

Kandungan Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Biologis Daun Mangrove *Lumnitzera racemosa* di Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak Jepara

Melati Sukma Dewi^{1,2}, Ria Azizah Tri Nuraini^{1*}, Bambang Yulianto¹, Mada Triandala Sibero^{1,2}

¹Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacob Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

²Laboratorium Natural Product, UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

*Corresponding author, e-mail: riaazizah@gmail.com

ABSTRAK: *Lumnitzera racemosa* tumbuh luas di hutan bakau di daerah tropis, menjanjikan potensi sumber daya untuk digunakan manusia sebagai bahan farmakologi dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak *L. racemosa* berpotensi sebagai antimikroba, antihipertensi, anti diare, dan antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik senyawa bioaktif dan juga mengetahui aktivitas antibakteri dan antioksidan pada ekstrak daun mangrove *L. racemosa* asal Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak, Jepara, Jawa Tengah. Metode ekstraksi menggunakan maserasi bertingkat dengan tiga pelarut berbeda berdasarkan kepolarannya. Uji fitokimia dan Analisa *Metabolite Finger Printing* dengan TLC (*Thin Layer Chromatography*) dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun mangrove *L. racemosa*, untuk mengetahui aktivitas biologis yaitu aktivitas antibakteri digunakan metode *agar well* dengan menggunakan empat bakteri MDR (*Multi Drug Resistance*), sedangkan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil uji fitokimia menunjukkan senyawa bioaktif ekstrak daun *L. racemosa* yang meliputi alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon, dan steroid. Analisa *Metabolite Finger Printing* dengan uji TLC menunjukkan senyawa bioaktif yang terkandung antara lain: terpenoid, fenol, dan alkaloid dan positif menunjukkan aktivitas antioskidan. Aktivitas antibakteri, menunjukkan hasil negatif yaitu tidak terbentuknya zona hambat pada ke empat bakteri. Aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC₅₀ daun *L. racemosa* Pantai Teluk Awur menunjukkan nilai IC₅₀ paling baik adalah ekstrak metanol 161,606 ppm (lemah) sedangkan pada lokasi Pantai Blebak menunjukkan nilai IC₅₀ yang berpotensi pada ekstrak etil asetat 17,441 ppm (sangat kuat). Daun mangrove *L. racemosa* Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak memiliki potensi untuk bidang farmakologi dilihat dari hasil aktivitas senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun *L. racemosa*.

Kata kunci: Antioksidan; Fitokimia; Farmakologi

Evaluation of Bioactive Compounds and Biological Activity of Mangrove Leaf Lumnitzera racemosa from Teluk Awur Beach and Blebak Beach, Jepara

ABSTRACT: *Lumnitzera racemosa* grows widely in mangrove forests in the tropics, promising potential resources for pharmaceutical ingredients from the bioactive compounds contained in it. Previous studies have shown the extract may have biological activities such as antimicrobial, antihypertensive, antidiarrheal, and antioxidant. The purpose of this study was to determine the bioactive antibacterial compounds and also to determine the activity and antioxidants in the extract of the mangrove leaves of *L. racemosa* from Teluk Awur Beach and Blebak Beach, Jepara, Central Java. The extraction method uses graded maceration with three different solvents based on their polarity. Phytochemical tests and *Metabolite Finger Printing Analysis* with *Thin Layer Chromatography* (TLC) tests were carried out to determine the bioactive compounds contained in the mangrove leaves of *L. racemosa*, to determine the biological activity, namely the antibacterial activity used by the *agar* method using four MDR (*Multi-Drug Resistance*) bacteria, while the activity test antioxidant using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The results of the phytochemical test showed that the bioactive compounds of *L. racemosa* leaf extract included: alkaloids, flavonoids, phenol hydroquinone, and steroids. *Metabolite Finger Printing Analysis* with

*Thin Layer Chromatography (TLC) test showed that the bioactive compounds contained include terpenoids, phenols, and alkaloids and positively indicated antioxidant activity. Antibacterial activity showed negative results, namely no inhibition zone was formed on bacterial empathy. Antioxidant activity seen from the IC₅₀ value of *L. racemosa* leaves showed the best IC₅₀ value was methanol extract 161,606 ppm (weak) while at Blebak Beach location showed possible IC₅₀ value in ethyl acetate extract 17,441 ppm (very strong). The mangrove leaves of *L. racemosa* Teluk Awur Beach and Blebak Beach have potential in the field of pharmacology seen from the results of the activity of bioactive compounds contained in the leaves of *L. racemosa* leaves.*

Keywords: Antioxidant; Phytochemical; Pharmacology.

PENDAHULUAN

Ekosistem mangrove merupakan salah satu diantara ketiga penyusun ekosistem yang ada di perairan, memiliki peranan yang penting bagi daerah pesisir sebagai daerah pelindung dari berbagai macam gangguan seperti abrasi pantai dan juga menjadi habitat dari berbagai spesies hewan. Masyarakat sekitar pesisir juga memanfaatkan keberadaan ekosistem ini sebagai jasa ekonomi yaitu bagian kayu mangrove yang digunakan untuk bahan bangunan, daun mangrove yang dapat menghasilkan pewarna alami, juga digunakan sebagai obat-obatan yang diambil dari ekstrak daun mangrove (Eddy *et al.*, 2017). Mangrove kaya akan kandungan bioaktif seperti steroid, flavonoid, tannin dan juga saponin. Mangrove *Lumnitzera racemosa* mengandung bioaktif tannin dan juga flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antimikrobal (Ravikumar dan Gnanadesigan, 2011).

