu bisa didapati pada proses skrining, metode HTS mampu memverifikasi hal tersebut dan mengabaikannya. Karena uji yang dilakukan bersifat manual maka semua hasil positif baik palsu maupun asli tetap akan tercatat. Proses tersebut akan terverifikasi melalui fraksinasi dan isolasi senyawa tunggal dari ekstrak, yang dilanjutkan dengan proses skrining ulang. Jika mengalami kekurangan sampel, maka dilakukan rekoleksi dan ekstraksi difokuskan pada senyawa target atau dilakukan penyesuaian perlakuan (pelarut) spesifik sesuai senyawa target. Berikut disajikan pelarut yang disesuaikan dengan senyawa metabolit sekunder target.

Tabel 4.10 Pelarut untuk ekstraksi komponen aktif (Cowan, 1999)

Water	Etanol	Methanol	Kloroform	Diklorometanol	Eter	Aseton
Anthocyanins	Tannins	Anthocyanins	Terpenoids	Terpenoids	Alkaloids	Flavonols
Starches	Polyphenols	Terpenoids	Flavonoids		Terpenoids	
Tannins	Polyacetylenes	Saponins			Coumarins	
Saponins	Flavonol	Tannins			Fatty acids	
Terpenoids	Terpenoids	Xanthoxyllines				
Polypeptides	Sterols	Totarol				
Lectins	Alkaloids	Quassinoids				
	Propolis	Lactones				
		Flavones				
		Phenones				
		Polyphenols				

4.7. Pembentukan Konsorsium *extract library* Indonesia

Pembentukan konsorsium *extract library* diinisiasi dalam rangka dalam rangka sinkronisasi usaha dalam proses penemuan obat yang meliputi agen antibakteri, antikanker dan penyakit lainnya. Konsorsium ini penting untuk dibentuk agar kegiatan-kegiatan penelitian obat dari bahan alam yang selama ini dilakukan secara terpisah oleh masing-masing peneliti dapat lebih terorganisir, bersinergi dan menghindari tumpang tindih satu sama lain.

4.7.1. Penandatanganan Perjanjian Kerjasama Pembentukan Konsorsium Indonesia untuk *Extract Library Bahan Alam*

Pada tanggal 26 April 2018, telah dilaksanakan acara penandatanganan Perjanjian Kerjasama Pembentukan Konsorsium Indonesia untuk *Extract Library Bahan Alam (Indonesian Consortium on Natural Product Extract Library)* yang dilaksanakan bersamaan dengan kegiatan Seminar Nasional Herbal di Kampus Universitas Swiss German. Perjanjian kerjasama ini ditandatangani oleh perwakilan lima (5) lembaga, yaitu:

1. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Swiss German, berkedudukan di Prominence Tower, Jalan Jalur Sutera Barat Kav. 15, Alam Sutera, Tangerang, Banten 15143
2. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat cq Tropical Biopharmaca Research Center Institut Pertanian Bogor, berkedudukan di Kampus IPB Taman Kencana Jl Taman Kencana No 3, Bogor 16128
3. Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, berkedudukan di Gd. 452 Kawasan PUSPIPTEK Serpong, Tangerang Selatan, Banten 15314
4. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, berkedudukan di No. 01, Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro, Kp. Baru, Kedaton, Kota Bandar Lampung, Lampung 35141
5. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul, berkedudukan di Jl. Arjuna Utara No.9 Kebon Jeruk West Jakarta 11510

Naskah perjanjian kerjasama dan dokumentasi kegiatan ini dapat dilihat pada lampiran-lampiran laporan akhir ini.

Rencana jangka panjang yang dapat dicapai dengan terbentuknya konsorsium ini adalah tersedianya koleksi bersama ekstrak senyawa murni atau senyawa calon obat (*lead compounds*) dari alam untuk proses skrining, terbentuknya terbentuknya kerja sama antara peneliti, industri dan pemerintah. Dukungan industri dan pemerintah dapat berupa investasi dana yang mendukung terbentuknya pusat-pusat kecemerlangan (*centers of excellent*) dan melengkapi fasilitas-fasilitas yang dibutuhkan, seperti ruang penyimpanan simplisia atau ekstrak modern (*natural product library*) dan laboratorium modern. Dengan tersedianya fasilitas dan calon obat dalam jumlah besar (*extract library*), maka kita sebagai bangsa akan dapat melakukan proses penemuan obat sendiri dengan biaya yang relatif lebih murah dan waktu yang relatif lebih singkat.

Pembentukan *Centers of Excellent* diperlukan untuk mewadahi kegiatan-kegiatan penelitian dalam bidang yang serupa. Pusat-pusat ini selanjutnya dapat dijadikan sebagai rujukan dan koordinasi khusus untuk jenis penyakit tertentu, tempat penyimpanan ekstrak dan berbagai jenis kultur sel atau jaringan, peralatan penelitian dan fasilitas pendukung lainnya. Pusat-pusat kecemerlangan ini juga yang akan dijadikan sebagai pusat pembangunan kapasitas bagi para peneliti dan staf-staf lainnya melalui berbagai kegiatan pelatihan, kursus singkat, dan sertifikasi untuk kompetensi tertentu.

Ruang penyimpanan ekstrak merupakan salah satu komponen paling penting yang perlu disediakan terlebih jika jumlah koleksi ekstrak sudah mencapai ratusan ribu bahkan jutaan ekstrak. Penyimpanan ekstrak harus menjamin bahwa ekstrak yang ada dapat bertahan dalam kurun waktu tertentu. Karena itu selain pengembangan metode ekstraksi, pengembangan metode penyimpanan ekstrak pun menjadi sangat penting. Fasilitas lain yang perlu disediakan untuk menunjang kegiatan penemuan obat dari bahan alam ini adalah perlu tersedianya koleksi sel dan jaringan (*bio bank*) dari berbagai jenis organisme dari sel-sel mikroba sampai sel manusia. Ketersediaan *bio bank* ini sangat diperlukan agar memungkinkan untuk melakukan uji-uji biologi terhadap jenis penyakit tertentu.

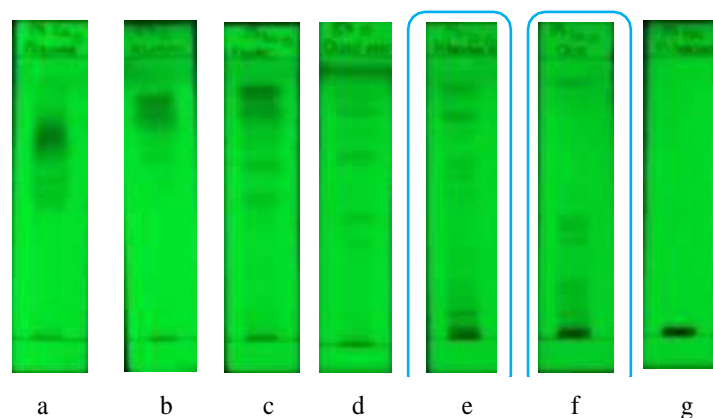
Fasilitas skrining dengan berbagai jenis peralatan dari mulai yang paling sederhana sampai dengan *high end* instrument perlu disediakan untuk melakukan proses penemuan obat dari bahan alam ini. Berbagai jenis strategi *screening* diantaranya adalah *high throughput*, *focused screen*, *fragment screen*, *structural aided drug design*, *virtual screen*, *physiological screen*, dan *NMR screen* (Hughes et al., 2011). Metode HTS khususnya, adalah salah satu metode yang terkini dalam penemuan obat yang sepanjang pengetahuan penulis, belum diperkenalkan di Indonesia. Metode

HTS memungkinkan untuk melakukan skrining bahan potensi obat sampai sebanyak 100000 per hari. Metode ini akan menjadi sangat unggul jika dikombinasikan dengan teknik komputasi biologi melalui *virtual screening* untuk mengurangi jumlah senyawa yang harus disaring.

