

**UJI TOKSISITIK DAUN BAKAU KURAP (*Rhizophora mucronata*)
YANG DIEKSTRAK MENGGUNAKAN PELARUT BERBEDA
DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

SKRIPSI

Diajukan Oleh:

**ZULTIRA HARINA ROZA
NIM. 170703026
Mahasiswa Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
BANDA ACEH
2022 M / 1443 H**

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

UJI TOKSISITIK DAUN BAKAU KURAP (*Rhizophora mucronata*) YANG DIEKSTRAK MENGGUNAKAN PELARUT BERBEDA DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

SKRIPSI

Diajukan Kepada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Sebagai Salah Satu Beban Studi Memperoleh Gelar Sarjana (S1)
dalam Ilmu Biologi

Oleh:

ZULTIRA HARINA ROZA
NIM. 170703026
Mahasiswa Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry

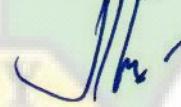
Disetujui Untuk Dimunaqasyahkan Oleh:

Pembimbing I,



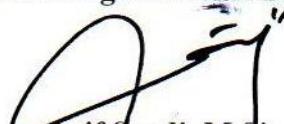
Kamaliah, M.Si
NIDN. 2015028401

Pembimbing II,



Ilham Zulfahmi, M.Si
NIDN. 1316078801

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi


Arif Sardi, M.Si
NIDN. 2019068601

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI TOKSISITIK DAUN BAKAU KURAP (*Rhizophora mucronata*) YANG DIEKSTRAK MENGGUNAKAN PELARUT BERBEDA DENGAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

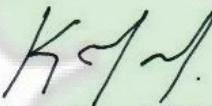
SKRIPSI

Telah Diuji Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh dan Dinyatakan Lulus
Serta Diterima Sebagai Salah Satu Beban Studi Progam Sarjana (S-1)
Dalam Ilmu Biologi

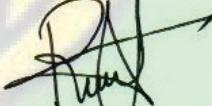
Pada Hari/Tanggal: Selasa, 19 Juli 2022 M
20 Dzulhijjah 1443 H
di Darussalam, Banda Aceh

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi:

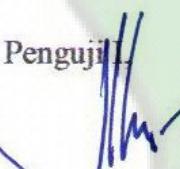
Ketua,


Kamaliah, M.Si
NIDN. 2015028401

Sekretaris,


Raudhan Hayatillah, M.Sc
NIDN. 2025129302

Penguji I


Ilham Zulfahmi, M.Si
NIDN. 1316078801

Penguji II,


Muslich Hidavat, M.Si
NIDN. 2002037902

Mengetahui:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh,




Dr. Azhar Amsal, M.Pd
NIDN. 2001066802

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zultira Harina Roza
NIM : 170703026
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Uji Toksisitik Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)
Yang Diekstrak Menggunakan Pelarut Berbeda Dengan
Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penelitian skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggung jawabkan
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain
3. Tidak menggunakan karya orang lain yang menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini.

Bila dikemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggungjawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 18 Juli 2022

Yang menyatakan,



Zultira Harina Roza

ABSTRAK

| | | |
|----------------|---|--|
| Nama | : | Zultira Harina Roza |
| NIM | : | 170703026 |
| Program Studi | : | Biologi Fakultas Sains dan Teknologi (FST) |
| Judul | : | Uji Toksisitik Daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) Yang Diekstrak Menggunakan Pelarut Berbeda Dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) |
| Tanggal Sidang | : | 19 Juli 2022 |
| Tebal Skripsi | : | 64 Halaman |
| Pembimbing I | : | Kamaliah, M.Si |
| Pembimbing II | : | Ilham Zulfahmi, M.Si |
| Kata Kunci | : | <i>Rhizophora mucronata, Brine Shrimpt Lethality Test (BSLT), Metabilot sekunder</i> |

Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) memiliki potensi sebagai antibakteri, anti jamur dan antivirus. Pengujian sitotoksik perlu dilakukan dalam rangka memprediksi sifat toksik yang terkandung dalam senyawa tumbuhan baik terhadap material biologik maupun nonbiologik. Pengujian sitotoksik daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) menggunakan metode *Brine Shrimpt Lethality Test* (BSLT) hanya terbatas pada pelarut polar yaitu methanol dan etanol. Komparasi toksitas ekstraks daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) dengan menggunakan pelarut berbeda lainnya seperti etanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar) masih belum diuji dan apa saja senyawa yang terdapat didalam pelarut yang memiliki nilai LC₅₀ yang paling tinggi. Nilai LC₅₀ pada pengujian toksisitik daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari ekstrak etanol sebanyak 402.450 ppm, etil asetat 230.977 ppm dan n heksana 180.310 ppm, ketiga ekstrak tersebut bersifat toksik. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam pelarut yang memiliki nilai LC₅₀ yang paling tinggi adalah Terpenoid, Alkaloid, Keton, fenol, minyak terpentin, minyak atsiri, lemak tak jenuh dan zat kapur.

ABSTRACT

| | | |
|-----------------|---|---|
| Name | : | Zultira Harina Roza |
| NIM | : | 170703026 |
| Study Program | : | Biology Faculty of Sains and Technology (FST) |
| Title | : | Toxicity Test of <i>Rhizophora mucronata</i> Different Solvents Leaf Extract with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method |
| Trial Date | : | 19 July 2022 |
| Number of Pages | : | 64 Pages |
| Mentor I | : | Kamaliah, M.Si |
| Mentor II | : | Ilham Zulfahmi, M.Si |
| Keywords | : | <i>Rhizophora mucronata</i> , Brine Shrimpt Lethality Test (BSLT), Secondary metabolites |

Rhizophora mucronata has potential as antibacterial, antifungal and antiviral. Cytotoxic testing needs to be done in to predict the toxic properties contained in plant compounds both for biological and non-biological substances. Cytotoxic testing of the leaves of *Rhizophora mucronata* using the Brine Shrimpt Lethality Test (BSLT) method was limited to polar solvents, namely methanol and ethanol. Comparison of the toxicity of extracts of the leaves of *Rhizophora mucronata* using other different solvents such as ethanol (polar), ethyl acetate (semi polar) and n-hexane (non-polar) has not yet been tested and what are the compounds contained in the solvent that have an LC₅₀ value the highest. The LC₅₀ value in the toxic test of the leaves of *Rhizophora mucronata* using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method of ethanol extract was 402.450 ppm, ethyl acetate 230.977 ppm and n hexane 180.310 ppm, the three extracts were toxic. The secondary metabolites contained in the solvent that have the highest LC₅₀ value are terpenoids, alkaloids, ketones, phenols, turpentine oil, essential oils, unsaturated fats and lime.

KATA PENGANTAR

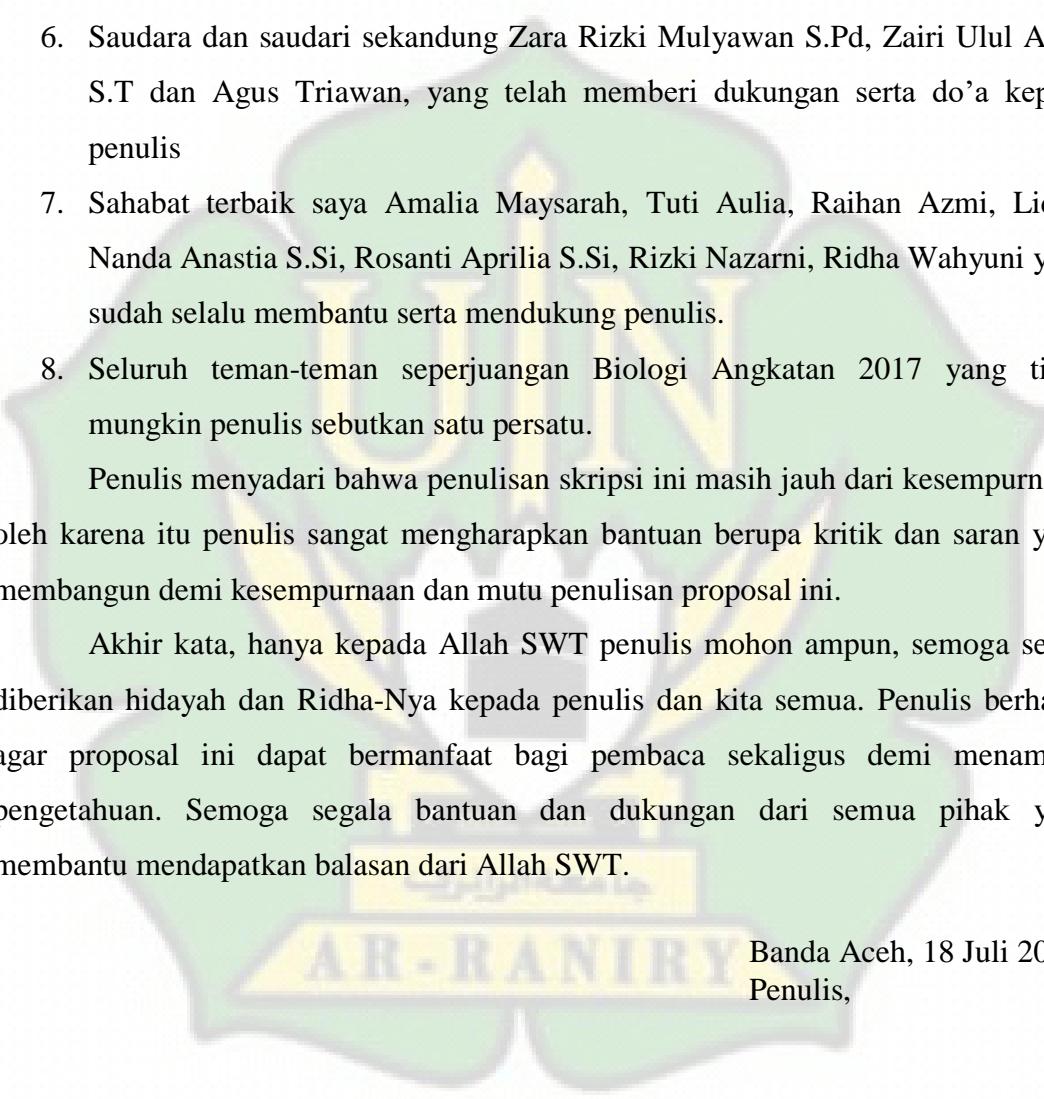
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan petunjuk-Nya dalam menyelesaikan penelitian skripsi dengan judul "**Uji Toksisitik Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) Yang Diekstrak Menggunakan Pelarut Berbeda Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).**" Shalawat dan salam penulis tujuhan kepada Nabi Muhammad SAW yang mencintai umatnya tanpa memilih dan persyaratan.

Terimakasih penulis ucapan yang setulus-tulusnya kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda tercinta Zainuddin dan Ibunda tercinta Rahimah S.Ag berkat keridhaan serta doa keduanya juga kasih sayang, perhatian moril maupun materil penulis bisa sampai pada titik ini. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, kesehatan, karunia dan keberkahan di dunia dan di akhirat atas budi baik yang diberikan kepada penulis.