Lumnitzera racemosa termasuk ke dalam famili Combretaceae memiliki nama daerah bakau putih, bakau duduk, bakau api-api, dan knias. Tanaman ini banyak tumbuh di daerah dengan pasang tertinggi, pada substrat berlumpur atau berpasir padat. *L. racemosa*, tumbuh luas di hutan bakau di daerah tropis, memiliki biomassa besar yang menjanjikan potensi sumber daya untuk digunakan manusia. Menurut Thao *et al.* (2015), *L. racemosa* dari Taiwan mengandung senyawa bioaktif berupa tannin. Ekstraknya menunjukkan beberapa bioaktivitas misalnya antimikroba, antihipertensi, anti diare, anti plasmodial (Darwish *et al.*, 2016). Beberapa ekstrak daun *L. racemosa* telah digunakan pada masyarakat untuk sebagai obat asma, kencing manis, gigitan ular (Phuong *et al.*, 2017).

Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa tanaman mangrove ini tersebar pada beberapa daerah dengan kondisi lingkungan yang berbeda dan memiliki potensi senyawa bioaktif. Namun, belum adanya penelitian komprehensif yang mengkaji tentang kandungan aktivitas biologis daun *L. racemosa* pada perairan Teluk Awur dan Perairan Pantai Blebak Jepara. Karena itu, *L. racemosa* memiliki potensi untuk dilakukan penelitian lebih lanjut pada bidang farmakologi dan kimia. Studi kimiawi sebelumnya pada *L. racemosa* menunjukkan bahwa sifat utamanya komponen fitokimia adalah flavonoid, triterpenoid, steroid, galloyl glycosides, asam lemak (Thao *et al.*, 2015).

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Natural Product*, Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro pada bulan Maret hingga bulan November 2021. Daun mangrove *Lumnitzera racemosa* diperoleh dari Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak, Jepara. Kemudian dibersihkan dari serangga atau kotoran yang ada di sampel. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan oven selama 3x24 jam dengan suhu 40⁰ C, setelah sampel kering lalu dipotong kecil-kecil hingga halus menggunakan gunting (Puspitasari *et al.*, 2018).

Ekstraksi dilakukan dengan memasukkan daun ke dalam labu *erlenmeyer* dan diekstraksi dengan cara maserasi bertingkat berdasarkan kepolarannya. Pelarut yang digunakan adalah n-Heksana, etil asetat dan metanol sebanyak 1000 ml untuk sampel daun *Lumnitzera racemosa* Pantai Teluk Awur dan 500 ml untuk sampel daun *Lumnitzera racemosa* Pantai Blebak. Proses maserasi

dilakukan selama 1 x 24 jam, selama proses maserasi, labu *erlenmeyer* diletakkan di atas *shaker*. Kecepatan pengadukan yang digunakan yaitu sebesar 100 rpm. Hasil dari ekstraksi maserasi bertingkat yang sudah dilakukan selama 3x24 jam selanjutnya dilakukan pemekatan sampel menggunakan *rotary vacuum evaporator* setiap masing-masing ekstrak dengan suhu 30⁰ C selama 10 menit untuk setiap 200ml pelarut. Pemekatan sampel dapat dikatakan selesai apabila pelarut sudah mulai menguap dan akan terbentuk ekstrak kasar dari masing-masing pelarut. Hasil ekstrak kasar yang didapatkan lalu disimpan di pada suhu -20⁰ C dengan menutup wadah dengan aluminium foil yang selanjutnya akan digunakan untuk uji analisis fitokimia, analisis *metabolite finger printing* dengan uji TLC (*Thin Layer Chromatograph*), uji antibakteri dan uji antioksidan (Sibero *et al.*, 2019).

Uji fitokimia dilakukan dengan metode Harborne (1987) dengan beberapa modifikasi. Uji alkaloid dilakukan dengan mencampurkan ekstrak daun (2mg) dan ditambahkan 1 mL asam sulfat (H₂SO₄) 2N lalu disaring menggunakan kerta saring *whatmann* 0,45 um, lalu ditambahkan beberapa tetes pereaksi *Dragendorff*, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat kemerahan (Sibero *et al.*, 2019). Uji saponin dilakukan dengan menambahkan ekstrak daun (2 mg) dengan aquadest (5 ml), dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih tabung reaksi tersebut dikocok vertikal hingga terbentuk busa. Diamati selama 15 menit, setelah itu ditambahkan beberapa tetes HCL 2N adanya busa yang stabil menunjukkan hasil yang positif saponin (Sibero *et al.*, 2019). Uji flavonoid dilakukan dengan mencampurkan ekstrak daun (2 mg) dan ditambahkan beberapa tetes HCL 2N lalu dipanaskan. Diamkan selama 15 menit. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan warna merah, oranye dan hijau tergantung struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut (Desrita, 2018). Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan mencampurkan ekstrak daun (2 mg) dengan beberapa tetes anhidrida asetat, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan didinginkan pada suhu ruangan. Selanjutnya ditambahkan satu tetes asam sulfat (H₂SO₄) pekat. Adanya senyawa golongan triterpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna hijau (Sibero *et al.*, 2019). Uji fenolik dilakukan dengan mencampurkan ekstrak daun (2 mg) ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ (*ferric chloride*) 1%. Adanya kandungan senyawa fenolik ditandai dengan timbulnya warna hijau, merah, biru, ungu atau hitam (Erwin *et al.*, 2020).