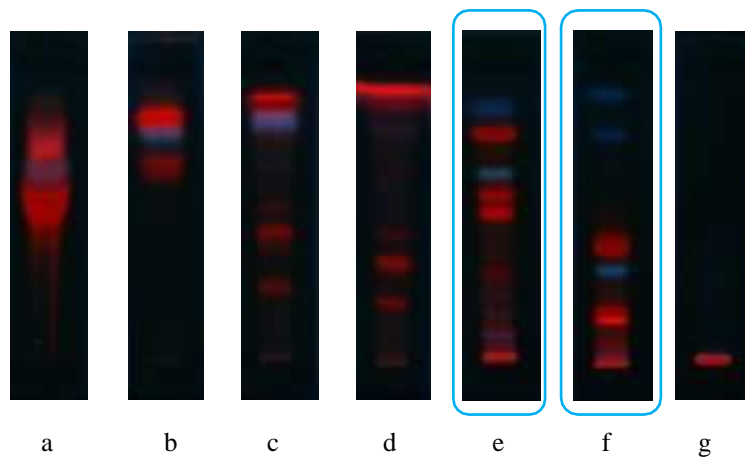
Pusat informasi data merupakan komponen lain yang sangat penting yang diperlukan untuk penyimpan dan pengolahan berbagai informasi yang terkait dengan ketersediaan simpanan ekstrak, pemanfaatan, dan pengawasan lalu lintas ekstrak. Pengawasan lalu lintas atau pendistribusian ekstrak menjadi sangat penting jika dikaitkan dengan isu keselamatan biologi (*biosafety*) dan keamanan biologi (*biosecurity*).

4.8. Penentuan Eluen terbaik sampel terpilih untuk fraksinasi

Pada tahun pertama telah dilakukan kegiatan ekstraksi dari 16 contoh mangrove dan telah diujikan baik sebagai antibakteri maupun antikanker. Dari hasil uji-uji tersebut, terpilih tiga ekstrak terbaik berdasarkan beberapa pertimbangan dan alasan praktis. Ekstrak etil asetat Akar *B. Gymnorrhiza* (77Ea) sebagai antibakteri, ekstrak etil asetat *A. marina* (85Ea) dan daun *X. Granatum* (86Ea) sebagai antikanker. Ketiga ekstrak tersebut dicari eluen terbaiknya yang kemudian akan digunakan sebagai fase gerak pada fraksinasi menggunakan kromatografi kolom. Penentuan eluen terbaik diawali dengan menggunakan eluen tunggal dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Kromatogram dari eluen tunggal dibandingkan kemudian dipilih 2 eluen yang menunjukkan pita terbanyak dan terpisah.

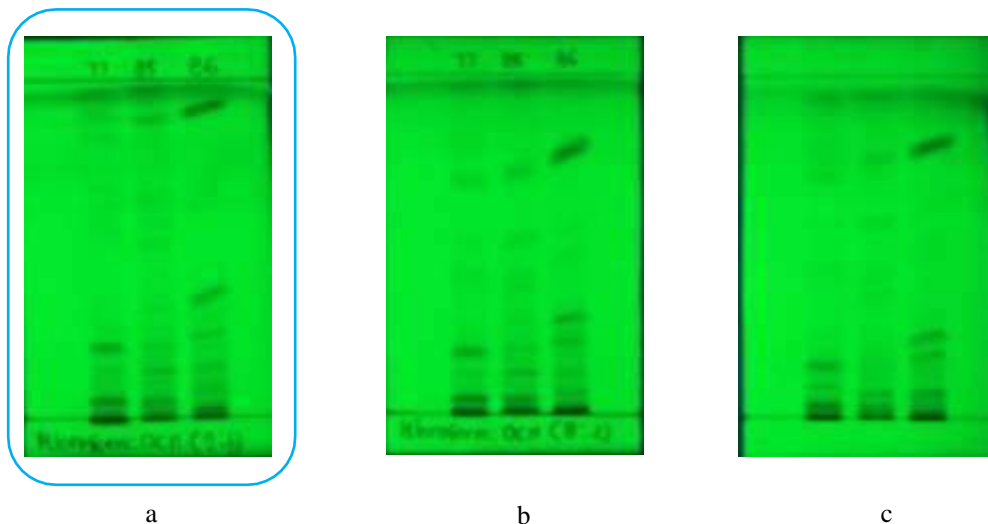


Gambar 4.2. Kromatogram fraksi etil asetat daun *Avicennia marina*. Fase gerak: (a) metanol, (b) aseton, (c) etil asetat, (d) dietil eter, (e) kloroform, (f) diklorometana, (g) *n*-heksana. Dokumentasi: UV 254 nm

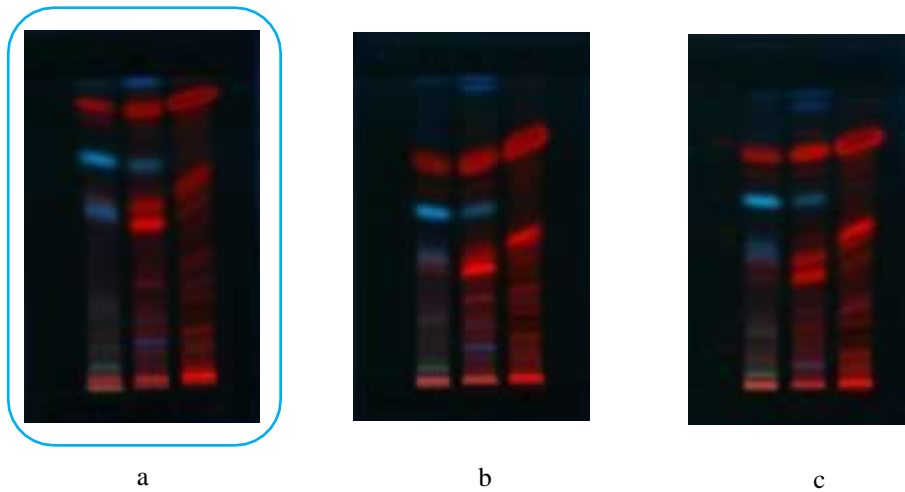


Gambar 4.3. Kromatogram fraksi etil asetat daun *Avicennia marina*. Fase gerak: (a) metanol, (b) aseton, (c) etil asetat, (d) dietil eter, (e) kloroform, (f) diklorometana, (g) *n*-heksana. Dokumentasi: UV 366 nm

Dari kromatogram yang dihasilkan (Gambar 4.1 dan 4.2) terlihat bahwa kloroform dan diklorometana menunjukkan jumlah pita terbanyak dan memiliki keterpisahan yang baik. Dua eluen tersebut dimodifikasi dengan cara dicampurkan dengan beberapa perbandingan. Dilakukan pencampuran eluen kloroform:diklorometana dengan perbandingan 5:5 (v/v), 7:3 (v/v), dan 9:1 (v/v). Kromatogram yang dihasilkan menunjukkan bahwa perbandingan 9:1 (v/v) memiliki keterpisahan paling baik. Dari hasil tersebut dapat diduga bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam ketiga ekstrak bersifat semi polar.

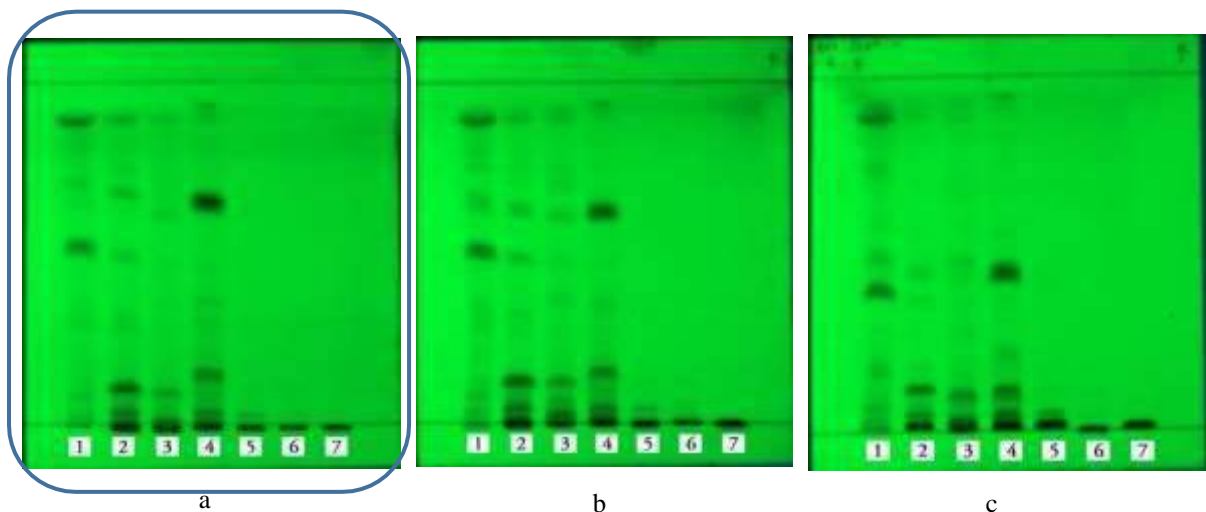


Gambar 4.4. Kromatogram fraksi etil asetat akar *Xylocarpus granatum*, daun *Xylocarpus granatum*, dan *Avicennia marina*. Fase gerak: Kloroform:Diklorometana (v/v) dengan perbandingan (a) 9:1, (b) 8:2, dan (c) 7:3. Dokumentasi: UV 254 nm