Selama penyusunan penelitian skripsi ini, penulis mendapat banyak bantuan, bimbingan, pengarahan dan saran dari berbagai pihak baik itu dari pihak kampus maupun keluarga, dan teman-teman sekalian. Oleh sebab itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang setinggi-tingginya kepada:

1. Bapak Dr. Azhar Amsal, M.Pd selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.
2. Bapak Arif Sardi, M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.
3. Ibu Kamaliah, M.Si selaku Dosen Pembimbing I, memberi ilmu, saran, nasehat, motivasi serta dukungan kepada penulis.
4. Bapak Ilham Zulfahmi, M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing, memotivasi, memberi nasihat dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

- 
5. Seluruh Dosen Prodi Biologi Ibu Lina Rahmawati M.Si, Ibu Ayu Nirmala Sari M.Si, Ibu Syafrina Sari Lubis, M.Si, Ibu Diannita Harahap M.Si, Ibu Feizia Huslina, M.Sc, Ibu Raudhah Hayatillah M.Sc, Bapak Muslich Hidayat, M.Si, seluruh Dosen, Staf dan Asisten Laboratorium Program Studi Biologi yang telah mengajarkan saya ilmu pengetahuan dan pengalaman selama ini.
 6. Saudara dan saudari sekandung Zara Rizki Mulyawan S.Pd, Zairi Ulul Azmi S.T dan Agus Triawan, yang telah memberi dukungan serta do'a kepada penulis
 7. Sahabat terbaik saya Amalia Maysarah, Tuti Aulia, Raihan Azmi, Lidya, Nanda Anastia S.Si, Rosanti Aprilia S.Si, Rizki Nazarni, Ridha Wahyuni yang sudah selalu membantu serta mendukung penulis.
 8. Seluruh teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2017 yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan bantuan berupa kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan dan mutu penulisan proposal ini.

Akhir kata, hanya kepada Allah SWT penulis mohon ampun, semoga selalu diberikan hidayah dan Ridha-Nya kepada penulis dan kita semua. Penulis berharap agar proposal ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekaligus demi menambah pengetahuan. Semoga segala bantuan dan dukungan dari semua pihak yang membantu mendapatkan balasan dari Allah SWT.

Banda Aceh, 18 Juli 2021
Penulis,

Zultira Harina Roza

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI | i |
| LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/SKRIPSI | ii |
| ABSTRAK | iv |
| KATA PENGANTAR..... | vi |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR GAMBAR..... | x |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| I.1 Latar Belakang | 1 |
| I.2 Rumusan Masalah | 3 |
| I.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| I.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| II.1 Morfologi Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) | 5 |
| II.2 Klasifikasi Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) | 7 |
| II.3 Kandungan Senyawa Bioaktif Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) | 8 |
| II.4 Uji Toksisitik Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) | 9 |
| II.5 <i>Artemia salina</i> Leach | 10 |
| II.5.1 Klasifikasi <i>Artemia salina</i> Leach | 11 |
| II.5.2 Siklus Hidup <i>Artemia salina</i> Leach | 12 |
| II.6 Pelarut Ekstraksi | 13 |
| II.6.1 Etanol | 13 |
| II.6.2 Etil Asetat | 14 |
| II.6.3 N-Heksana | 14 |
| | |
| BAB III METODE PENELITIAN | 16 |
| III.1 Waktu dan Tempat Penelitian | 16 |
| III.2. Jadwal Pelaksanaan Penelitian | 16 |
| III.4 Alat dan Bahan | 17 |
| III.4.1. Alat | 17 |
| III.4.2 Bahan | 17 |
| III.5 Rancangan Penelitian | 17 |
| III.6. Prosedur Kerja | 18 |
| III.6.1. Koleksi dan Preparasi Sampel Daun Bakau Kurap | 18 |
| III.6.2. Penetasan Larva <i>Artemia salina</i> Leach | 18 |
| III.6.3. Pembuatan Larutan Uji | 19 |
| III.6.4. Uji Toksisitik dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| III.6.5. Identifikasi Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS)..... | 19 |
| III.6.6. Analisis Data | 20 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 21 |
| IV.1 Hasil Penelitian | 21 |
| IV.1.1. Estrak Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>)..... | 21 |
| IV.1.2. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)..... | 21 |
| IV.1.3 Hasil LC50 | 24 |
| IV.1.4 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder | 25 |
| IV.2 Pembahasan..... | 32 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 36 |
| V.1 Kesimpulan..... | 36 |
| V.2 Saran..... | 36 |
| DAFTAR PUSTAKA | 37 |
| LAMPIRAN..... | 48 |
| RIWAYAT HIDUP | 61 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|--------------|--|----|
| Gambar II. 1 | Morfologi <i>Rhizophora mucronata</i> | 7 |
| Gambar II. 2 | <i>Artemia salina</i> Leach..... | 11 |
| Gambar II. 3 | Siklus Hidup Artemia salina Leach..... | 12 |
| Gambar IV.1 | Persentase mortalitas <i>Artemia salina</i> selama uji toksisitas menggunakan ekstrak bakau kurap dengan variasi pelarut dan konsentrasi. (A) Pelarut etanol, (B) Pelarut Etil Asetat, (C) Pelarut N-Heksana, (D) Pelarut Akuades..... | 24 |
| Gambar IV.2 | Pola kromatogram GC-MS daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) ekstrak N Heksana | 29 |
| Gambar IV.3 | Pola kromatogram GC-MS daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) ekstrak Etanol | 31 |
| Gambar IV.4 | Pola kromatogram GC-MS daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) ekstrak Etil Asetat..... | 32 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel III.1 Rincian Jadwal Penelitian | 16 |
| Tabel IV.1 Rendemen Daun Bakau Kurap yang di Maserasi Dengan Pelarut Berbeda..... | 21 |
| Tabel IV.2 Nilai LC50 ₂₄ jam daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) yang diekstrak dengan pelarut berbeda terhadap <i>Artemia salina</i> Leach | 25 |
| Tabel IV.3 Hasil identifikasi GC-MS pada ekstrak daun Bakau kurap dengan pelarut N-Heksana..... | 27 |
| Tabel IV.4 Hasil identifikasi GC-MS pada ekstrak daun Bakau kurap dengan pelarut Etanol | 29 |
| Tabel IV.5 Hasil identifikasi GC-MS pada ekstrak daun Bakau kurap dengan pelarut Etil Asetat..... | 29 |
| Tabel IV.6 Similaritas senyawa yang terdapat pada ekstrak daun Bakau kurap yang diekstrak dengan pelarut Etanol, Etil asetat dan N-Heksana..... | 30 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1 : Surat Keterangan Pembimbing Skripsi | 61 |
| Lampiran 2 : Surat Izin Penelitian | 62 |
| Lampiran 3 : Dokumentasi Kegiatan | 63 |
| Lampiran 4 : Tabel Analisi Statistik Mortalitas | 70 |
| Lampiran 5 : Pembuatan Larutan Uji..... | 72 |
| Lampiran 6 : Daftar Riwayat Hidup..... | 74 |



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

| | | |
|------------------|---|----|
| BSLT | : <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> | 3 |
| LC ₅₀ | : <i>Lethal Concentration</i> | 4 |
| GCMS | : <i>Gas Chromatography and Mass Spectrometry</i> | 20 |
| DMSO | : <i>Dimetilsulfoksida</i> | 20 |
| MTT | : <i>Microculture Tetrazolium Technique</i> | 38 |



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) merupakan salah satu jenis mangrove sejati yang banyak dijumpai di pesisir pantai beriklim tropis dan subtropis termasuk Indonesia (Kumari *et al.*, 2015). *Rhizophora mucronata* termasuk ke dalam family *Rhizophoraceae* yang banyak di jumpai pada daerah berpasir dan pasang surut air laut (Poedjiraharjo, et al., 2011). Umumnya *Rhizophora mucronata* dapat tumbuh hingga ketinggian 27 m dan diameter 70 cm, batangnya berwarna kulit kayu yang gelap hingga hitaman serta terdapat celah horizontal. *Rhizophora mucronata* memiliki akar tunjang dan akar udara (Candrasyah, 2011). *Rhizophora mucronata* memiliki daun tunggal, bersilang berhadapan, berbentuk melebar, melonjong sampai menjorong, memiliki panjang daun 12-17 cm, lebar 5,5-10 cm. Permukaan atas daun berwarna hijau sampai hijau tua, sedangkan permukaan bawah daun berwarna hijau kekuningan dan terdapat berbintik-bintik hitam kecil (Ding Hou, 1958).

Yogananth *et al.*, (2015) melaporkan bahwa daun bakau kurap memiliki potensi sebagai antibakteri, anti jamur dan antivirus. Meskipun memiliki sifat antibakteri, anti jamur dan antivirus, ekstrak tumbuhan (termasuk bakau kurap) berpotensi memiliki sifat toksik yang dapat berdampak negatif terhadap biota akuatik (Baravalia *et al.*, 2012). Beberapa jenis senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi pada bakau kurap adalah polifenol, alkaloid, flavonoid, tanin terhidrolisis, triterpen, inositol, polisakarida, saponin, dan antosianidin (Anjaneyulu & Rao, 2001). Hasil penelitian. Senyawa flavonoid, tannin, saponin, steroid yang diekstrak dari berbagai tumbuhan dapat menyebabkan efek toksik pada ikan Zebra (*Danio rerio Hamilton*) (Chahardehi *et al.*, 2020). Duan *et al.*, (2018) juga melaporkan limbah yang mengandung senyawa fenol berpotensi menimbulkan efek toksik kepada organisme akuatik yang dapat menyebabkan kematian.

Pengujian sitotoksik perlu dilakukan dalam rangka memprediksi sifat toksik yang terkandung dalam senyawa tumbuhan baik terhadap material biologik maupun nonbiologik (Parasuraman, 2011). Uji toksisitas adalah kemampuan senyawa kimia

atau suatu molekul yang dapat menimbulkan kerusakan pada bagian yang peka baik di dalam tubuh maupun di luar tubuh makhluk hidup (Durham, 1975). Suatu senyawa yang tergolong beracun jika senyawa tersebut dapat menimbulkan efek yang merusak. Efek yang ditimbulkan sangat dipengaruhi oleh kadar toksik (racun) yang diberikan dengan melakukan pengukuran konsentrasi pada bahan uji yang dapat mempenagruhi organisme uji (Loomis, 1978; Ambara, 2007)

Brine shrimp (Artemia salina Leach) cytotoxicity assays (BSLT) merupakan salah satu metode pengujian kadar sitotoksik yang sering digunakan untuk menilai aktivitas farmakologi dan toksitas dari suatu ekstrak tumbuhan (Anderson *et al.*, 1988; McLaughlin, 1991; Parra *et al.*, 2001). Metode ini terus berkembang dan telah diaplikasikan lebih dari 20 tahun terakhir secara global. Menurut Harmita & Radji (2006), selain efektif, metode ini tergolong mudah diaplikasikan, cepat, dan murah. Berbagai ekstrak tumbuhan asli Indonesia yang telah diungkap tingkat toksitasnya menggunakan metode ini diantaranya umbi bawang tiwai (*Eleutherine bulbosa*) (Lestari *et al.*, 2019) daun manggis (*Garcinia mangostana L.*) (Pangow, 2018) dan alga merah (*Eucheuma spinosum*) (Hamrun *et al.* 2020). Disamping itu, nilai toksitas beberapa ekstrak jenis mangrove juga ikut dilaporkan sebelumnya meliputi *Avicennia marina*, *Xylocarpus granatum*, *Sonneratia alba* dan *Rhizophora mucronata* (Puspitasari & Rozirwan, 2018).