Analisis *metabolite finger printing* dilakukan dengan uji *Thin Layer Chromatography* (TLC) menggunakan metode beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda, eluen yang digunakan adalah n-Heksana dan etil asetat dengan perbandingan 7 : 3. Ekstrak daun yang telah dipekatkan sebanyak 2 mg dilarutkan pada 100 uL sesuai pelarut yang digunakan untuk melakukan ekstraksi yaitu n-Heksana, etil asetat dan metanol, ditotolkan pada pelat TLC silica gel PF₂₅₄ 20x20 cm (Merck) untuk mendeteksi bercak lalu diamati di bawah sinar UV 366 nm dan dilakukan penyemrotan reagen FeCl₃ (*ferric chloride*), DPPH, vanillin dan juga *dragendorff* untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Nilai Rf dihitung menggunakan rumus menurut Rafael (2021):

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran atau yang lebih dikenal dengan metode *agar well* menurut (CLSI, 2020) atau yang lebih dikenal dengan sumuran yaitu dengan memberi lubang pada media tumbuh bakteri, menggunakan bakteri uji yang termasuk bakteri patogen manusia gram positif yaitu *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Nurhayati *et al.*, 2020). Bakteri tersebut diinokulasi pada media *Nutrient Agar* selama 24 jam sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri. Setelah bakteri berumur 24 jam kemudian koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose lalu disuspensi menggunakan media *Mueller Hinton Broth* hingga mencapai kekeruhan setara dengan 0,5 *McFarland*. Lalu bakteri ditumbuhkan pada seluruh permukaan media *Mueller Hilton Agar* dengan menggunakan *cotton swab*. Kontrol positif yang digunakan dalam uji antibakteri adalah antibiotik amoksilin dengan konsentrasi 30 µg/ml dengan kontrol negatif DMSO (Supari *et al.*, 2016). Untuk memberi lubang

sumur dapat menggunakan alat pembuat lubang sumur dengan ukuran 5 mm. Ekstrak daun yang telah dipekatkan diencerkan menggunakan DMSO hingga konsentrasinya menjadi 2000 ug/mL, 1000 Hg/mL, 500 ug/mL dan 250 g/mL (Sibero *et al.*, 2019). Ekstrak yang sudah diencerkan dimasukkan ke dalam lubang sumur menggunakan mikropipet sebanyak 5 uL/sumur. Dilakukan inkubasi selama 3x24 jam pada suhu 32°C dan dilakukan pengamatan selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam untuk melihat adakah zona hambat aktivitas antibakteri, jika terdapat zona hambat diukur menggunakan jangka sorong.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) menurut (Blois, 1958) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 10 mg dari masing-masing sampel ditambahkan metanol p.a sebanyak 1 ml, sehingga diperoleh larutan stock sebesar 10.000 ppm, setelah itu dilakukan *serial dilution* dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625 dan 7,8125 ppm. DPPH 125 µm dibuat dalam metanol p.a. Masing-masing sampel dari berbagai macam konsentrasi ditambahkan DPPH dengan perbandingan 1:1 dan diinkubasi selama 30 menit dengan suhu ruang dan dalam keadaan gelap. Setelah diinkubasi sampel dimasukkan ke dalam kuvet ($v = 1,5$ ml) dan dimasukkan ke dalam Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Masing-masing sampel dibuat sebanyak *triplikat*. Nilai absorbansi dihitung berdasarkan nilai IC_{50} (*The half maximal inhibitory concentration*) menggunakan persamaan:

$$\%RSA = \frac{Abs_{kontrol\ negatif} - Abs_{sampel}}{Abs_{kontrol\ negatif}} \times 100\%$$

Metanol digunakan sebagai kontrol positif. Kontrol negatif dibuat dengan menambahkan metanol p.a dengan DPPH. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 100, 50, 25, 10, dan 5 ppm. Dari data nilai absorbansi, data diolah menggunakan *Microsoft Excel* (Nisa *et al.*, 2020) dengan persamaan regresi dengan hasil persamaan sebagai berikut:

$$Y = aX + b$$

Dimana Y merupakan % RSA, a merupakan gradien, X merupakan konsentrasi (μ /mL) dan b adalah konstanta. Kemudian nilai IC_{50} dihitung dengan mengubah persamaan menjadi $50 = aX + b$, dimana nilai X adalah IC_{50} dengan satuan ppm. Nilai IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang dapat menangkap 50% radikal bebas DPPH (Ridlo *et al.*, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Metabolit Ekstrak Daun *Lumnitzera racemosa*

Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid fenolik dan triterpenoid pada ekstrak daun *Lumnitzera racemosa* dari kedua lokasi sedangkan keberadaan flavonoid hanya terdeteksi pada ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Blebak yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil ini sesuai dengan peneliat yang sudah dilakukan (Thao *et al.*, 2015)

Senyawa fitokimia pada ekstrak daun *Lumnitzera racemosa* pada dua lokasi menunjukkan adanya potensi kandungan senyawa: alkaloid menunjukkan aktivitas antimikroba, antikanker dan analgesik. Alkaloid digunakan untuk berbagai pengobatan, seperti alzheimer, parkinson, stroke, skizofrenia dan epilepsi (Hussein dan El-Anssary, 2019). Flavanoid merupakan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antialergi dan antikanker. Kandungan saponin dapat digunakan sebagai *antifeedant* yang berfungsi membunuh serangga (Ogbiko *et al.*, 2020). Fenol digunakan sebagai antiseptik, fenol banyak digunakan juga sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Adanya steroid menunjukkan adanya aktivitas anti inflamasi, antimikroba dapat juga digunakan sebagai obat pereda nyeri (Truong *et al.*, 2019), sedangkan senyawa triterpenoid juga dapat berpotensi sebagai antimikroba. Potensi penggunaan terpenoid termasuk aditif makanan, obat-obatan dan biofuel (Masyita *et al.*, 2022). Alkaloid, fenol dan terpenoid merupakan tiga metabolit sekunder utama yang dihasilkan oleh tanaman. Semua kandungan senyawa yang

dihasilkan dari uji fitokimia kedua lokasi menunjukkan potensi yang dapat digunakan sebagai sumber senyawa baru dalam bidang farmakologi (Hussein dan El-Anssary, 2019).