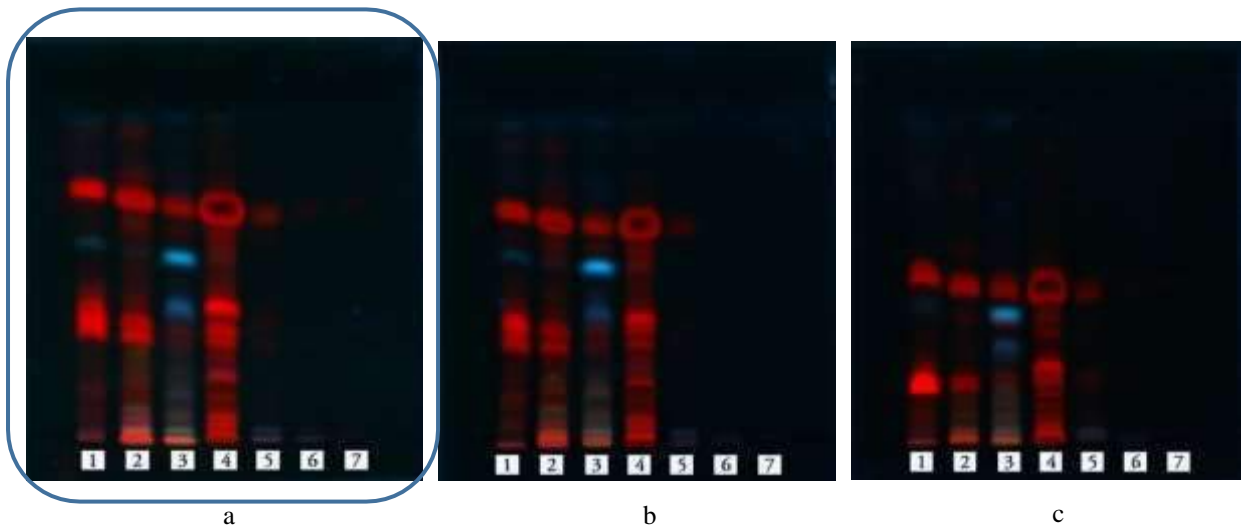


Gambar 4.5. Kromatogram fraksi etil asetat akar *Xylocarpus granatum*, daun *Xylocarpus granatum*, dan *Avicennia marina*. Fase gerak: Kloroform:Diklorometana (v/v) dengan perbandingan (a) 9:1, (b) 8:2, dan (c) 7:3. Dokumentasi: UV 366 nm

Selain tiga ekstrak utama yang akan diteliti lebih lanjut, hasil dari penelitian pada tahun pertama, menunjukkan beberapa ekstrak yang memiliki aktivitas yang baik pada antibakteri dan antikanker, yaitu 77Et, 77A, 84Et, 85H, 86H, 86Et, 86A, 87A, 88H, 88Et, dan 88A. Total ada 11 ekstrak yang kemudian ditentukan juga eluen terbaiknya untuk kemudian dapat digunakan lebih lanjut. Keberagaman pelarut dari ekstrak tersebut, kemudian dibagi menjadi kelompok polar dan non-polar untuk memudahkan dalam menentukan eluen terbaik. Dari hasil sebelumnya yang menunjukkan bahwa kloroform:diklorometana 9:1 (v/v) adalah eluen terbaik maka eluen itu dicoba juga untuk beberapa ekstrak pada Gambar 4.5

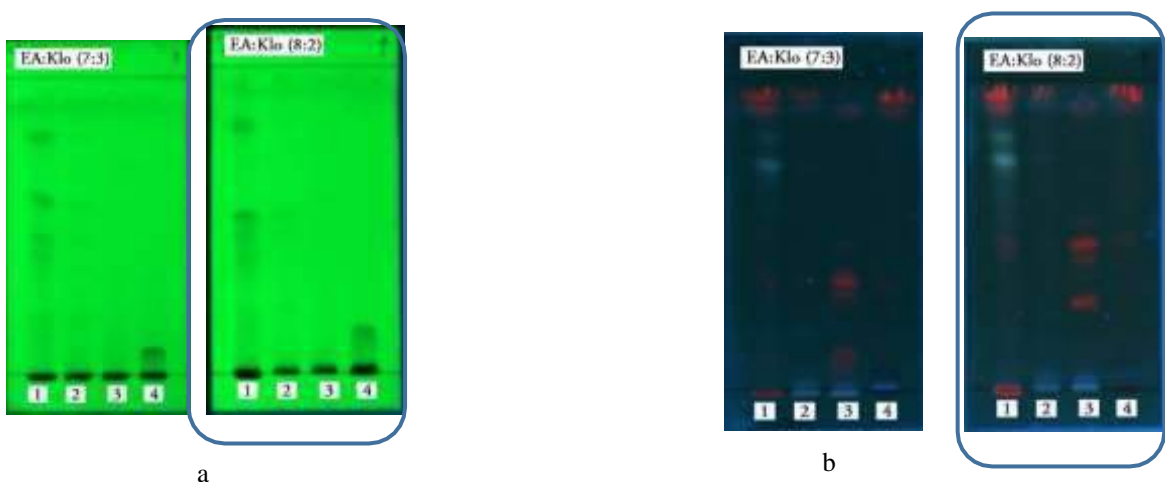


Gambar 4.6. Kromatogram (1) 74 H, (2) 74 EA, (3) 77 EA, (4) 86 EA, (5) 74 ET, (6) 74 A, (7) 88 A. Fase gerak: Kloroform:Diklorometana (v/v) dengan perbandingan (a) 9:1, (b) 8:2, dan (c) 7:3. Dokumentasi: UV 254 nm



Gambar 4.7. Kromatogram (1) 74 H, (2) 74 EA, (3) 77 EA, (4) 86 EA, (5) 74 ET, (6) 74 A, (7) 88 A. Fase gerak: Kloroform:Diklorometana (v/v) dengan perbandingan (a) 9:1, (b) 8:2, dan (c) 7:3. Dokumentasi: UV 366 nm

Kromatogram pada Gambar 4.5 dan 4.6 menunjukkan bahwa eluen kloroform:diklorometana 9:1 (v/v) memiliki keterpisahan yang lebih baik dibanding dengan perbandingan yang lain. Namun, untuk ekstrak yang bersifat polar, yaitu pita 5, 6, dan 7 tidak menunjukkan adanya pita yang terbentuk. Sehingga dilakukan optimasi kembali untuk ekstrak-ekstrak yang bersifat polar. Dari berbagai macam eluen yang dicoba kemudian diperoleh 2 perbandingan yang menunjukkan terbentuknya pita dan memiliki keterpisahan yang cukup baik, yaitu etil asetat:kloroform 7:3 (v/v) dan 8:2 (v/v).