McLaughin *et al.*, (1991) menyatakan bahwa suatu ekstrak dikategorikan tidak toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} > 1000$, dikategorikan toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ dan di kategorikan sangat toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 30$. Hasil penelitian Ningdyah *et al.*, (2015) mengungkapkan bahwa kulit buah tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) yang diekstrak dengan pelarut etil asetat cenderung memiliki sifat toksik yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut n-heksana dan metanol.

Salah satu faktor yang mempengaruhi nilai toksitas suatu ekstrak tumbuhan yaitu pelarut yang digunakan. Hasil penelitian Ningdyah *et al.*, (2015) mengungkapkan bahwa kulit buah tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) yang diekstrak dengan pelarut etil asetat (semi polar) cenderung memiliki sifat toksik lebih tinggi

dibandingkan dengan pelarut methanol (polar) dan n-heksana (non polar). Sejauh ini, uji sitotoksik daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) menggunakan metode BSLT hanya terbatas pada pelarut polar yaitu methanol (Puspitasari & Rozirwan, 2018) dan etanol (Saragih *et al.*, 2020). Sementara itu, komparasi toksisitas ekstrak daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) dengan menggunakan pelarut berbeda lainnya seperti etanol (polar), etil asetat (semi polar), n-heksana (non polar) dan akuades (kontrol) masih belum diungkap. Sehingga, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji sitotoksik daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) yang diekstrak dengan menggunakan tiga pelarut berbeda (etanol, etil asetat, n-heksana dan akuades) menggunakan metode BSLT.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah ini sebagai berikut:

1. Berapakah nilai LC₅₀ pada pengujian toksisitik daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari pelarut etanol, etil asetat n-heksana dan akuades?
2. Apa saja senyawa metabolit yang terdapat di dalam pelarut yang memiliki nilai LC₅₀ yang paling tinggi?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah ini sebagai berikut:

1. Mengetahui nilai LC₅₀ pada pengujian toksisitik daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari pelarut etanol, etil asetat, n-heksana dan akuades
2. Mengetahui apa saja senyawa yang terdapat didalam pelarut yang memiliki nilai LC₅₀ yang paling tinggi.

I.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah memberi informasi ilmiah, pengetahuan serta gambaran kepada masyarakat luas tentang

penemuan senyawa aktif dan kadar toksik yang terdapat pada daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Morfologi Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) memiliki penyebaran yang paling luas dan memiliki tingkat toleransi terhadap substrat yang bertekstur keras dan berpasir (Noor *et al.*, 2006). *Rhizophora mucronata* adalah salah satu jenis tumbuhan yang dapat tumbuh dengan tegak dan menyebar luas pada berbagai tempat. Menurut Kusumastanto *et al.*, (2006), menyatakan bahwa jenis *Rhizophora* sp. merupakan salah satu ciri khas dan simbolis dari kawasan mangrove. Kawasan tersebut memiliki lingkungan yang luas dan dapat berkembang dengan pesat ke daerah pedalaman selama ketersediaan air asin terus berlangsung.

Rhizophora mucronata memiliki kesulitan untuk tumbuh dan berkembang pada wilayah yang berombak besar dan berpasir terjal serta dengan arus pasang surut yang kuat. Hal ini disebabkan oleh kondisi yang tidak memungkinkan untuk terjadinya pengendapan lumpur yang menjadi akan menjadi substrat sebagai tempat pertumbuhannya (Halidah, 2010). *Rhizophora mucronata* dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 27 m dan diameter 70 cm memiliki kulit kayu yang gelap sampai kehitaman serta terdapat celah horizontal. *Rhizophora mucronata* memiliki akar udara dan akar tunjang yang dapat tumbuh dari percabangan pada bagian bawah tubuh batangnya (Candrasyah, 2011).

Sudarmadji (2004) menyatakan bahwa *Rhizophora mucronata* memiliki sistem perakaran tunjang dan memiliki akar udara yang tumbuh dari percabangan bagian bawah tubuhnya, memiliki kulit batang yang kasar dan berwarna abu-abu kehitaman. *Rhizophora mucronata* memiliki batang dengan diameter hingga 70 cm dengan kulit batang berkayu yang berwarna gelap hingga kehitaman dan memiliki celah horizontal (Sosia *et al.*, 2014).

Rhizophora mucronata memiliki daun tunggal yang bersilang berhadapan, berbentuk lebar melonjong hingga menorong, memiliki panjang daun 12-17 cm dengan lebar 5,5-10 cm, pangkal daun membaji atau runcing, memiliki ujung daun yang tumpul atau runcing dengan duri (Mucronatus) sepanjang 0,7cm. Bagian atas

daun berwarna hijau hingga hijau tua, sedangkan bagian bawah daun berwarna hijau kekuning-kuningan dan terdapat bintik kecil yang berwarna hitam. Tangkai daun berwarna hijau dengan panjang 2-3 cm (Ding Hou, 1958; Backer & Bakhuizen, 1963). Perbungaan pada *Rhizophora mucronata* adalah menggarpu memiliki gagang yang berwarna hijau dengan panjang 2-5cm. Bunga *Rhizophora mucronata* berwarna hijau kekuningan sampai kecoklatan, memiliki panjang 1,2-1,7 cm dengan diameter 0,5-0,8 cm serta memiliki tangkai bunga dengan panjang kurang lebih 0,6 cm. Kelopak bunga berwarna hijau kekuning-kuningan hingga hijau kecoklat-coklatan serta memiliki 2 pasang cuping. Mahkota bunga berbulu dan berwarna putih, dengan 4 pasang benang sari yang berwarna coklat muda dan hijau muda.

Rhizophora mucronata memiliki buah dengan bentuk bulat telur memanjang berukuran 3,5-5 cm dan diameter sekitar 1,5-2,5 cm serta memiliki kulit buah yang bertekstur kasar berbiji tunggal dan berwarna kecoklatan. Memiliki hipokotil yang kasar dan berbentuk silindris, serta berintil. Leher kotiledon akan berwarna kekuningan ketika matang serta panjang hipokotil 26-70 cm dengan diameter 203 cm (Kusmana *et al.*, 2013; Sosia *et al.*, 2014).



Gambar II. 1 Morfologi *Rhizophora mucronata*

(Sumber: Noor, Khazali & Suryadiputra, 2012)

II.2 Klasifikasi Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Menurut Tomlinson (1986), Robertson & Alongi (1992) dan Sambamurty (2005), menyatakan klasifikasi dari bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) yaitu:

| | |
|----------|-----------------|
| Kerajaan | : Plantae |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Subkelas | : Rosidae |
| Ordo | : Rhizophorales |

| | |
|---------|-------------------------------|
| Famili | : Rhizophoraceae |
| Genus | : Rhizophora |
| Spesies | : <i>Rhizophora mucronata</i> |

II.3 Kandungan Senyawa Bioaktif Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) dikenal sebagai Bakau Asia yang tersebar luas di sepanjang pesisir pantai daerah tropis dan daerah sub-tropis. Saranraj & Sujitha (2015), menyatakan berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak mangrove berpotensi sebagai antimikroba, antivirus, antikanker, dan antidiabetes. Dari penelitian sebelumnya, tanaman mangrove terdiri dari beberapa metabolit sekunder seperti Alkaloid, Saponin, Tanin dan Flavonoid (Edu *et al.*, 2015).

Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa metabolit tersebut dapat digunakan sebagai agen antibakteri yang bekerja dengan cara yang berbeda. Alkaloid diidentifikasi dapat bertindak sebagai pengganggu untuk mengganggu pembentukan sel mati yang diinduksi. Senyawa alkaloid yang diekstrak dari tumbuhan cabai jawa (*Piper retrofractum*) dilaporkan juga efektif digunakan untuk mengendalikan populasi larva nyamuk (*Culex quinquefasciatus*) (Wiattanawanichakun *et al.*, 2018). Mulyani *et al.*, (2013) menyatakan daun Mangrove yang terdapat di Kabupaten Ciamis mengandung senyawa metabolit seperti saponin dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L.*).

Faisal *et al.*, (2016) melakukan pengujian tentang pengaruh penggunaan saponin dan serbuk biji pinang dengan dosis tinggi berhasil membunuh ikan lele dalam jangka waktu yang singkat dan biji pinang juga terdapat senyawa tanin yang bersifat toksik yang berpengaruh terhadap susunan saraf dan jaringan otak sehingga menganggu. Senyawa saponin juga digunakan oleh para nelayan untuk membasmikan ikan-ikan kecil sebagai hama pada tambak udang (Chaniago, 2003). Ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) mengandung metabolit sekunder seperti polifenol, alkaloid, flavonoid dan antrakinon yang berpotensi sebagai obat dan menghambat aktifitas bakteri yang terdapat pada ikan. Daun dan buah mengkudu juga dapat

menjadi pakan harian yang baik untuk ikan terutama pada ikan Nila, pemberian pakan secara berkala dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan dan dapat mengobati penyakit Harvest (Aisyah, 2012).

Oktaviani *et al.*, (2019) menanyatakan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tannin, terpenoid, steroid dan flavonoid yang terdapat didalam ekstrak daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) sangat berpotensi sebagai obat-obatan alami dalam bidang farmakologi, pada penelitian yang telah dilakukan daun Sambung Nyawa dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan kerapu macam (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal) dan mencegah dari serangan *Vibrio alginolyticus*. Kinasih *et al.*, (2013) melaporkan daun Babadota (*Ageratum conyzoides* Linn) mengandung senyawa Pirolizin alkaloida dengan struktur kimia berupa *Lycopsamin* dan *Echinatin*, yang telah dikembangkan menjadi pestisida alami meskipun masih dalam skala terbatas. Kedua senyawa tersebut bersifat toksik terhadap serangga *Lepidoptera*, larva nyamuk *Aedes aegypti* dan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn).

II.4 Uji Toksisitik Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji toksisitik merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan dari suatu senyawa kimia, baik senyawa kimia itu sendiri maupun yang terdapat di dalam bahan lainnya seperti pada bahan makanan. Uji toksisitik sendiri dapat diartikan sebagai pengkajian mekanisme efek toksik yang terdapat pada berbagai bahan tertentu terhadap makhluk hidup dan sistem biologinya (Setiasih *et al.*, 2016). Pengujian tersebut perlu dilakukan untuk memprediksi kadar kerusakan yang diakibatkan oleh senyawa terhadap material biologik maupun non biologik. Tujuan pengujian tersebut secara umum ditunjukan agar dapat diketahui efek yang tidak diinginkan oleh suatu obat terutama pada penyakit kanker, gangguan jantung, iritasi kulit dan mata (Parasuraman, 2011).