Analisa Metabolite Finger Printing dengan Uji TLC (Thin Layer Chromatography)

Pereaksi FeCl₃ (*ferric chloride*) digunakan untuk analisa lebih lanjut kandungan senyawa fenol, dimana ditandai dengan adanya bercak noda berwarna hitam kebiruan setelah disemprotkan dengan FeCl₃ (*ferric chloride*). Ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Teluk Awur pada plat silika yang disemprotkan dengan pereaksi FeCl₃ (*ferric chloride*) terlihat penyebaran bercak berwarna kehitam pada pelarut n-Heksana terdapat 3 spot bercak (0,22; 0,62; 0,7), 1 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,75) dan 2 spot bercak pada pelarut metanol (0,37 dan 0,78). Hasil uji TLC ekstrak daun *L. racemosa* Pantai Blebak setelah dilakukan penyemprotan menggunakan FeCl₃ pada pelarut n-Heksana terdapat 3 spot bercak (0,22; 0,7 dan 0,82), 2 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,13 dan 0,83) dan 2 spot bercak pada pelarut metanol (0,28 dan 0,83). Senyawa fenolik banyak ditemukan pada tanaman dan dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, sebagian besar senyawa fenolik sensitif terhadap lingkungan habitat tempat hidup dari tanaman terutama dengan kondisi suhu, cahaya dan kelembapan yang akan berpengaruh terhadap kandungan fenolik dari tumbuhan tersebut (Darmadi *et al.*, 2021).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun *L. racemosa* Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak

Lokasi	Uji Fitokimia	Indikator	Pelarut		
			n-Heksana	Etil asetat	Metanol
Pantai Teluk Awur	Alkaloid	Endapan berwarna coklat	+	+	+
	Flavonoid	Merah, oren, hijau	-	-	-
	Fenolik	Hijau, merah, biru, ungu atau hitam	+	+	+
	Saponin	Busa yang stabil	-	-	-
	Steroid	Steroid: warna hijau lapisan atas	+	+	-
	/Triterpenoid	Triterpenoid: warna merah lapisan bawah			
Pantai Blebak	Alkaloid	Endapan berwarna coklat	+	+	+
	Flavonoid	Merah, oren, hijau	+	+	-
	Fenolik	Hijau, merah, biru, ungu atau hitam	+	+	+
	Saponin	Busa yang stabil	-	-	-
	Steroid	Steroid: warna hijau lapisan atas	+	+	-
	/Triterpenoid	Triterpenoid: warna merah lapisan bawah			

Keterangan: (+) hasil positif, (-) hasil negatif



Gambar 1. Visualisasi TLC dengan FeCl₃ (*ferric chloride*) (A) Pantai Teluk Awur (B) Pantai Blebak

Pereaksi vanilin asam sulfat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid. Plat silika disemprot dengan pereaksi vanillin asam sulfat dan dipanaskan terdapat perubahan warna pada spot bercak menjadi warna ungu yang menandakan adanya aktivitas terpenoid (Kristanti dan Tunjung, 2015). Pada ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Teluk Awur setelah dilakukan penyemprotan menggunakan vanilin terdapat perubahan warna pada spot bercak plat silika menjadi ungu yang menandakan terdapat kandungan senyawa metabolit terpenoid, pada pelarut n-Heksana terdapat 4 spot bercak (0,30; 0,37; 0,57; 0,69; 0,59), 2 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,59 dan 0,74) dan 1 spot bercak pada pelarut metanol (0,63). Ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Blebak setelah disemprot vanillin asam sulfat juga terdapat perubahan warna pada pelarut n-Heksana terdapat 2 spot bercak (0,43 dan 0,89), 1 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,89) dan 1 spot bercak pada pelarut metanol (0,84). Terpenoid telah terbukti sebagai salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri yang rentan antibiotik dan resisten terhadap antibiotik (Masyita *et al.*, 2022).

Pereaksi *dragendorff* disemprotkan ke plat silika untuk melihat adanya kandungan senyawa alkaloid, plat silika akan menunjukkan spot berwarna kuning hingga kecoklatan (Ahmad *et al.*, 2017). Pada lokasi Pantai Teluk Awur terdapat perubahan warna bercak menjadi kecoklatan pada pelarut n-Heksana terdapat 1 spot bercak (0,8), 1 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,8) dan 1 spot bercak pada pelarut metanol (0,81) dengan nilai R_f 0,8; 0,8; 0,814. Pada ekstrak daun *Lumnitzera racemosa* Pantai Blebak plat silika yang sudah disemprotkan dengan pereaksi *dragendorff* juga terdapat perubahan warna kuning kecoklatan yang mengindikasikan adanya senyawa alkaloid dengan nilai R_f pada pelarut n-Heksana terdapat 1 spot bercak (0,5), 1 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,68) dan 1 spot bercak pada pelarut metanol (0,78). Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder tanaman yang mengandung karbon, hidrogen, nitrogen, dan biasanya oksigen dan terutama ditemukan pada tumbuhan, terutama pada tumbuhan berbunga, sekitar 20% spesies tumbuhan terdiri dari alkaloid (Hussein dan El-Anssary, 2019).