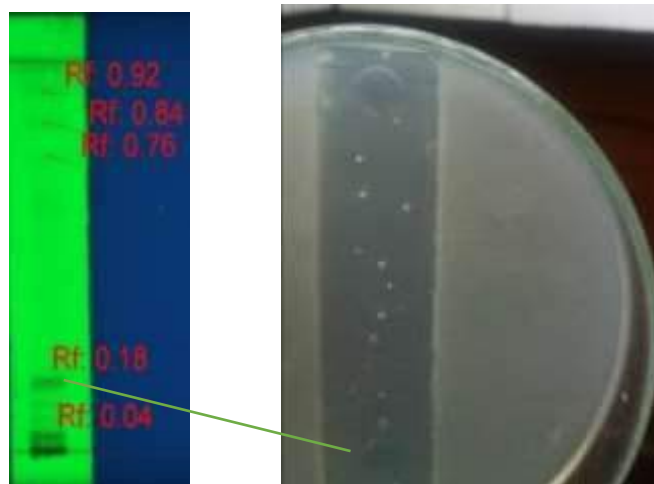


Gambar 4.8. Kromatogram (1) 74Et, (2) 74A, (3) 88A, (4) 84A. Fase gerak: Etil asetat:kloroform (v/v) dengan perbandingan 7:3 dan 8:2. Dokumentasi: (a) UV 254 nm, (b) UV 366 nm.

Kromatogram yang dihasilkan menunjukkan bahwa perbandingan 8:2 (v/v) memperlihatkan pita-pita yang lebih jelas daripada perbandingan 7:3. Namun, masih perlu dilakukan optimasi lebih lanjut untuk mendapatkan eluen yang lebih baik.

4.9. KLT bioautografi kontak antibakteri

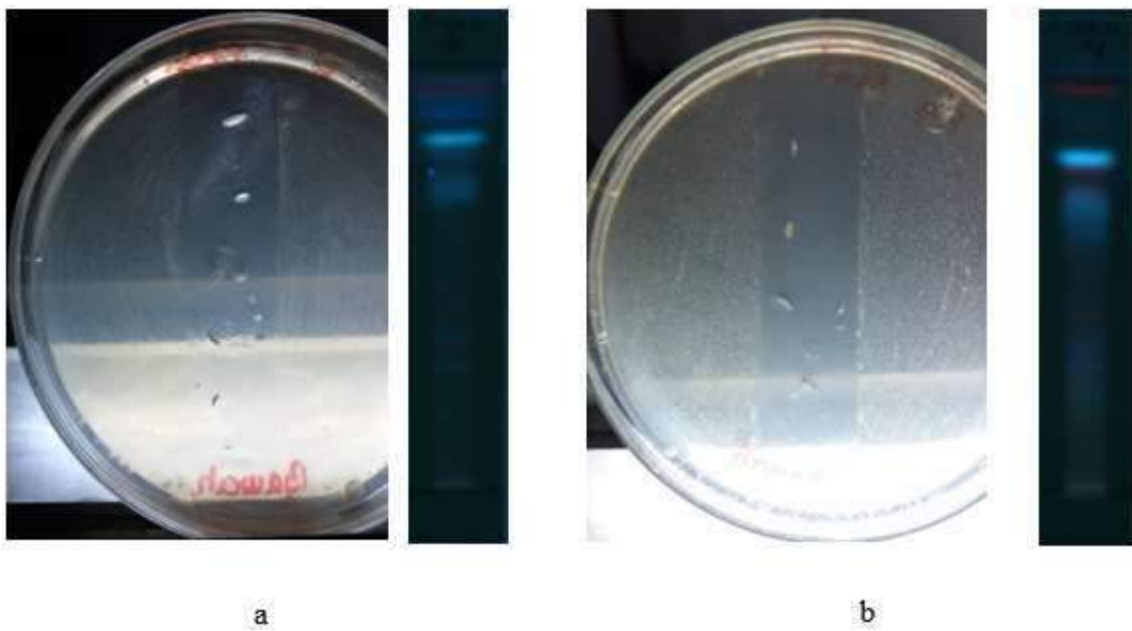
KLT bioautografi antibakteri digunakan untuk mengetahui pita yang aktif sebagai antioksidan sebelum dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom. Hasil KLT bioautografi dapat dijadikan petunjuk fraksi aktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Umumnya, KLT bioautografi antibakteri digunakan untuk mengetahui pita (Rf) yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri. Metode ini relatif cepat, mudah dilakukan, dan hemat dalam penggunaan ekstrak. KLT bioautografi dilakukan dengan menempelkan pelat KLT yang sudah dielusi di atas medium suspensi bakteri. KLT dibiarkan selama 24 jam agar terjadi difusi komponen kimia ke dalam media (Yulianty et al., 2011). Adanya aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening spesifik pada pita dengan nilai Rf tertentu.



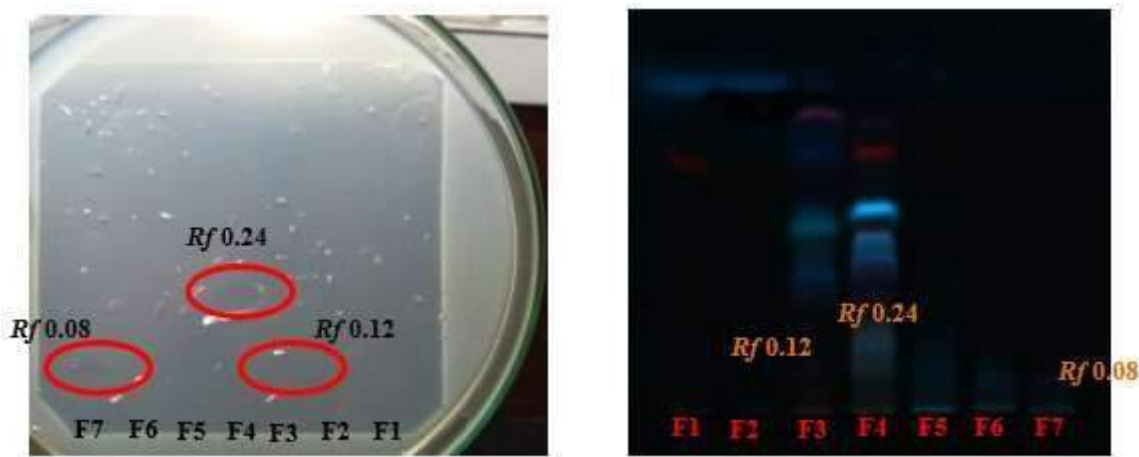
Gambar 4.9. KLT bioautogram kontak fraksi etil asetat akar *Xylocarpus granatum* terhadap *E. Coli* dan dengan informasi nilai Rf dibawah sinar UV 254 nm.

Bioautogram menunjukkan ada 1 zona penghambatan pada fraksi etil asetat akar *Xylocarpus granatum* terhadap *E. Coli*. Zona penghambatan tersebut terdapat pada Rf 0.18 (Gambar Hasil 4.9). Nilai Rf pada pita tersebut dijadikan sebagai acuan untuk isolasi senyawa aktif antibakteri. Proses isolasi dilakukan dengan cara fraksinasi menggunakan kromatografi kolom lalu dilanjutkan pemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis preparative (KLTP).

Selain itu, berdasarkan hasil uji KLT bioautografi kontak terhadap fraksi 3 dan 4 dari ekstrak etil asetat akar *B. gymnorrhiza*, fraksi 3 dan 4 setelah diuji kembali tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini ditandai dengan tidak munculnya zona atau daerah bening spesifik pita (*Rf*) pada media berisi inokulan bakteri yang ditempelkan dengan pelat KLT (Gambar 4.10). Sedangkan, hasil uji KLT bioautografi kontak pada fraksi 3 dan 4 sebelumnya memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya daerah bening spesifik pita (*Rf*) pada media (Gambar 4.11).



Gambar 4.10. KLT bioautogram kontak (a) fraksi 3 dan (b) fraksi 4 terhadap *E. coli* dan dengan kromatogram KLT dibawah sinar UV 366 nm.