Uji pendahuluan toksisitik yang dilakukan pada senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak tanaman dan pengujian dilakukan dengan menggunakan hewan percobaan (hewan uji). Salah satu hewan yang digunakan dalam melakukan

pengujian senyawa aktif yaitu udang laut (*Brine shrimp*) atau *Artemia salina* Leach. Pada tahun 1755 *Artemia salina* Leach pertama kali ditemukan di Lymington, Inggris dan merupakan salah satu jenis udang purba. *Artemia salina* Leach tergolong kedalam phylum Arthropoda dan famili Crustacea (udang-udangan) tingkat rendah (Purwakusuma, 2007).

Pengujian dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pertama kali ditemukan pada tahun 1956 dan diperkenalkan oleh Michael *et al.* Metode tersebut diuji pada senyawa aktif yang terdapat didalam tumbuhan yang memiliki sifat toksik (racun) hingga dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach serta dapat digunakan sebagai pengujian praskrining aktivitas antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) juga menjadi salah satu metode yang digunakan untuk skrining tanaman herbal yang berpotensi sebagai anti kanker. Hal ini dikarenakan oleh metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dapat dengan mudah dikembangkan, tidak ada etika ataupun aturan tertentu dalam penggunaan bahan serta pengujian dilakukan dengan singkat dan lebih murah (Anderson, 1991).

Nilai mortalitas pada pengujian ditentukan dengan menggunakan analisis probit, nilai toksisitas pada pengujian ditentukan dengan menggunakan menggunakan *Lethal Concentration* (LC₅₀). Nilai LC₅₀ merupakan jumlah kadar senyawa aktif yang dapat menyebabkan kematian dari 50% hewan yang diuji dalam rentan waktu tertentu. LC₅₀ tidak berfokus pada kerusakan organ atau spesifik tertentu namun pada total kematian hewan yang diuji sehingga nilai LC₅₀ digunakan pada uji jangka pendek. Nilai LC₅₀ berfungsi untuk menghitung angka kematian *Artemia salina* Leach karena susunan pencernaannya yang tidak sulit serta tingkat sensitifitasnya yang cukup tinggi (Lu, 1995; Ningdyah, 2015).

II.5 *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach atau dikenal juga dengan udang laut (*Brine shrimp*) merupakan jenis udang purba yang diperkenalkan seorang ilmuan yang bernama Linnaeus pada tahun 1778. Awalnya udang laut tersebut bernama *Cancer salinus*, akan tetapi pada tahun 1819 namanya diubah menjadi *Artemia salina* oleh seorang

ilmuan yang bernama Leach hingga saat ini udang laut tersebut dikenal dengan nama *Artemia salina* Leach. *Artemia salina* Leach hidup di perairan sebagai zooplankton, habitatnya memiliki salinitas yang tinggi berkisar 15-300 ppt, suhu 25-30°C, pH 7,3-8,4 dan oksigen terlarut berkisar 3 mg/L (Mudjiman, 1995). *Artemia salina* Leach digunakan untuk menguji kadar toksitas senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan (Wilson *et al.*, 2018).

Artemia salina Leach digunakan sebagai hewan pengujian dikarenakan memiliki respon yang sama dengan mamalia terhadap senyawa kimia. Tipe DNA-dependant RNA polimerase pada *Artemia salina* memiliki kesamaan dengan tipe yang dimiliki oleh mamalia (Solis *et al.*, 1993). *Artemia salina* dikenal memiliki hubungan dengan screening senyawa potensial anti kanker. Hal ini dikarenakan kemiripan antara struktur RNA polimerase II pada *Artemia salina* dengan RNA polimerasi II pada sel HeLa (sel epitel yang berasal dari kanker serviks) (Aqiila *et al.*, 2017).



Gambar II. 2 *Artemia salina* Leach

(Sumber : *Image Library of Animals in Action*)

II.5.1 Klasifikasi *Artemia salina* Leach

Mudjiman (1995); Kawar (2007), menyatakan klasifikasi *Artemia salina* Leach adalah:

Kerajaan : Animalia

Filum : Arthropoda

Kelas : Crustacea

Ordo : Anostraca

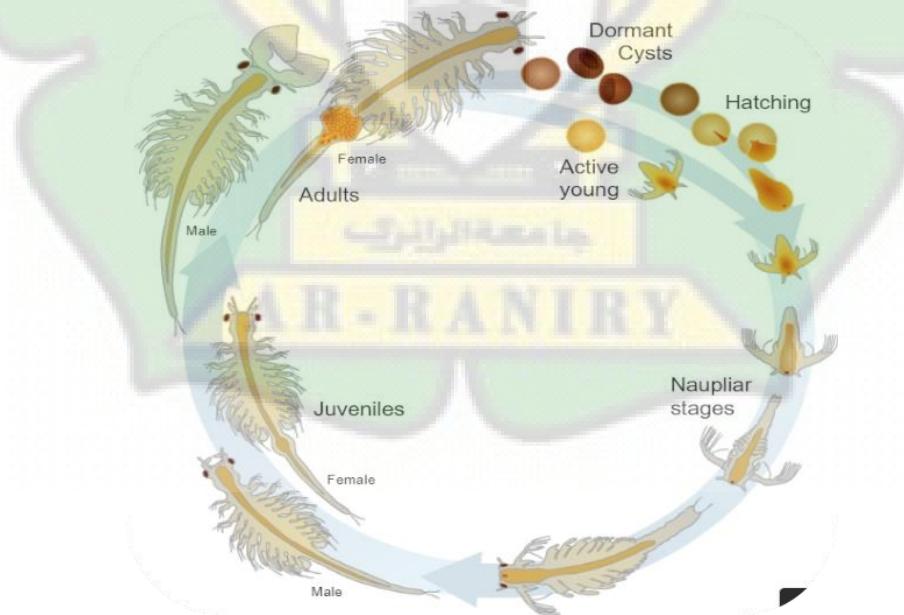
Famili : Artemidae

Genus : Artemia

Spesies : Artemia salina Leach

II.5.2 Siklus Hidup *Artemia salina* Leach

Bentuk morfologi dari larva *Artemia salina* Leach akan berganti sesuai dengan fase pada siklus hidupnya. *Artemia salina* Leach pada umumnya terdapat 3 tahapan pada siklus hidupnya, telur, larva (*Nauplii*) dan *Artemia salina* Leach dewasa (*Adult*). Telur (*Kista*) *Artemia salina* Leach berbentuk bulat, memiliki ukuran 0,2 mm-0,3 mm. Selanjutnya telur yang keluar dari cangkangnya akan menjadi larva (*Nauplii*). Telur *Artemia salina* Leach yang berkualitas bagus akan menetas selama 18-24 jam setelah dimasukkan kedalam air laut atau air yang memiliki salinitas yang tinggi (Reskianingsih, 2014).



Gambar II. 3 Siklus Hidup *Artemia salina* Leach

(Sumber : Genetic Science Learning Center, 2014)

Perkembangbiakan *Artemia salina* Leach terbagi menjadi 2 golongan, yaitu secara partenogenetik dan biseksual. Kedua cara tersebut dapat terjadi secara ovipar maupun ovovipar. Perkembangbiakan dengan ovovipar, anak yang dikeluar dari dalam tubuh induknya bernama larva (*Nauplii*), larva tersebut dapat langsung hidup sebagai *Artemia salina* Leach dewasa (Reskianingsih, 2014; Aguwitasari, 2020). Sedangkan perkembangbiakan secara ovipar, induk artemia akan mengeluarkan telur yang bercangkang tebal yang disebut *Siste* (Kista dorman). Untuk menjadi larva, telur tersebut akan melalui proses penetasan terlebih dahulu. *Siste* yang terlindungi dengan cangkang tebal dan kuat dapat menetas dalam waktu 24-35 jam pada suhu 25°C dan pada salinitas yang rendah serta pH sekitar 8 (Kanwar, 2007).

Sepanjang perkembangan hidupnya naupli akan mengalami perubahan bentuk hingga 15 kali dari instar 1-15. Proses daur hidup *Artemia salina* Leach dari telur (*Siste*/kista dorman), nauplius, dan *Artemia salina* Leach dewasa mencapai 1-3 minggu. *Artemia salina* Leach dapat tumbuh dewasa hanya dalam 8 hari dengan kondisi air yang hangat, makanan berlimpah, dan kadar oksigen tinggi apabila kondisi tidak ideal dapat membutuhkan waktu hingga 6 minggu (Mudjiman, 1989).

Bentuk naupli dari *Artemia salina* Leach terdapat antena kecil, antena besar, mandibula, serta mata. *Artemia salina* Leach dewasa memiliki panjang 1 cm dan berat 10 mg serta bagian tubuhnya terdiri dari mandibula, labrum, mata nauplius, antena, antenula, mata majemuk, kaki torakopoda (11 pasang), kantong telur, ekor, dan furka. *Artemia salina* Leach dewasa akan bereproduksi setiap 4-5 hari sekali dan dapat hidup hingga 6 bulan (Mudjiman, 1989; Jacub, 2019).

II.6 Pelarut Ekstraksi

II.6.1 Etanol

Etanol merupakan pelarut organik yang sama seperti senyawa fitosterol yang tersusun dari atom C, O, dan H. Etanol bersifat polar yang memiliki nilai konstanta dielektrik yang lebih kecil dari pada air, akan tetapi dengan adanya gugus OH pada etanol yang dapat berikatan hydrogen dengan gugus OH pada senyawa fitosterol (Jannah *et al.*, 2019). Etanol dapat digunakan sebagai salah satu pelarut untuk

ekstraksi karena bersifat polar yang dapat menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar. Etanol memiliki indeks polaritas sebesar 5.2 dan memiliki titik didih 78.5°C (Snyder, 1997; Padmasari *et al.*, 2013). Etanol juga memiliki kepolaran yang cukup tinggi sehingga dengan mudah untuk melarutkan senyawa resin, lemak, asam lemak, karbohidrat, minyak dan senyawa organic lainnya (Jannah *et al.*, 2019).

II.6.2 Etil Asetat

Etil asetat merupakan senyawa aromatic yang memiliki sifat semipolar dengan rumus $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC(O)CH}_3$ sehingga dapat mengekstrak senyawa yang bersifat polar dan nonpolar (Snyder, 1997; Putri *et al.*, 2013). Karena memiliki sifat semipolar, etil asetat menjadi pelarut volatile dan dapat mudah terbakar, sehingga penguapannya dilakukan tanpa pemanasan. Etil asetat juga dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid, tidak beracun dan higroskopis. Selain itu, etil asetat digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menemukan senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri seperti flavonoid, polihidroksi dan fenol (Wardhani & Susistyani, 2012)

II.6.3 N-Heksana

N-Heksana merupakan salah satu pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar karena n-heksana memiliki beberapa kelebihan, diantaranya yaitu bersifat selektif, stabil, serta menghasilkan jumlah kecil lilin, albumin dan zat warna (Geunther, 1987; Wahdaningsih *et al.*, 2014). N-Heksana juga mudah menguap, selektif dalam menguapkan zat, mengekstrak zat pewangi dalam jumlah besar (Munawaroh & Handayani, 2010), karbohidrat ikut terekstrak, sehingga menyebabkan total fenol per berat sampai menjadi rendah (Astriani *et al.*, 2017).