Gambar 2. Visualisasi TLC dengan Vanillin H_2SO_4 (A) Pantai Teluk Awur (B) Pantai Blebak



Gambar 3. Visualisasi TLC dengan *Dragendorff* (A) Pantai Teluk Awur (B) Pantai Blebak



Gambar 4. Visualisasi TLC dengan DPPH (A) Pantai Teluk Awur (B) Pantai Blebak

Pereaksi DPPH (2,2-diphenyl- 1-picrylhydrazyl) digunakan untuk mendeteksi senyawa antioksidan yang terkandung dalam tumbuhan. Apabila terdeteksi aktivitas antioksidan akan terbentuk bercak kuning dengan latar belakang ungu pada plat silika (Mazlan dan Nadirah, 2016). Pada ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Teluk Awur dengan plat silika yang disemprotkan dengan DPPH terdapat perubahan warna bercak pada pelarut n-Heksana terdapat 1 spot bercak (0,32), 1 spot bercak pada pelarut metanol (0,37) dan 3 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,3; 0,33 dan 0,77). Ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Blebak juga terdapat perubahan warna menjadi kekuningan pada pelarut n-Heksana terdapat 2 spot bercak (0,18 dan 0,6), 2 spot bercak pada pelarut etil asetat (0,2 dan 0,93) dan 2 spot bercak pada pelarut metanol (0,2 dan 0,48). Antioksidan yang terdapat pada tumbuhan merupakan pertahanan pertama terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan sangat penting untuk sel tanaman yang optimal (Rajput *et al.*, 2021).

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri yang dapat dilihat pada Gambar 5 menunjukkan bahwa semua ekstrak daun *L. racemosa* pada kedua lokasi tidak menunjukkan adanya daya penghambatan terhadap bakteri uji. Pada kontrol negatif menggunakan amoksisilin dengan konsentrasi 30 µg (CLSI, 2020), semua sampel di kedua lokasi terbentuk zona bening, hal ini menandakan fungsi dari amoksisilin sebagai antibiotik bekerja karena terbentuknya zona bening pada semua ekstrak daun *L. racemosa* di dua lokasi. Pada kontrol positif digunakan DMSO (dimetil sulfoksida) (Sibero *et al.*, 2019) semua sampel di kedua lokasi tidak ditemukan adanya zona hambat, hal ini selaras dengan sifat DMSO yaitu memiliki toksisitas yang sangat kuat sehingga tidak memiliki potensi sebagai antibakteri. Pada uji fitokimia dan uji *Thin Layer Chromatography* menandakan bahwa ekstrak daun *Lumnitzera racemosa* memiliki potensi sebagai antibakteri karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu: alkaloid, flavonoid dan steroid namun pada hasil uji antibakteri tidak dihasilkan zona hambat yang menandakan tidak ditemukannya aktivitas antibakteri pada setiap ekstrak daun mangrove *Lumnitzera racemosa*, hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain penggunaan bakteri MDR (*Multi Drug Resistance*), bakteri MDR memiliki resistensi yang lebih kuat terhadap terhadap agen antimikroba, sehingga senyawa metabolit pada ekstrak daun mangrove *Lumnitzera racemosa* yang berpotensi menjadi agen antimikroba tidak bisa membentuk zona hambat atau menunjukkan aktivitas antibakteri hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sibero *et al.* (2020), bahwa patogen MDR diketahui lebih resisten terhadap berbagai agen antimikroba. Faktor lain yang dapat mempengaruhi zona hambat adalah konsentrasi dari senyawa yang digunakan tidak mencukupi untuk membentuk aktivitas antibakteri.

Bakteri pengujian yang digunakan adalah gram positif yaitu: *Bacillus cereus* dan *Bacillus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu: *Escherchia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dimana bakteri tersebut termasuk ke dalam bakteri MDR (*Multi Drug Resistance*), suatu bakteri dapat dikatakan ke dalam kategori MDR apabila bakteri tersebut sudah resisten terhadap satu dari 3 macam golongan antibiotik yang ada (Estiningsih *et al.*, 2016). Keempat bakteri yang digunakan juga termasuk ke

dalam *foodborne* patogen atau yang lebih dikenal sebagai patogen bawaan makanan (dapat berupa bakteri, parasit dan virus) yang menyebabkan penyakit bawaan dari makanan tersebut (Bintsis, 2017). Tujuan penggunaan *Foodborne pathogen* dalam penelitian ini adalah karena keempat bakteri tersebut berpengaruh terhadap kesehatan manusia. *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis* banyak dilaporkan berbahaya karena dapat menyebabkan diare (Logan, 2012), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi nosokomial pada pasien dengan imun rendah di rumah sakit dan juga diare (Hoff *et al.*, 2020), dan bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare, sementara jenis *E. coli* yang lain dapat hingga menyebabkan sindrom hemolitik uremik (Werber dan Scheutz 2019).

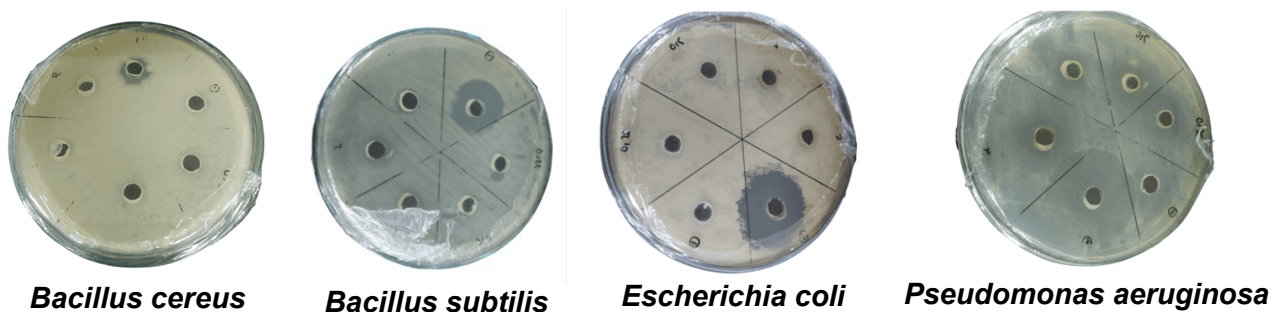
Penelitian yang dilakukan oleh Abeyasinghe (2010), melaporkan bahwa ekstrak daun mangrove *Lumnitzera racemosa* dapat menekan pertumbuhan strain bakteri lebih banyak daripada dengan ekstrak yang dikeringkan hal ini dapat terjadi karena sampel daun segar mungkin memiliki lebih banyak senyawa antimikroba daripada jaringan kering dan mungkin selama kekeringan senyawa antibakteri dapat terdegradasi karena suhu.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2, dimana setiap ekstrak daun *Lumnitzera racemosa* dari ketiga pelarut pada Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak menunjukkan hasil aktivitas antioksidan dari tingkat kuat sampai sangat lemah dilihat dari nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} memiliki tingkatan dari kuat hingga sangat lemah, hal ini sesuai dengan klasifikasi Blois (1958) dalam Sarjono *et al.*, (2019), dimana senyawa yang sangat kuat memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kategori kuat memiliki nilai IC_{50} 50-100 ppm, kategori sedang jika memiliki nilai IC_{50} 100-150 ppm, dan kategori lemah jika memiliki IC_{50} 151-200 ppm sedangkan berdasarkan Molyneux (2004) dalam Sarjono *et al.*, (2019), nilai IC_{50} 200-1000 ppm memiliki nilai antioksidan yang sangat lemah namun masih memiliki aktivitas antioksidan.

Ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Teluk Awur menunjukkan nilai IC_{50} pada ekstrak daun mangrove *Lumnitzera racemosa* untuk ekstrak n-Heksana sebesar 327,878 ppm dimana nilai tersebut dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah, ekstrak etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 187,627 ppm dimana nilai tersebut dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dan yang terakhir adalah ekstrak metanol yang menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 161,606 ppm dimana nilai tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang, nilai tersebut lebih baik dalam menangkan radikal bebas DPPH diantara kedua ekstrak lainnya yaitu n-Heksana dan etil asetat. Aktivitas antioksidan paling tinggi ditemukan pada ekstrak metanol dimana hal ini dapat terjadi karena senyawa metanol bersifat polar. Pelarut polar sangat baik untuk menarik senyawa fenolik dan hasilnya adalah aktivitas antioksidan yang cukup baik diantara pelarut n-Heksana dan etil asetat.

Ekstrak daun *L. racemosa* asal Pantai Blebak menunjukkan nilai IC_{50} yang cukup baik dibandingkan dengan Pantai Teluk Awur. Ekstrak n-Heksana menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 489,808 dimana nilai tersebut termasuk ke dalam kategori sangat lemah, ekstrak etil asetat menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 17,441 ppm dimana dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak etil asetat sangat kuat untuk menangkal radikal bebas dari DPPH, dan untuk ekstrak metanol menunjukkan nilai



Gambar 5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun *Lumnitzera racemosa*

Tabel 2. Nilai IC₅₀ daun *Lumnitzera racemosa* di Pantai Teluk Awur dan Pantai Blebak

Ekstrak	Nilai IC ₅₀ Pantai Teluk Awur (ppm)	Nilai IC ₅₀ Pantai Blebak (ppm)
n-Heksana	327,878	489,808
Etil asetat	187,627	17,441
Metanol	161,606	116,630

IC₅₀ sebesar 116,630 dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol sedang. Adanya aktivitas antioksidan dalam suatu tanaman diketahui dengan adanya senyawa metabolit yaitu fenolik dan flavonoid, hal ini sesuai dengan pernyataan Dirar *et al.*, (2019), senyawa fenolik dan flavonoid terkenal dengan aktivitasnya sebagai penangkal radikal bebas (antioksidan).

Aktivitas antioksidan dari kedua lokasi menunjukkan nilai IC₅₀ yang berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh perbedaan lokasi pengambilan sampel, dimana stress lingkungan habitat dari mangrove *Lumnitzera racemosa* pasti juga berbeda. Tekanan lingkungan seperti intensitas cahaya tinggi, suhu ekstrem, kekeringan, salinitas tinggi, oksigen rendah menginduksi stres oksidatif pada tumbuhan mangrove. Kerusakan sel dan penghambatan fotosintesis disebabkan oleh spesies oksigen reaktif (ROS) seperti H₂O₂, OH dan O₂ yang dihasilkan selama stres oksidatif. Enzim antioksidan seperti superoksida dismutase katalase (CAT), *Glutathione S-transferase* (GST), *superoksida dismutase* (SOD) dan *peroksidase* (POD) adalah beberapa sistem pertahanan antioksidan yang digunakan oleh tanaman, termasuk mangrove, untuk mengais kelebihan ROS yang dihasilkan dalam kondisi stress (Kodikara *et al.*, 2020). Enzim-enzim ini akan dihasilkan sesuai dengan kondisi dari lingkungan masing-masing. Pantai Blebak menghasilkan nilai IC₅₀ yang cenderung lebih berpotensi dibandingkan dengan ekstrak daun *Lumnitzera racemosa* yang berasal dari Pantai Teluk Awur.