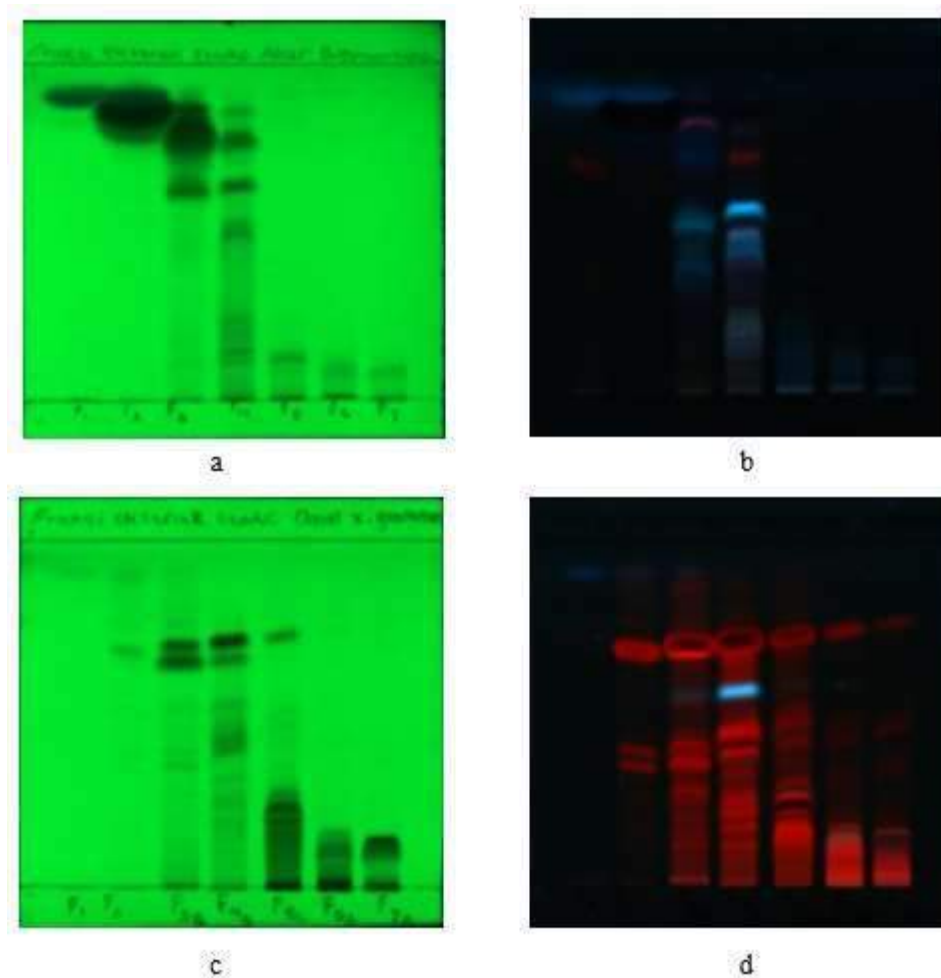
Gambar 4.11. KLT bioautogram kontak fraksi 1-7 terhadap *E. coli* dan dengan kromatogram KLT dibawah sinar UV 366 nm.

Dari hasil uji stabilitas pada fraksi 3 dan 4 etil asetat akar *B. gymnhorhiza* didapatkan penurunan kestabilan aktifitas pada senyawa kimia yang bermanfaat sebagai senyawa antibakteri. Hal ini

dibuktikan dengan tidak munculnya zona atau daerah bening spesifik pita (R_f) pada media berisi inokulan bakteri yang ditempelkan dengan pelat KLT dibandingkan dengan hasil uji antibakteri sebelumnya pada fraksi 3 dan 4 etil asetat akar *B. gymnorhiza*. Penyebab terjadinya hal ini dapat dikarenakan oleh lama penyimpanan sampel, pengaruh cahaya, oksigen, dan kondisi kelembapan saat proses pengerjaan sampel (Ali *et al.*, 2018). Senyawa fenolik dapat digolongkan sebagai senyawa yang tidak stabil dan dapat hilang saat proses pengerjaan sampel, khususnya ketika ada pengaruh suhu panas (Srivastava *et al.*, 2007).

4.10 Fraksinasi menggunakan kromatografi kolom

Fraksinasi dilakukan dengan kromatografi kolom. Tujuan fraksinasi ini adalah untuk memisahkan komponen senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak etil asetat akar *B. gymnorhiza* dan daun *X. granatum*. Hasil pengecekan eluat menggunakan KLT menunjukkan adanya 7 fraksi untuk ekstrak etil asetat akar *B. gymnorhiza* dan 7 fraksi untuk ekstrak etil asetat daun *X. granatum* (Gambar 4.12).



Gambar 4.12 Kromatogram fraksi ke-1 sampai dengan ke-7 (a) dan (b) fraksi ekstrak etil asetat akar *B. gymnorhiza* dengan (c) dan (d) fraksi ekstrak etil asetat daun *X. granatum*. Fase gerak: kloroform:diklorometana 9:1 (v/v). Dokumentasi: sinar UV 254 nm kiri, dan UV 366 nm kanan.

Pola KLT yang terbentuk menunjukkan pola pita yang berbeda pada pengamatan UV 254 nm dan 366 nm. Selain itu, warna pita yang berbeda pada pengamatan UV 366 nm mengindikasikan senyawa yang berbeda. Menurut Markham (1998), adanya warna biru menunjukkan adanya senyawa flavon, flavonon, atau flavonol, merah senyawa antosianidin, dan kehijauan senyawa auron. Rendemen yang diperoleh dari masing-masing fraksi ditunjukkan pada tabel 4.11.

Tabel 4.11 Rendemen fraksi *B. gymnorrhiza* dan *X. granatum*

<i>B. gymnorrhiza</i>		<i>X. granatum</i>	
Fraksi	Rendemen (%)	Fraksi	Rendemen (%)
Fraksi 1	5.2150	Fraksi 1	3.0392
Fraksi 2	23.7845	Fraksi 2	8.1778
Fraksi 3	4.4817	Fraksi 3	6.6200
Fraksi 4	12.6754	Fraksi 4	11.7102
Fraksi 5	1.2675	Fraksi 5	17.0688
Fraksi 6	1.8742	Fraksi 6	3.5591
Fraksi 7	0.0272	Fraksi 7	6.2317

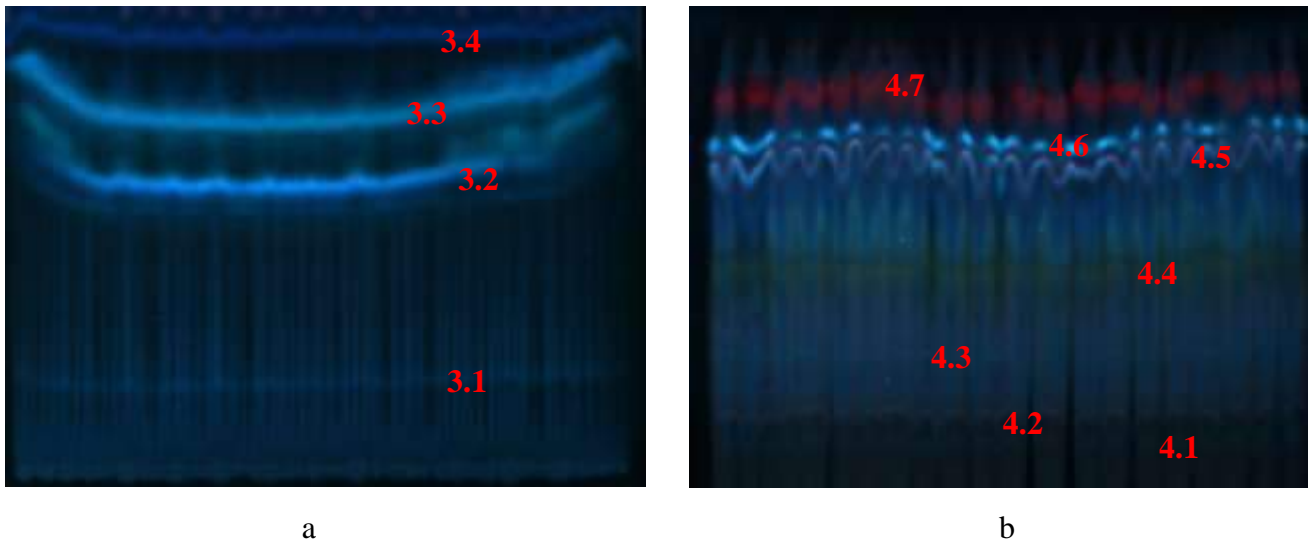
4.11. Pemurnian Fraksi Aktif sebagai Antibakteri

Sebelum dilakukan pemurnian untuk fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri, semua fraksi ekstrak etil asetat akar *B. gymnorrhiza* hasil dari fraksinasi dengan kromatografi kolom diuji aktivitas antibakterinya menggunakan KLT-bioautografi kontak untuk memilih fraksi yang aktif sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu fraksi 3, 4, dan 7 ditandai dengan munculnya zona atau daerah bening spesifik pada pita (R_f). Fraksi 3 memiliki 1 zona hambat pada R_f 0.12, fraksi 4 memiliki 1 zona hambat pada R_f 0.24, dan fraksi 7 memiliki 1 zona hambat pada R_f 0.08 (Gambar 4.13).