II.6.4 Akuades

Akuades merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan dengan hampir semua pelarut lain dan akuades adalah pelarut yang umum digunakan dalam tahapan ekstraksi. senyawa yang dapat terlarut dalam akuades meliputi semua senyawa organik netral yang memiliki gugus fungsional polar seperti glukosa, alkohol, aldehida dan keton. Kelarutannya disebabkan oleh kecenderungan molekul akuades untuk membentuk ikatan hydrogen dengan gugus hidroksil glukosa dan alkohol atau gugus karbonil aldehida dan keton (Adani & Pujiastuti, 2018). Akuades juga memiliki polaritas yang tinggi sehingga memberi rendemen paing rendah dibandingkan dengan ekstrak pelarut lain. Hal ini di sebabkan oleh karbohidrat ikut terekstrak, sehingga menyebabkan total fenol per berat sampai menjadi rendah (Astriani *et al.*, 2017)

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksakan selama bulan Oktober 2021. Sampel daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) dilakukan di Alue Naga, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh (5.59°98'4''LU, 95.35°25'9'' BT). Penelitian dan preparasi sampel dilakukan di laboratorium Ekologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-raniry Banda Aceh. Ekstraksi sampel daun Bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) dilakukan di Laboratorium Farmokologi Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, dan uji GC-MS dilakukan di Laboratorium Teknik Pengujian Kualitas Lingkungan, Fakultas Teknik Kimia Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

III.2. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Berdasarkan pelaksanaan penelitian, berikut ini merupakan tabel rincian waktu penelitian:

Tabel III. 1 Rincian Jadwal Penelitian

| No. | Kegiatan | Bulan | | | | | | | | | | | |
|-----|---|---------|---|---|---|----------|---|---|---|----------|---|---|---|
| | | Oktober | | | | November | | | | Desember | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1. | Koleksi dan Preparasi Sampel Daun Bakau kurap | | 1 | | | | | | | | | | |
| 2. | Penetasan Larva <i>Artemia salina</i> Leach | | | 1 | | | | | | | | | |
| 3. | Pembuatan Larutan Uji | | | 1 | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 4. | Uji Toksisitik dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) | | | | | | | | | | | |
| 5. | Identifikasi Gas <i>Chromatography and Mass Spectrometry</i> (GC-MS) | | | | | | | | | | | |
| 6. | Analisis Data | | | | | | | | | | | |

III.4 Alat dan Bahan

III.4.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, blender, lampu neon 40 watt, vial, ayakan, tabung piala, toples, *Vacum rotary evaporator*, penangas, wadah plastik, aerator, selang aerator, spatula, batang pengaduk, corong, mikropipet, timbangan analitik, beaker gelas, gelas ukur, labu ukur, dan GCMS (Shimadzu QP2010 SE).

III.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*), *Artemia salina*, etanol 98%, etil asetat, n-heksana, air laut, akuades dan larutan DMSO (Dimetilsulfoksida).

III.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode metode BSLT. Tahapan penelitian meliputi preparasi sampel daun Bakau kurap (*Rhizophora mucronata*), ekstraksi sampel, penetasan larva udang (*Artemia salina* Leach), pembuatan larutan uji, uji toksisitas pada larva udang, dan identifikasi GC- MS.

III.6. Prosedur Kerja

III.6.1. Koleksi dan Preparasi Sampel Daun Bakau Kurap

Sebanyak 2 kg sampel daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) segar diperoleh dari wilayah pesisir Alue Naga, Kota Banda Aceh. Daun sampel kemudian dibersihkan dan digunting berukuran kecil. Selanjutnya daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam suhu ruangan selama 7 hari. Daun bakau kurap kering kemudian dihaluskan dengan blender dan disaring menggunakan ayakan hingga didapat serbuk halus kering (Rohmah & Wulandari, 2019)

Tahapan ekstraksi diawali dengan memasukkan serbuk daun bakau kurap ke dalam 5 tabung piala masing-masing sebanyak 100 g dan dimaserasi dengan pelarut berbeda yaitu etanol, etil asetat, n-hexana (*Pure analysis Merck*) dan akuades masing masing sebanyak 1 L (perbandingan 1:10) selama 24 jam. Hasil rendaman disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Perendaman dilakukan sebanyak dua kali sampai filtrat mendekati jernih (Ayyida, 2014). Filtrat hasil dari meserasi digabung dan diuapkan pelarutnya menggunakan *Vacum rotary evaporator* (Buchi R300; Switzerland) pada suhu mendekati titik didih dari masing-masing pelarut (etanol: 78.37°C, etil asetat: 77.1°C, n-heksana 69°C dan akuades 100°C) sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang sudah didapat kemudian diuapkan diatas penangas air pada suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak kental kering (Bertomi, 2010).

III.6.2. Penetasan Larva *Artemia salina* Leach

Telur *Artemia salina* Leach diperoleh dari pedagang ikan hias lokal yang berlokasi di Kecamatan Baiturrahman, Kota Banda Aceh. Penetasan telur *Artemia salina* mengacu pada protokol Lestari *et al.*, (2019). Secara singkat, telur *Artmeia salina* dengan berat 50-150 mg direndam dalam aquades selama kurang lebih 1 jam. Selanjutnya telur disaring dan ditetaskan dalam wadah plastik bervolume 500 ml air laut steril (salinitas 30 ppt, pH 7-8, suhu 28-29°C) serta dilengkapi dengan aerasi dan lampu penerangan 40 Watt (24 jam). Telur *Artemia salina* dibiarkan selama 36-48 jam hingga menetas menjadi *nauplii*. Larva *Artemia salina* yang sudah berumur 48

jam dan memiliki pergerakan aktif akan dipilih untuk digunakan dalam pengujian (Leboe *et al.*, 2018).

III.6.3. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak kering yang didapat pada tahapan meserasi, ditimbang masing-masing sebanyak 2 g dan ditempatkan pada labu erlenmeyer 1 L. Masing-masing ekstrak dilarutkan dengan beberapa ml air laut steril (pelarut standar). Jika ekstrak tersebut tidak larut maka ditambahkan DMSO beberapa tetes, akan tetapi tidak melebihi 0,5 μ L. Setelah dihomogekan, ditambahkan air laut steril hingga 1 L kemudian digunakan sebagai larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm. Dari larutan induk tersebut dibuat variasi konsentrasi di dalam vial yaitu 100, 250, 500 dan 1000 ppm. (Vitalia *et al.*, 2016).

III.6.4. Uji Toksisitik dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Sebanyak masing masing 20 ekor larva *Artemia salina* dimasukkan ke dalam vial berisi ekstrak dengan konsentrasi 100, 250, 500 dan 1000 ppm sebanyak 10 mL (Sangi *et al.*, 2012). Vial-vial pengujian kemudian diletakkan pada tempat yang mendapatkan penerangan (lampu 40 Watt) selama 24 jam, dengan kisaran suhu ruangan 28°C-29°C. Setiap konsentrasi dari masing-masing pelarut dilakukan 5 kali pengulangan. Pengamatan mortalitas (ditandai dengan tidak adanya pergerakan selama beberapa detik observasi dan cenderung berada pada dasar wadah) dilakukan setiap 6 jam selama 24 jam (Ramadhani, 2009).

III.6.5. Identifikasi Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS)

Kandungan senyawa metabolik sekunder pada masing masing ekstrak diidentifikasi dengan menggunakan GCMS (Shimadzu QP2010 SE) pada kolom Rx-1ms kondisi suhu oven (50°C-290°C), Interface (290°C), Kontrol mode (split), tekanan (20.8 psi), total flow (23.7 ml/min), split ration: (200:1), split flow (199 ml/min), gas pembawa (Helium), dan detector (MSD) (Sukadar *et al.* 2008).

III.6.6. Analisis Data

Data persentase kematian *Artemia salina* antar pelarut disajikan dalam bentuk nilai rata-rata dan standar deviasi. Nilai LC_{50-24jam} untuk masing-masing pelarut ditentukan menggunakan analisis probit (*probability unit*). Signifikansi mortalitas *Artemia salina* antar pelarut pada jam ke-24 diukur menggunakan anova satu arah pada selang kepercayaan 95% ($P < 0.05$). Analisis probit dan anova dilakukan dengan bantuan perangkat lunak SPSS. Kandungan senyawa metabolik sekunder pada masing masing ekstrak disajikan dan dianalisis secara deskriptif.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1. Estrak Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Jumlah rendemen daun bakau kurap yang dihasilkan dari masing-masing pelarut yaitu 14.7 g (14.7%) untuk etanol, 4.4 g (4.4%) untuk etil asetat dan 1.92 g (1.92%) untuk n-heksana dan (Tabel 4.1). Ekstrak daun bakau kurap menggunakan pelarut etanol dan etil asetat memiliki tekstur kental dan berwarna hijau pekat. Sementara itu, ekstrak daun bakau kurap menggunakan pelarut n-heksana memiliki tekstur kental, berminyak dan berwarna hijau pekat.

Tabel IV. 1 Rendemen Daun Bakau Kurap yang di Maserasi Dengan Pelarut Berbeda

| Pelarut | Serbuk (gr) | Ekstrak (gr) | Rendemen (%) |
|-------------|-------------|--------------|--------------|
| Etanol | 100 | 14.7 | 14.7 |
| Etil Asetat | 100 | 4.4 | 4.4 |
| N-Heksana | 100 | 1.92 | 1.92 |
| Akuades | 100 | 11.17 | 11.17 |

IV.1.2. Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Laju mortalitas *Artemia salina* akibat paparan ekstrak daun Bakau Kurap antar pelarut (etanol, n-heksana dan etil asetat) dengan konsentrasi 100 ppm pada jam ke-6 memiliki nilai yang sama yaitu masing-masing sebesar 5% sedangkan pada pelarut akuades tidak terjadi kematian. Peningkatan mortalitas *Artemia salina* tertinggi pada jam 12, 18 dan 24 terjadi pada pelarut n-heksana yaitu mencapai $10\pm3.54\%$, $23\pm4.47\%$ dan $43\pm7.58\%$. Mortalitas komulatif *Artemia salina* pada jam ke-24 untuk masing-masing pelarut yaitu $36\pm4.18\%$ (etanol), $35\pm6.12\%$ (etil asetat), $43\pm7.58\%$ (n-heksana) dan 5 ± 0 (akuades) (Gambar IV.1). Tidak ditemukan perbedaan yang signifikan terhadap nilai mortalitas *Artemia salina* akibat paparan ekstrak daun