Stress lingkungan memiliki peran penting atas penurunan produksi dan hasil dari metabolit sekunder. Selama pertumbuhan dan perkembangan, tanaman berinteraksi dengan lingkungan sekitarnya, di mana mangrove berinteraksi langsung dengan komponen lingkungan abiotik yang berbeda seperti air, cahaya, suhu, tanah, dan bahan kimia. Faktor lingkungan abiotik, seperti kekeringan atau banjir, cahaya dan suhu yang ekstrem, dan keberadaan substrat dimana mangrove. Pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi diduga memiliki pengaruh terhadap sifat dan jumlah metabolit sekunder yang diekstraksi dari tanaman (Dirar *et al.*, 2019). Selain itu, teknik ekstraksi juga berpengaruh efisiensi ekstraksi senyawa fitokimia. Pada penelitian digunakan teknik maserasi bertingkat yang menggunakan tiga pelarut yang berbedai yaitu pelarut polar hingga non polar. Penggunaan pelarut yang berbeda ini dikarenakan senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan tanaman dan sifat kelarutannya yang berbeda dalam pelarut yang berbeda, pelarut yang optimal untuk ekstraksi tergantung pada bahan tanaman tertentu. Selain itu, karakteristik yang berbeda mulai dari aspek biotik hingga abiotik yang mempengaruhi kedua lokasi menjadi salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan nilai pada sampel *L. racemosa*. Tingginya tekanan lingkungan, seperti kegiatan budidaya pertambakan dan pembukaan lahan yang pernah terjadi di Pantai Teluk Awur juga diduga menjadi penyebab potensial aktivitas antioksidan pada mangrove dari Pantai Teluk Awur lebih rendah dibandingkan dari Pantai Blebak.

KESIMPULAN

Senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun mangrove *Lumnitzera racemosa* Pantai Teluk Awur antara lain: alkaloid, fenol hidrokuinon, saponin, steroid dan terpenoid sedangkan dalam daun mangrove *Lumnitzera racemosa* Pantai Blebak mengandung senyawa bioaktif antara lain: alkaloid, flavonoid, fenol, steroid dan triterpenoid. Aktivitas antibakteri daun mangrove *Lumnitzera racemosa* tidak ditemukan pada kedua lokasi, sedangkan aktivitas antioksidan daun mangrove *Lumnitzera racemosa* Pantai Teluk Awur menunjukkan nilai IC₅₀ paling baik pada ekstrak metanol 161,606 ppm (lemah) dan aktivitas antioksidan daun mangrove *Lumnitzera racemosa* Pantai Blebak menunjukkan aktivitas antioksidan paling baik pada ekstrak etil asetat dengan nilai IC₅₀ 17,441 ppm (sangat kuat)

DAFTAR PUSTAKA

- Abeysinghe, P.D., 2010. Antibacterial Activity of Some Medicinal Mangroves Against Antibiotic-Resistant Pathogenic Bacteria. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(2):167-172. DOI: 10.41032F0250-474X.65019.
- Ahmad, F., Soekamto, N.H., & Firdaus, F., 2017. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. var. *Visenia* dengan Metode Brine Shirmp Lethality Test (BSLT). *Indonesian Journal of Chemical Research*, 4(2):378-381. DOI: 10.30598/ijcr.2017.4-fau.
- Bintsis, T., 2017. Foodborne Pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3):529-563. DOI: 10.3934/microbiol.2017.3.529.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:1199-1200. DOI: 10.1038/1811199a0
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2010. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 20:1-5.
- Darmadi, J., Batubara, R.R., Himawan, S., Azizah, N.N., Audah, H.K., Arsianti, A., & Audah, K.A., 2021. Evaluation of Indonesian Mangrove *Xylocarpus granatum* Leaves Ethyl Acetate Extract as a Potential Anticancer Drug. *Scientific reports*, 11:p.6080. DOI: 10.1038/s41598-021-85383-3.
- Darwish, A.G.G., Samy, M.N., Sugimoto, S., Otsuka, H., Abdel-Salam, H., Issa, M.I., Shaker, I.S., & Matsunami, K., 2016. Bioactive compounds from the leaves of *Lumnitzera racemosa* against acetaminophen-induced liver damage in vitro. *Journal of Arid Land Studies*, 26(3):183-186.
- Desrita, D.P., 2018. Pengaruh Metode Perebusan Terhadap Uji Fitokimia Daun Mangrove *Excoecaria Agallocha*. *Jurnal Penelitian Pendidikan Sosial Humaniora*, 3(2):424-428.
- Dirar, A.I., Alsaadi, D.H.M., Wada, M., Mohamed, M.A., Watanabe, T., & Devkota, H.P., 2019. Effects of Extraction Solvents on Total Phenolic and Flavonoid Contents and Biological Activities of Extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120(1016):261-267. DOI: 10.1016/j.sajb.2018.07.003.
- Eddy, S., Maulana, A., Ridho, M.R., & Iskandar, I., 2017. Dampak aktivitas antropogenik terhadap degradasi hutan mangrove di indonesia. *Jurnal Lingkungan dan Pembangunan*, 1(3): 240-254. DOI: 10.31219/osf.io/xd9cb.
- Erwin, E., Nuryadi, D., & Usman, U., 2020. Skrining Fitokimia dan Bioaktivitas Tumbuhan Bakau Api-Api Putih (*Avicennia alba* Blume). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4):311-315. DOI: 10.25026/jsk.v2i4.152.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., & Nuryastuti, T., 2016. Identifikasi Infeksi Multidrug-Resistant Organisms (MDRO) Pada Pasien yang Dirawat di Bangsal Neonatal Intensive Care Unit (NICU) Rumah Sakit. *Journal of Management and Pharmacy Practice*, 6(3):243-248.
- Harborne, J.B., 1987. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. *Bandung: Penerbit ITB*, 78.
- Hoff, R.T., Patel, A., & Shapiro, A., 2020. *Pseudomonas aeruginosa*: An Uncommon Cause of Antibiotic-Associated Diarrhea in an Immunocompetent Ambulatory Adult. *Hindawi: Case Report in Gastrointestinal Medicine*, 6261748: 1-3. DOI: 10.1155/2020/6261748.
- Hussein, R.A., & El-Anssary, A.A. 2019. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*, 76139: 11-30. DOI: 10.5772/intechopen.76139.
- Kodikara, K.A.S., Pathmasiri, R., Irfan, A., Loku Pullukuttige, J., Madarasinghe, S.K., Farid, D.G., & Nico, K., 2020. Oxidative stress, leaf photosynthetic capacity and dry matter content in young mangrove plant *Rhizophora mucronata* Lam. under prolonged submergence and soil water stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(8):1609-1622. DOI: 10.1007/s12298-020-00843-w.
- Kristanti, H., & Tunjung, W.A.S., 2015. Detection of Alkaloid, Flavonoid, and Terpenoid Compounds in Bread (*Artocarpus communis* Frost.) Leaves and Pulps. *KnE Life Science*, 2(1):129-133. DOI: 10.18502/kls.v2i1.131.
- Logan, B.E., 2012. Environmental Transport Processes. Second Edition. John Willey & Sons Inc.