Gambar 4.13 KLT bioautogram kontak fraksi 1-7 hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom terhadap *E. coli* dan dengan informasi nilai R_f di bawah sinar UV 254 nm.

Berdasarkan hasil pengujian antibakteri terhadap *E. coli*, fraksi 3 dan 4 (Gambar 4.14) dipilih untuk dipisahkan lebih lanjut agar diperoleh senyawa murni dengan KLTP menggunakan fase gerak kloroform:diklorometana (9:1) v/v. Fraksi 3 dan 4 dipilih untuk dipisahkan lebih lanjut karena memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan hasil uji KLT bioautografi antibakteri dan memiliki bobot yang cukup banyak yaitu 0.0495 g dan 0.1400 g.



Gambar 4.14 Kromatogram KLTP (a) fraksi 3 dan (b) fraksi 4 di bawah sinar UV 366 nm

Pada fraksi 3, fraksi 3.1 memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan hasil uji KLT-bioautografi kontak sebelumnya begitupun pada fraksi 4, fraksi 4.3 memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan hasil uji KLT-bioautografi kontak sebelumnya. Oleh karena itu, fraksi 3.1 dan 4.3 dipilih untuk dianalisis lebih lanjut (Gambar 4.14).

BAB V

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

5.1 Kesimpulan

1. Dari hasil penelitian sampai dengan tahun kedua ini, protokol pembuatan extract library sudah disusun. Protokol pembentukan *extract library* sangat penting untuk disusun demi tercapainya penelitian yang berkesinambungan, menghindari tumpang tindihnya penelitian dan dicapainya hasil yang diharapkan dalam hal proses penemuan obat. Protokol tersebut meliputi metode sampling (data lokasi, fisik, kimia, khasiat, populasi koleksi), metode preparasi simplisia (penyimpanan, pengeringan, dan penggilingan), metode preparasi ekstraksi (penyimpanan dan coding simplisia), metode ekstraksi dan penyimpanan ekstraksi, fraksinasi dan uji aktifitas.
2. Proses skrining potensi antibakteri dan antikanker dari ekstrak library mangrove menunjukkan bahwa beberapa fraksi ekstrak memiliki aktivitas tersebut. Hal ini membuktikan bahwa kekayaan alam sangat berkorelasi dengan kekayaan senyawa aktif yang sangat potensial sebagai calon obat. Untuk mendapatkan calon obat yang teruji aktivitas biologi dan keamanannya bukan proses yang mudah, namun pembentukan prototype extract library dari mangrove mungkin bisa jadi salah satu jalan pembuka terbentuknya extract library lainnya sehingga potensi senyawa aktif dari biodiversitas Indonesia tergali dan dimanfaatkan secara optimal menuju kemandirian bahan obat.
3. Kerjasama antara peneliti, industri dan pemerintah akan sangat mendukung terbentuknya pusat-pusat kecemerlangan (*centers of excellent*) dan melengkapi fasilitas-fasilitas yang dibutuhkan, seperti ruang penyimpanan simplisia atau ekstrak modern (*natural product library*) dan laboratorium modern. Dengan tersedianya fasilitas dan calon obat dalam jumlah besar (*extract library*), maka kita sebagai bangsa akan dapat melakukan proses penemuan obat sendiri dengan biaya yang relatif lebih murah dan waktu yang relatif lebih singkat. Bentuk kerjasama yang telah dilakukan dari hasil penelitian ini adalah berupa: 1. Pembentukan Konsorsium Indonesia untuk Extract Library Bahan Alam oleh lima institusi di Indonesia; 2. Kerjasama penelitian internasional dengan UMS Sabah dengan diberikannya dana penelitian bersama (*matching grant*) oleh UMS Sabah untuk uji anti tuberculosis dan demam berdarah dengue menggunakan extract library dari hasil penelitian ini.

5.2. Rekomendasi

Penyimpanan dan penggunaan sampel sebaiknya dilakukan saat kondisi optimum pada sampel. Hal ini dapat mencegah terjadinya penurunan kadar senyawa kimia yang terkandung dalam sampel serta menjaga kestabilan senyawa agar hasil pengujian lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Y., Sohrab, H., Al-Reza, S.M., Shahidulla Tareq, F., Hasan, C.M., Sattar, M.A., 2010. Antimicrobial and cytotoxic constituents from leaves of *Sapium baccatum*. *Food Chem Tox.* 48, 549-552.
- Ali, A.; Chong, C.H.; Mah, S.H.; Abdullah, L.C.; Choong, T.S.Y.; Chua, B.L. Impact of Storage Conditions on the Stability of Predominant Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of Dried *Piper betle* Extracts. *Molecules* **2018**, 23, 484.
- Anuradha Roy, Peter R. McDonald, Sitta Sittampalam, and Rathnam Chaguturu, 2010. Open Access High Throughput Drug Discovery in the Public Domain: A Mount Everest in the Making. *Curr Pharm Biotechnol.* 11(7): 764–778.
- Arslanyolu, M., Erdemgil, F. Z., 2006. Evaluation of the antibacterial activity and toxicity of isolated arctiin from the seeds of *Centaurea sclerolepis*. *J Fac Pharm.* 35, 103-109.
- Atanasov et al., 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances* 33 (2015) 1582–1614.
- Audah, K.A. Proceedings of the International Conference on Innovation, Entrepreneurship and Technology, 25-26 November 2015, BSD City, Indonesia, ISSN: 2477-1538.
- Ayoola et al., 2008. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, September 2008; 7 (3): 1019-1024
- Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK, 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2016) 71–79.
- Balunas MJ and Kinghorn AD, 2005. Drug discovery from medicinal plants. *ife Sciences* 78 (2005) 431 – 441.
- Bandaranayake, W.M. 2002. Bioactive compounds and Chemicals Constituents of Mangrove Plants, *Wetland Ecology and Management*, 10:421-452.
- Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahminiwati M, Djauhari E. 2010. Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *Journal of Biological Science.* 10(2):138144.
- Batubara I, Mitsunaga T. 2013. Use of Indonesian Medicinal Plant Products against Acne. *Reviews in Agricultural Science* Vol 1:11-30.
- Butler MS (2005) *Nat Prod Rep* 22:162
- Butler, M.S., 2004. The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products* 67 (12), 2141– 2153.
- Cowan MM, 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, p. 564±582
- Cragg, G.M., Newman, D.J., 2004. A tale of two tumor targets: topoisomerase I and tubulin. The Wall and Wani contribution to cancer chemotherapy. *Journal of Natural Products* 67 (2), 232–244.
- Dandapani S, Rosse G, Southall N, Salvino JM, Thomas CJ, 2012. Selecting, Acquiring, and Using Small Molecule Libraries for High-Throughput Screening. *Curr Protoc Chem Biol.* 2012 ; 4: 177–191. doi:10.1002/9780470559277.ch110252.