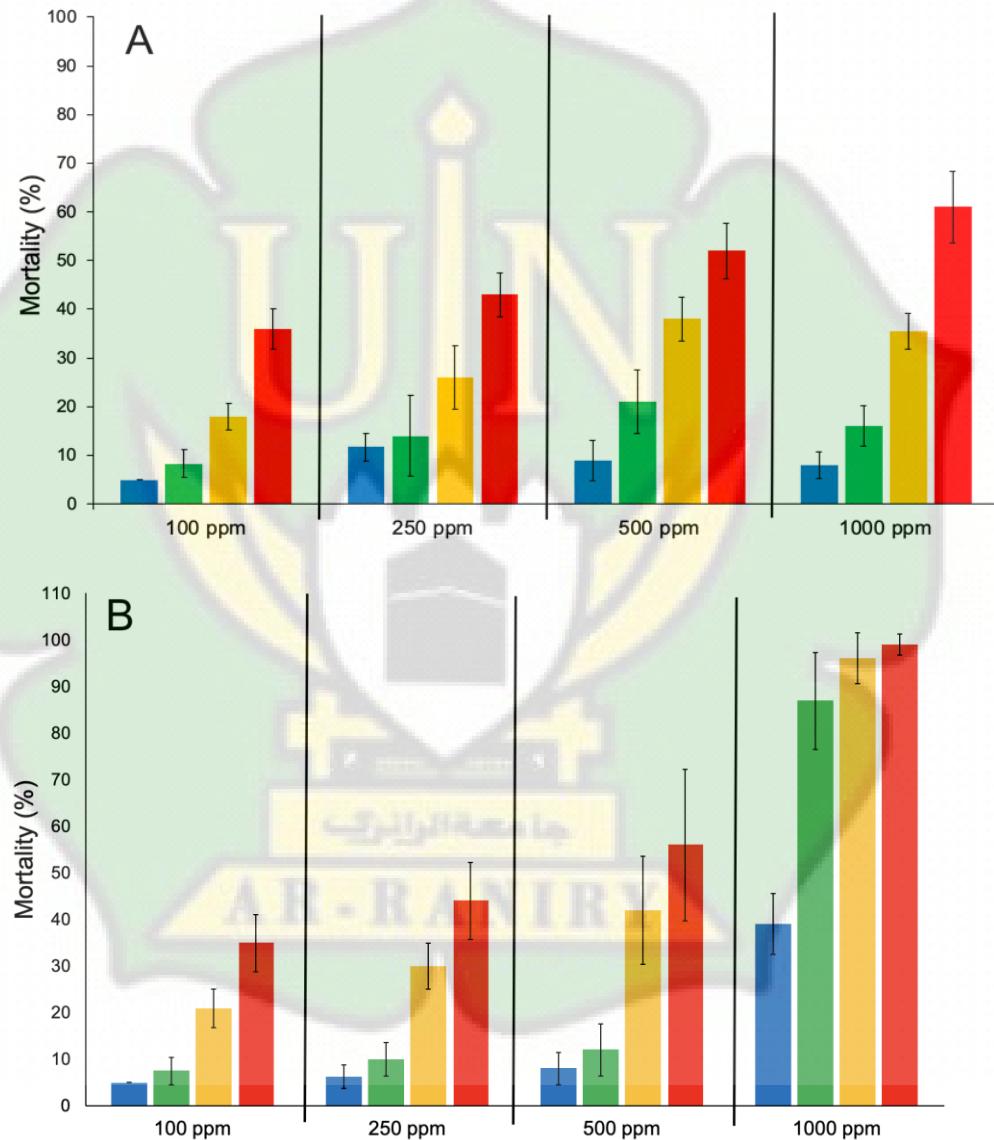
bakau kurap menggunakan pelarut etanol, n-heksana dan etil asetat dengan konsentrasi 100 ppm hingga jam ke-24 ($p> 0.05$) (Tabel IV.2).

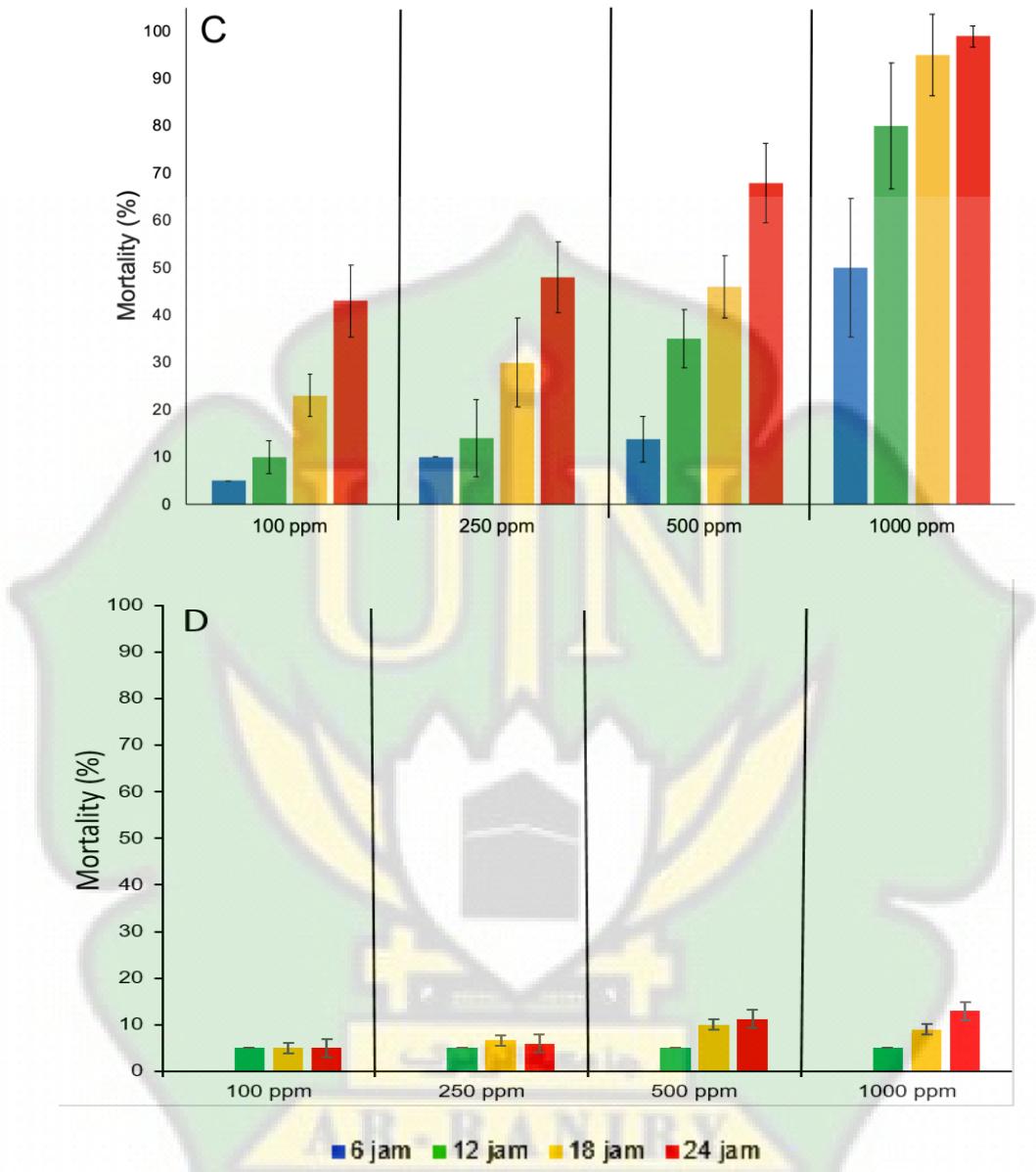
Laju mortalitas *Artemia salina* dengan konsentrasi 250 ppm antar pelarut (etanol, n-heksana dan etil asetat) pada jam ke-6 yaitu masing-masing $11.67\pm2.89\%$, $10\pm0\%$, $6.25\pm2.5\%$ sedangkan pada pelarut akuades tidak terjadi kematian (Gambar 4.1). Peningkatan mortalitas *Artemia salina* tertinggi pada jam 12, 18 dan 24 terjadi pada pelarut n-heksana yaitu mencapai $14\pm8.22\%$, $30\pm9.35\%$ dan $48\pm7.58\%$. Mortalitas komulatif *Artemia salina* pada jam ke-24 untuk masing-masing pelarut yaitu $43\pm4.43\%$ (etanol), $42\pm8.37\%$ (etil asetat), $48\pm7.58\%$ (n-heksana) dan 6 ± 2.24 (akuades). Tidak ditemukan perbedaan yang signifikan terhadap nilai mortalitas artemia akibat paparan ekstrak daun bakau kurap menggunakan pelarut etanol, n-heksana dan etil asetat dengan konsentrasi 250 ppm hingga jam ke-24 ($p> 0.05$) (Tabel IV.2).

Pada konsentrasi 500 ppm laju mortalitas *Artemia salina* antar pelarut (etanol, n-heksana dan etil asetat) pada jam ke-6 yaitu masing-masing $9\pm4.18\%$, $13.75\pm4.79\%$, $8\pm3.46\%$ sedangkan pada pelarut akuades tidak terjadi kematian. Peningkatan mortalitas *Artemia salina* tertinggi pada jam 12, 18 dan 24 tetapi terjadi pada pelarut n-heksana yaitu mencapai $35\pm6.12\%$, $46\pm6.52\%$ dan $68\pm8.37\%$. Mortalitas komulatif *Artemia salina* pada jam ke-24 untuk masing-masing pelarut yaitu $52\pm5.70\%$ (etanol), $56\pm16.36\%$ (etil asetat) $68\pm8.37\%$ (n-heksana) dan 11.24 ± 4.79 (akuades) (Gambar 4.1). Analisis statistik menunjukkan adanya signifikansi terhadap nilai mortalitas *Artemia salina* akibat paparan ekstrak daun bakau kurap menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat dibandingkan dengan pelarut etanol pada konsentrasi 500 ppm di jam ke-24 ($p< 0.05$) (Tabel IV.2).

Laju mortalitas *Artemia salina* akibat paparan ekstrak daun Bakau Kurap antar pelarut (etanol, n-heksana dan etil asetat) dengan konsentrasi 1000 ppm pada jam ke-6 yaitu masing-masing $8\pm2.74\%$, $50\pm14.58\%$, $39\pm6.52\%$ sedangkan pada pelarut akuades tidak terjadi kematian. Peningkatan mortalitas *Artemia salina* tertinggi pada jam 12, 18 dan 24 terjadi pada pelarut etil asetat yaitu mencapai $87\pm10.37\%$, $96\pm5.48\%$ dan $99\pm2.24\%$. Mortalitas komulatif *Artemia salina* pada jam ke-24 untuk

masing-masing pelarut yaitu $61\pm7.42\%$ (etanol), $99\pm2.24\%$ (etil asetat) $99\pm2.24\%$ (n-heksana) dan 13 ± 3.08 (akuades) (Gambar IV.1). Analisis statistik menunjukkan adanya signifikansi terhadap nilai mortalitas *Artemia salina* akibat paparan ekstrak daun bakau kurap menggunakan pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut n-heksana dan etil asetat pada konsentrasi 1000 ppm di jam ke-24 ($p< 0.05$) (Gambar IV.1).