- Masyita, A., Sari, R.M., Astuti, A.D., Yasir, B., Rumata, N.R., Emran, T.B., & Simal-Gandara, J., 2022. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry X*, 13(19): p.100217. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100217.
- Mazlan, A.G., & Nadirah, M., 2016. Phytochemical Composition and in Vitro Antimicrobial, Antioxidant Activities of Methanolic Leaf Extracts from *Excoecaria agallocha*. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(1):599-608. DOI: 10.13005/bbra/2070.
- Nisa, A.A., Sedjati, S., & Yudiati, E., 2020. Quantitative fucoxanthin extract of tropical *Padina sp.* and *Sargassum sp.* (Ocrophyta) and its' radical scavenging activity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 584: 1-7. DOI: 10.1088/1755-1315/584/1/012044.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A., 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):41-46. DOI: 10.24198/jthp.v1i2.27537.
- Ogbiko., Okoh, E.V.C., & Abubakar, H., 2020. Phytochemical Screening, In vitro Antioxidant Activity and Polyphenolic Content of the Leaves of Nigerian *Ziziphus spina-Christi* (L.) Willd. *International Journal of Science for Global Sustainability*, 6(4):1-10.
- Phuong, N.H., Thuy, N. T., Duc, N.T., Tuyet, N.T., Mai, N.T., & Phung, N.K. 2017. A New Glycoside and In Vitro Evaluation of α -Glucosidase Inhibitory Activity of Constituents of the Mangrove *Lumnitzera racemosa*. *Natural Product Communications*, 12(11): 1751-1754. DOI: 10.1177/1934578X1701201125.
- Puspitasari, E., & Rozirwan, M.H., 2018. Uji toksisitas dengan menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT) pada ekstrak mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba* dan *Xylocarpus granatum*) yang berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*, 18(1):91-103. DOI: 10.29303/jbt.v18i1.733.
- Rafael, A., 2021. Phytocemical screening and thin layer chromatography (TLC) profiling of mangrove family *Rhizophoraceae* and *Avicenniaceae*. *Aquatic Science Journal: Acta Aquatica*, 8(1):1-7. DOI: 10.29103/aa.v8i1.2461.
- Rajput, V.D., Singh, R.K., Verma, K.K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F.R., Meena, M., & Mandzhieva, S., 2021. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. *Biology*, 10(4):p.267. DOI: 10.3390/biology10040267.
- Ravikumar, S., & Gnanadesigan, M., 2011. Hepatoprotective and Antioxidant Activity of a Mangrove Plant *Lumnitzera racemosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1):348-352. DOI: 10.1016/S2221-1691(11)60078-6.
- Ridlo, A., Pramesti, R., Koesoemadji, S.E., & Soenardjo, N., 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*, 6(2):110-116. DOI: 10.14710/buloma.v6i2.16555.
- Sarjono, P.R., Putri, L.D., Budiarti, C.E., Mulyani, N.S., Kusrini, D., & Prasetya, N.B.A., 2019. Antioxidant and antibacterial activities of secondary metabolite endophytic bacteria from papaya leaf (*Carica papaya* L.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509(1):2-13. DOI: 10.1088/1757-899X/509/1/012112.
- Sibero, M.T., Bachtiarini, T.U., Trianto, A., Lupita, A.H., Sari, D.P., Igarashi, Y., Harunari, E., Sharma, A.R., Radjasa, O.K., & Sabdono, A., 2019. Characterization of a yellow pigmented coral-associated bacterium exhibiting anti-Bacterial Activity Against Multidrug Resistant (MDR) Organism. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 45(1):81-87. DOI: 10.1016/j.ejar.2018.11.007.
- Sibero, M.T., Sabdono, A., Pribadi, R., Frederick, E.H., Wijaya, A.P., Haryanti, D., & Igarashi, Y. 2020. Study of Biomedical Properties of *Rhizophora mucronata* Fruit from Rembang, Central Java. *Earth and Environmental Science*, 584(1):1-7. DOI: 10.1088/1755-1315/584/1/012001.
- Supari, I.H., Leman, M.A., & Zuliari, K., 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Bengkuang (*Pachyrrhizus erosus*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *Pharmacon*, 5(3): 33–39.

- Thao, N.P., Luyen, B.T.T., Diep, C.N., Tai, B.H., Kim, E.J., Kang, H.K., & Kim, Y.H., 2015. In Vitro Evaluation of The Antioxidant and Cytotoxic Activities of Constituents of The Mangrove *Lumnitzera racemosa* Willd. *Archives of pharmacal research*, 38(4):446-455. DOI: 10.1007/s12272-014-0429-y.
- Truong, D.H., Nguyen, D.H., Ta, N.T.A., Bui, A.V., Do, T.H., & Nguyen, H.C., 2019. Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and In Vitro Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, DOI: 10.1155/2019/8178294.
- Werber, D., & Scheutz, F., 2019. The Importance of Integrating Genetic Strain Information for Managing Cases of Shiga Toxin-Producing *E. coli* Infection. *Epidemiology & Infection*, 147:e264. DOI: 10.1017/S0950268819001602.