- de-Faria et al. (2012). Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *Rhizophora mangle* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(1), 234-43.
- Demain AL, Vaishnav P, 2011. Natural products for cancer chemotherapy. *Microbial Biotechnology* (2011) 4(6), 687–699.
- Dickson, M., Gagnon, J.P., 2004. Key factors in the rising cost of new drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (5), 417–429.
- Do, Q.T., Bernard, P., 2004. Pharmacognosy and reverse pharmacognosy: a new concept for accelerating natural drug discovery. *IDrugs* 7 (11), 1017– 1027.
- Farnsworth, N.R., Soejarto, D.D. Global importance of medicinal plants, in: Akerele, O., Heywood, V., Synge, H., 2009. *Conservation of medicinal plants*, first ed. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 25-52.
- Frantz, S., 2005. 2004 approvals: the demise of the blockbuster? *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (2), 93– 94.
- Frantz, S., Smith, A., 2003. New drug approvals for 2002. *Nature Reviews Drug Discovery* 2 (2), 95– 96.
- Ganesan, A., 2004. Natural products as a hunting ground for combinatorial chemistry. *Current Opinion in Biotechnology* 15 (6), 584– 590.
- Giri et al. (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), 154–159.
- Graul, A.I., 2001. The year's new drugs. *Drug News and Perspectives* 14 (1), 12–31.
- Gryniewicz G, Achmatowicz O, Pucko W (2000) *Herba Pol* 46:151
- Guo Z, 2017. The modification of natural products for medical use. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2017;7(2):119–136
- Gurudeeban et al. (2012). Antidiabetic effect of a black mangrove species *Aegiceras corniculatum* in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Advance Pharmaceutical Technology and Research*, 3(1), 52–56.
- Harvey, AL: *Natural Products in Drug Discovery*. *Drug Discovery Today*, 13:894-901.
- Hassig, C.A., et al. 2014. Ultra-High-Throughput Screening of Natural Product Extracts to Identify Proapoptotic Inhibitors of Bcl-2 Family Proteins, *Journal of Biomolecular Screening*, 19(8):1201-1211.
- Islam et al. (2012). Antinociceptive activity of methanolic extract of *Acanthus ilicifolius* Linn. Leaves. *Turkish Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 9(1), 51-60
- JP Hughes, S Rees, SB Kalindjian, KL Philpott, 2010. Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology* (2011) 162 1239–1249
- Juyal D, Thawani V, Thaledi S, Joshi M, 2014. Ethnomedical Properties of *Taxus Wallichiana* Zucc. (Himalayan Yew). *J Tradit Complement Med*. 2014 Jul-Sep; 4(3): 159–161.
- Katiyar C, Gupta A, Kanjilal S, Katiyar S, 2012. Drug discovery from plant sources: An integrated approach. *Ayu*. 2012 Jan-Mar; 33(1): 10–19.
- Kazanietz, MG (2005) *Biochim Biophys Acta* 1754:296
- Koehn, F.E., Carter, G.T., 2005. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (3), 206– 220.

- Kramer, R., Cohen, D., 2004. Functional genomics to new drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (11), 965–972.
- Li, JW, Vederas JC. 2008. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? *Science* 2009, 325:161-165.
- Liem et al. (2013). Isolasi Senyawa Saponin dari Mangrove Tanjung (*Bruguiera gymnorrhiza*) dan Pemanfaatannya sebagai Pestisida Nabati pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua*, 5(1), 29–36.
- Liu, 2008. Preparation of Botanical Samples for Biomedical Research. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 8(2): 112–121.
- Lotsch, J., Geisslinger, G., 2001. Morphine-6-glucuronide: an analgesic of the future? *Clinical Pharmacokinetics* 40 (7), 485–499.
- Maddox CE, Laur LM, Tian Li. 2010. Antibacterial Activity of Phenolic Compounds Against the Phytopathogen *Xylella fastidiosa*. *Curr Microbiol* (2010) 60:53–58.
- Mann J (2000) *Murder, Magic and Medicine*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford, UK
- Mayorga, P., Pérez, K.R., Cruz, S.M., Cáceres, A., 2010. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. *Bras J Pharm*. 20, 897-903.
- Mittermeier RA, Gil PR, Hoffman M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J, da Fonseca GAB, Seligmann PA, Ford H. 2005. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Conservation International, New York.
- Mouafi et al. (2014). Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Mangrove Leaves (*Avicenna marina* and *Rhizophora stylosa*) Against Some Pathogens. *World Applied Sciences Journal*, 29(4), 547-554.
- Newman, D.J., and Cragg, G.M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010, *Journal of Natural Products*, 75(3):311-335.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Journal of Natural Products* 66 (7), 1022–1037.
- Newman, D.J., Cragg, G.M., Sneader, K.M., 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports* 17 (3), 215–234.
- Ochoa-Villarreal M, Howat S, Hong SM, Jang MO, Jin YW, Lee EK, Loake GJ, 2016. Plant cell culture strategies for the production of natural products. *BMB Rep*. 2016; 49(3): 149-158.
- Okouneva, T., Hill, B.T., Wilson, L., Jordan, M.A., 2003. The effects of vinflunine, vinorelbine, and vinblastine on centromere dynamics. *Molecular Cancer Therapeutics* 2 (5), 427–436.
- Pereira and Williams, 2007. Origin and evolution of high throughput screening. *British Journal of Pharmacology* (2007) 152, 53–61.
- Pirttila, T., Wilcock, G., Truyen, L., Damaraju, C.V., 2004. Long-term efficacy and safety of galantamine in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: multicenter trial. *European Journal of Neurology* 11(11), 734–741.
- Quinn, 2012 in *Chemical Genomics*, Edited by Haiyan Fu, Emory University School of Medicine CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 2012
- Rege, A.A., dan Chowdhary A. S. (2013). Evaluation of Mangrove Plants As Putative Hiv-Protease Inhibitors. *Indian Drugs*, 50(7), 41