Gambar IV. 1 Persentase mortalitas *Artemia salina* selama uji toksisitas menggunakan ekstrak bakau kurap dengan variasi pelarut dan konsentrasi. (A) Pelarut etanol, (B) Pelarut Etil Asetat, (C) Pelarut N-Heksana, (D) Pelarut Akuades

IV.1.3 Hasil LC50

Nilai LC₅₀-24 jam terendah diperoleh pada daun bakau kurap yang diekstrak menggunakan pelarut n-heksana diikuti dengan pelarut etil asetat dan pelarut etanol

yaitu masing-masing sebesar 180.310 ppm, 243.551 ppm dan 402.450 ppm. Berdasarkan klasifikasi toksisitas ketiga ekstrak tersebut termasuk kedalam kategori toksik (Meyer *et al.*, 1982). Nilai LC₅₀-24 jam tertinggi diperoleh pada daun bakau yang diekstrak menggunakan pelarut akuades yaitu sebesar 31984.781 dan termasuk kedalam kategori tidak toksik (Meyer *et al.*, 1982). (Tabel IV.2)

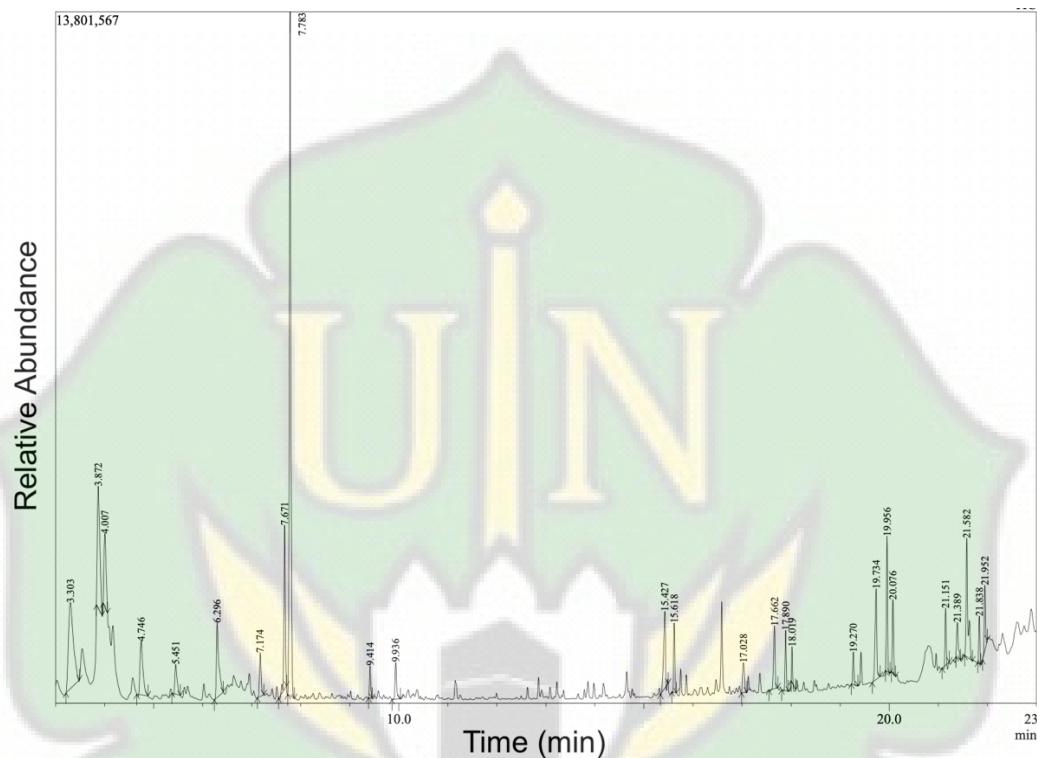
Tabel IV. 2 Nilai LC₅₀-24 Jam Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) yang Diekstrak dengan Pelarut Berbeda Terhadap *Artemia salina* Leach

| Pelarut | Mortalitas Artemia salina (%) | | | | LC ₅₀ -24 Jam ppm |
|-------------|-------------------------------|-----------|--------------|-----------|---------------------------------|
| | 100 ppm | 250 ppm | 500 ppm | 1000 ppm | |
| Akuades | 5 ± 0 | 6 ± 2.24 | 11.24 ± 4.79 | 13 ± 3.08 | 31984.781 |
| Etanol | 36 ± 4.18 | 43 ± 4.47 | 52 ± 5.70 | 61 ± 7.42 | 402.45 |
| Etil Asetat | 35 ± 6.12 | 42 ± 8.37 | 56 ± 16.36 | 99 ± 2.24 | 243.551 |
| N-Heksana | 43 ± 7.58 | 48 ± 7.58 | 68 ± 8.37 | 99 ± 2.24 | 180.31 |

IV.1.4 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder

Sebanyak 26 senyawa metabolik sekunder berhasil teridentifikasi pada daun bakau kurap yang diekstrak menggunakan pelarut n-heksana. Sementara itu, daun bakau kurap yang diekstrak dengan pelarut etanol dan etil asetat hanya menghasilkan masing-masing 12 dan 13 senyawa metabolik sekunder. Golongan senyawa yang berhasil terindifikasi meliputi alkaloid (2-Pentanol, 2-methyl- (CAS) 2-Methyl-2-p., Cyclopentanol, 1-methyl-, 2-Hexen-1-ol,(E)-(CAS)trans-2-Hexen-1-, Tetradecanoic acid., Tetradecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl., Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Me., Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid., Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl., 1-Octadecene (CAS) alpha-Octadecene., Oleic Acid., dan Elaidic acid, (E)-9-Octadecenoic acid ethyl.,2-Pentanol, 2-methyl- (CAS) 2-Methyl-2-p., dan Cyclopentanol, 1-methyl-), lemak (1-Heneicosanol), lemak tak jenuh (Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid., dan Dodecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl la), Terpenoid (1,8-Cineole), minyak atsiri (Borneol L., dan 1-Heptadecene), zat kapur

(*Camphor*), dan golongan minyak terpentin (*Alpha.-Pinene*), keton (*2-Hexanone n-Butyl methyl ketone*), fenol (*Styrene Benzene, ethenyl-*, dan *Benzene, 1,3,5-trimethyl*- (CAS) *1,3,5-Tri*) (Tabel IV.3).



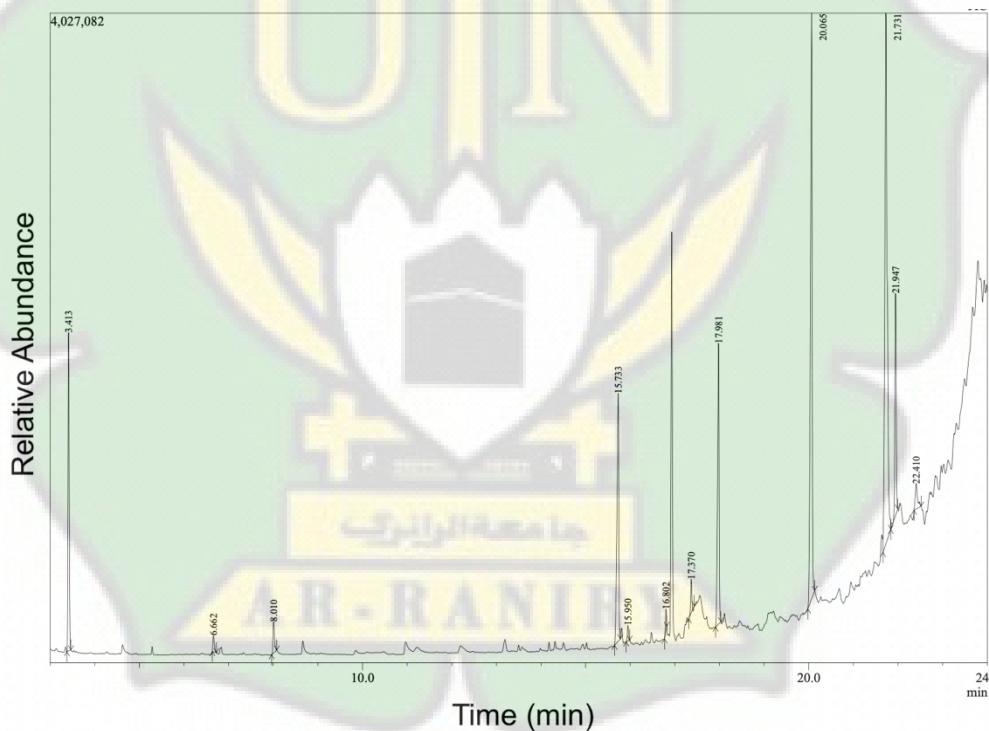
Gambar IV.2 Pola kromatogram GC-MS daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) ekstrak N-Heksana

Tabel IV. 3 Hasil Identifikasi GC-MS pada Ekstrak Daun Bakau Kurap dengan Pelarut N-Heksana

| Peak No. | R.Time | Area | Area (%) | Height | Height (%) | A/H | Compound Name | Secondary Metabolite Name |
|----------|--------|----------|----------|----------|------------|------|---|---------------------------|
| 1 | 3.303 | 12083470 | 10.33 | 1718295 | 3.60 | 7.03 | 2-Pentanol, 2-methyl- (CAS) 2-Methyl-2-p | Alkaloid |
| 2 | 3.872 | 8721684 | 7.45 | 2436692 | 5.11 | 3.58 | 2-Hexanone n-Butyl methyl ketone | Ketone |
| 3 | 4.007 | 4357983 | 3.72 | 1458529 | 3.06 | 2.99 | Cyclopentanol, 1-methyl- | Alkaloid |
| 4 | 4.746 | 4361698 | 3.73 | 1076554 | 2.26 | 4.05 | 2-Hexen-1-ol, (E)- (CAS) trans-2-Hexen-1- | Terpenoid |
| 5 | 5.451 | 1769678 | 1.51 | 586152 | 1.23 | 3.02 | Styrene Benzene, ethenyl- | Fenol |
| 6 | 6.296 | 5183841 | 4.43 | 1487122 | 3.12 | 3.49 | .ALPHA.-PINENE, | Minyak terpentine |
| 7 | 7.174 | 2083391 | 1.78 | 869760 | 1.82 | 2.40 | Benzene, 1,3,5-trimethyl- (CAS) 1,3,5-Tri | Fenol |
| 8 | 7.671 | 6406498 | 5.47 | 3269122 | 6.85 | 1.96 | 5-Hexen-2-one (CAS) Allylacetone | Alkaloid |
| 9 | 7.783 | 31024291 | 26.51 | 13652178 | 28.63 | 2.27 | 1,8-Cineole | Terpenoid |
| 10 | 9.414 | 1145290 | 0.98 | 641318 | 1.34 | 1.79 | Camphor | Zat kapur |
| 11 | 9.936 | 1608656 | 1.37 | 739347 | 1.55 | 2.18 | BORNEOL L | Minyak atsiri |
| 12 | 15.427 | 3814019 | 3.26 | 1530693 | 3.21 | 2.49 | Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid | Lemak tak jenuh |
| 13 | 15.618 | 2230270 | 1.91 | 1384576 | 2.90 | 1.61 | Dodecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl la | Lemak tak jenuh |
| 14 | 17.028 | 1544383 | 1.32 | 593163 | 1.24 | 2.60 | Benzene, (2-decyldodecyl)- (CAS) 11-Benz | Fenol |
| 15 | 17.662 | 2628818 | 2.25 | 1254610 | 2.63 | 2.10 | Tetradecanoic acid | Alkaloid |
| 16 | 17.890 | 1923169 | 1.64 | 1204368 | 2.53 | 1.60 | Tetradecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl | Alkaloid |
| 17 | 18.019 | 716729 | 0.61 | 718639 | 1.51 | 1.00 | 1-Heptadecene | Minyak atsiri |
| 18 | 19.270 | 1021873 | 0.87 | 646758 | 1.36 | 1.58 | Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Me | Alkaloid |
| 19 | 19.734 | 4377897 | 3.74 | 1812601 | 3.80 | 2.42 | Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid | Alkaloid |
| 20 | 19.956 | 4364227 | 3.73 | 2698716 | 5.66 | 1.62 | Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl | Alkaloid |
| 21 | 20.076 | 2450109 | 2.09 | 1464728 | 3.07 | 1.67 | 1-Octadecene (CAS) .alpha.-Octadecene | Alkaloid |
| 22 | 21.151 | 1583760 | 1.35 | 1136966 | 2.38 | 1.39 | Phytol | Terpenoid |
| 23 | 21.389 | 1620499 | 1.38 | 699532 | 1.47 | 2.32 | Oleic Acid | Alkaloid |
| 24 | 21.582 | 6158840 | 5.26 | 2366503 | 4.96 | 2.60 | Elaidic acid, (E)-9-Octadecenoic acid ethyl | Alkaloid |
| 25 | 21.838 | 1540416 | 1.32 | 940603 | 1.97 | 1.64 | Octadecanoic acid, ethyl ester | Alkaloid |
| 26 | 21.952 | 2296041 | 1.96 | 1302203 | 2.73 | 1.76 | 1-Heneicosanol | Lemak |