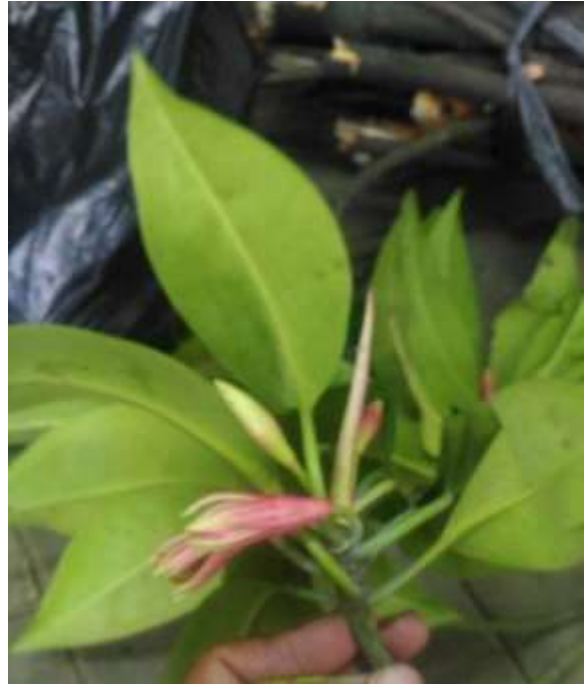
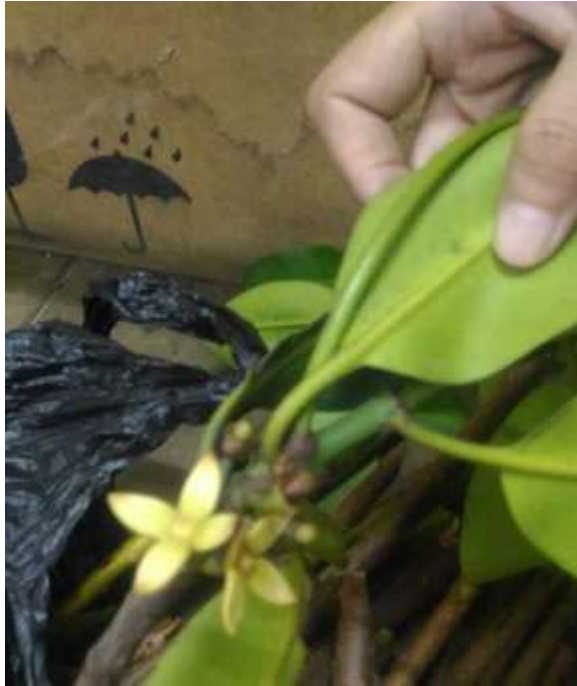
- Rohaeti et al. 2010. *Potensi ekstrak Rhizophora sp. sebagai inhibitor tirosinase*. Bogor: Prosiding Seminar Nasional Sains III.
- Safari et al. (2016) Antipyretic, Antiinflammatory and Antinociceptive Activities of Aqueous Bark Extract of *Acacia Nilotica* (L.) Delile in Albino Mice. *Journal of Pain Management & Medicine*, 2, 113.
- Salim et al, 2008, in Ramawat KG, Mérillon JM (eds.), In: Bioactive Molecules and Medicinal Plants Chapter DOI: 10.1007 / 978-3-540-74603-4_1, © Springer 2008
- Samuelsson G (2004) *Drugs of Natural Origin*, 5th edn, Apotekarsocieteten, Stockholm
- Singh, C.R., dan Kathiresan, K. (2015). Effect of cigarette smoking on human health and promising remedy by mangroves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(2), 162–167.
- Sneader W (2005) *Drug Discovery: a History*, Wiley, Chichester, UK
- Srivastava, A., Akoh, C.C., Yi, W., Fischer, J., Krewer, G. Effect of Storage Conditions on the Biological Activity of Phenolic Compounds of Blueberry Extract Packed in Glass Bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007 55 (7), 2705-2713.
- Sulasmi ES, Indriwati SE, Suarsini E, 2016. Preparation of Various Type of Medicinal Plants Simplicia as Material of Jamu Herbal. INTERNATIONAL CONFERENCE ON EDUCATION 2016, p1014-1024.
- Sutarno dan Setiawan, 2015. Indonesia's biodiversity: the loss and management efforts to ensure the sovereignty of the nation. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. 1(1):1-13.
- Tambe, V.D., dan Bhambar, R.S. (2016). Studies on Diuretics and Laxative Activity of the *Hibiscus Tiliaceus* Linn. Bark Extracts. *International Journal of PharmTech Research*, 9(3), 305-310.
- Tan, D.S., 2004. Current progress in natural product-like libraries for discovery screening. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* 7 (7), 631–643.
- Tanvira, P., dan Seenivasan, R. (2014). Targeting Mangrove Species as an Alternative for Snake Bite Envenomation Therapy with Special Reference to Phospholipase A2 Inhibitory Activity: A Mini Review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical. Sciences*, 5(2), 1724-31
- Tiwari et al., 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *INTERNATIONALE PHARMACEUTICA SCIENCIA* 1(1): 98-106.
- Walters WP, Namchuk M (2003) *Nature Rev Drug Discov* 2:259
- WHO, 2005. WHO guidelines for sampling of pharmaceutical products and related materials. WHO Technical Report Series, No. 929, 2005.
- Yi et al. (2015). Four New Cyclohexylideneacetonitrile Derivatives from the Hypocotyl of Mangrove (*Bruguiera gymnorhiza*). *Molecules*. 20(8), 14565-75.
- Yu, D., Suzuki, M., Xie, L., Morris-Natschke, S.L., Lee, K.H., 2003. Recent progress in the development of coumarin derivatives as potent anti-HIV agents. *Medical Research Reviews* 23 (3), 322– 345.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan sampling



Lampiran 2. Dokumentasi kegiatan preparasi simplisia



Lampiran 3. Bukti identifikasi tumbuhan mangrove dari LIPI Botani Cibinong, Bogor



(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)
Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website: www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 28 Juli 2016

Nomor : 1699/IPH.1.01/II.07/VII/2016
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Kholis A. Audah, PhD**
Swiss German University - ASIA

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Sampel 1	<i>Rhizophora mucronata</i> Lam.	Rhizophoraceae
2	Sampel 2	Tidak Teridentifikasi	Rhizophoraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepada Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
Dr. Jooni Setiio Rahajoe
NIP. 196706241993032004

Note : - Sampel 1 di lihat dari daunnya terdapat "Mucron" yang berada di ujung daun.
- Sampel 2 tidak dapat teridentifikasi lebih detail karena hanya berupa helaian daun. Lebih baik jika specimen dalam satu tangkai



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)



Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website: www.biologi.lipi.go.id

Cibinong, 9 Juni 2017

Nomor : IS70/IPH.1.01/H.07/VI/2017
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Julkipli**
Swiss German University

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	-	<i>Avicennia marina</i> (Forssk.) Vierh.	Acanthaceae
2	Waru Laut	<i>Thespesia populnea</i> (L.) Sol. ex Corrêa	Malvaceae
3	-	<i>Xylocarpus moluccensis</i> (Lam.) M. Roem	Meliaceae
4	-	<i>Bruguiera gymnorhiza</i> (L.) Lamk	Rhizophoraceae
5	-	<i>Ceriops tagal</i> (Perr.) C.B. Rob.	Rhizophoraceae
6	-	<i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.	Lythraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI.

Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website : www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 26 Juli 2017

Nomor : 182/IPH.1.01/If.07/VII/2017
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Julkipli**
Swiss German University

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

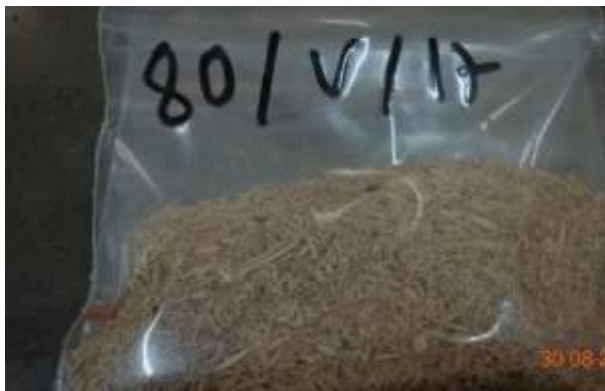
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	-	<i>Rhizophora apiculata</i> Blume	Rhizophoraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plh. Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Atik Retnowati, M.Sc.
NIP. 197111152000032005

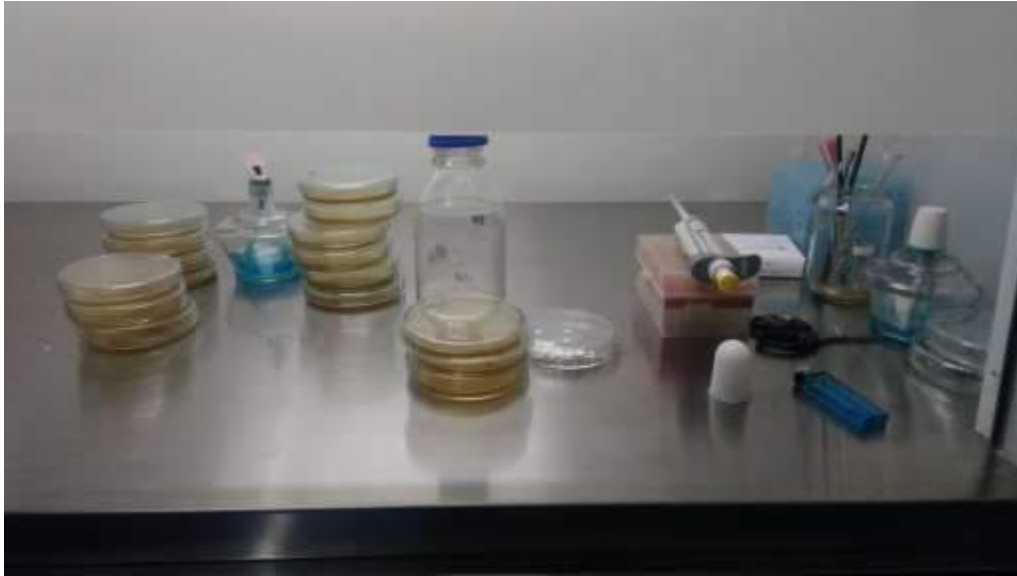
Lampiran 4. Dokumentasi kegiatan uji fitokimia simplisia



Lampiran 5. Dokumentasi kegiatan ekstraksi



Lampiran 6. Dokumentasi kegiatan uji antibakteri



Lampiran 7. Dokumentasi uji anti kanker