Golongan senyawa yang hanya ditemukan pada daun Bakau Kurap yang diekstrak menggunakan pelarut N-heksana yaitu keton, fenol, zat kapur, minyak terpentin dan terpenoid. Sementara itu, golongan senyawa alkaloid, dan lemak tak

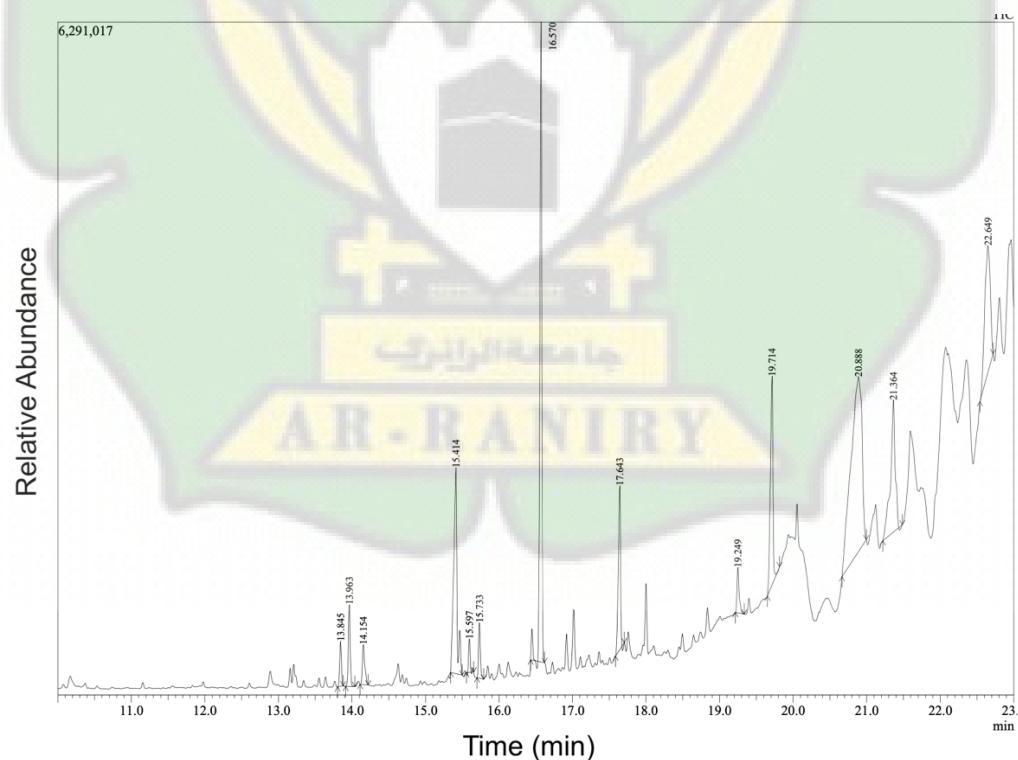
jenuh ditemukan pada daun bakau kurap yang diekstrak dengan ketiga pelarut. Senyawa yang ditemukan pada ketiga pelarut yaitu *Hexadecanoic acid* (CAS) *Tetradecanoic acid* (CAS), dan *Dodecanoic acid* (CAS) (Tabel IV.6). Komposisi senyawa dengan persentase tertinggi pada daun bakau kurap yang diekstrak menggunakan pelarut n-heksana yaitu masing-masing *1,8-Cineole* (28.63%), *2-Pentanol, 2-methyl-* (CAS) *2-Methyl-2-p* 7.03%, dan *Hexadecanoic acid, Ethyl ester* (CAS) *Ethyl* 5.66% (Tabel 4.3). Sementara itu, pada pelarut etanol yaitu *Hexadecanoic acid* (CAS) *Palmitic acid* (25.15%), *Octadec-9-Enoic acid* (22.77%) dan *Ethane, 1,1-diethoxy-* (CAS) *1,1-Diethoxye* (13.67%) (Tabel 4.4). Pada pelarut etil asetat yaitu *1(2H)-Naphthalenone, octahydro-4a,8a-dim* (33%), *n-Hexadecanoid acid* (10.68%) dan *Dodecanoid acid* (CAS) *Lauric acid* (10.55%) (Tabel IV.5).



Gambar IV.3. Pola kromatogram GC-MS daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) ekstrak Etanol

Tabel IV. 4 Hasil Identifikasi GC-MS pada Ekstrak Daun Bakau Kurap dengan Pelarut Etanol

| Peak No. | R.Time | Area | Area (%) | Height | Height (%) | A/H | Compound Name | Secondary Metabolite Name |
|----------|--------|----------|----------|---------|------------|------|---|---------------------------|
| 1 | 3.413 | 3711607 | 9.60 | 1973388 | 13.67 | 1.88 | Ethane, 1,1-diethoxy- (CAS) 1,1-Diethoxye | Minyak atsiri |
| 2 | 6.662 | 230812 | 0.60 | 100134 | 0.69 | 2.31 | 5 Methyl Furfural | Alkaloid |
| 3 | 8.010 | 461580 | 1.19 | 194438 | 1.35 | 2.37 | 5H-1,4-Dioxepin, 2,3-dihydro-2,5-dimethyl | Minyak atsiri |
| 4 | 15.733 | 4291277 | 11.10 | 1536087 | 10.64 | 2.79 | Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid | Lemak tak jenuh |
| 5 | 15.950 | 165870 | 0.43 | 96887 | 0.67 | 1.71 | (-)Caryophyllene oxide | Minyak atsiri |
| 6 | 16.802 | 218252 | 0.56 | 134799 | 0.93 | 1.62 | Globulol | Minyak atsiri |
| 7 | 17.370 | 357434 | 0.92 | 207977 | 1.44 | 1.72 | 4,8-Dimethyl-Nona-3,8-Dien-2-One | Minyak atsiri |
| 8 | 17.981 | 4183986 | 10.82 | 1740953 | 12.06 | 2.40 | Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid | Alkaloid |
| 9 | 20.065 | 9707822 | 25.11 | 3630307 | 25.15 | 2.67 | Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid | Alkaloid |
| 10 | 21.731 | 12024802 | 31.10 | 3286904 | 22.77 | 3.66 | Octadec-9-Enoic Acid | Lemak tak jenuh |
| 11 | 21.947 | 2740461 | 7.09 | 1375276 | 9.53 | 1.99 | Octadecanoic acid | Alkaloid |
| 12 | 22.410 | 566847 | 1.47 | 157968 | 1.09 | 3.59 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS) Li | Alkaloid |



Gambar IV.4 Pola kromatogram GC-MS daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) Etil Asetat

Tabel IV. 5 Hasil Identifikasi GC-MS pada Ekstrak Daun Bakau Kurap dengan Pelarut Etil Asetat

| Peak No. | R.Time | Area | Area (%) | Height | Height (%) | A/H | Compound Name | Secondary Metabolite Name |
|----------|--------|----------|----------|---------|------------|-------|--|---------------------------|
| 1 | 13.845 | 690032 | 1.16 | 421594 | 2.31 | 1.64 | .alpha.-Guaiene | Minyak Atsiri |
| 2 | 13.963 | 1332176 | 2.24 | 762290 | 4.17 | 1.75 | Seychellene | Minyak Atsiri |
| 3 | 14.154 | 867273 | 1.46 | 374736 | 2.05 | 2.31 | 5-Azulenemethanol, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahyd | Minyak Atsiri |
| 4 | 15.414 | 6051413 | 10.19 | 1927816 | 10.55 | 3.14 | Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid | lemak tak jenuh |
| 5 | 15.597 | 463776 | 0.78 | 310278 | 1.70 | 1.49 | (-)Caryophyllene oxide | Minyak Atsiri |
| 6 | 15.733 | 882026 | 1.48 | 521951 | 2.86 | 1.69 | 1-Hexadecanol | Lemak |
| 7 | 16.570 | 11397349 | 19.18 | 5981473 | 32.74 | 1.91 | 1(2H)-Naphthalenone, octahydro-4a,8a-dim | Terpenoid |
| 8 | 17.643 | 3159131 | 5.32 | 1533475 | 8.39 | 2.06 | Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid | Alkaloid |
| 9 | 19.249 | 867095 | 1.46 | 425594 | 2.33 | 2.04 | Hexadecanoic acid, methyl ester | Alkaloid |
| 10 | 19.714 | 4706939 | 7.92 | 1950946 | 10.68 | 2.41 | n-Hexadecanoic acid | Alkaloid |
| 11 | 20.888 | 17274773 | 29.08 | 1637397 | 8.96 | 10.55 | Dodecanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester | lemak tak jenuh |
| 12 | 21.364 | 5451034 | 9.18 | 1237112 | 6.77 | 4.41 | Heptadecene-(8)-Carbonic Acid | Alkaloid |
| 13 | 22.649 | 6266171 | 10.55 | 1187168 | 6.50 | 5.28 | Glyceryl Tridodecanoate | Gliseril |

Table IV. 6 Similaritas senyawa yang terdapat pada ekstrak daun Bakau kurap yang diekstrak dengan pelarut Etanol, Etil asetat dan N-Heksana.

| No | Compounds | Ethanol | | Etil Asetat | | Hexane | |
|-----|---|-------------------------|----------|-------------------------|----------|-------------------------|----------|
| | | Retention Time (minute) | Area (%) | Retention Time (minute) | Area (%) | Retention Time (minute) | Area (%) |
| 1. | Ethane, 1,1-diethoxy- (CAS) 1,1-Diethoxye | 3.413 | 9.60 | - | - | - | - |
| 2. | 5 Methyl Furfural | 6.662 | 0.60 | - | - | - | - |
| 3. | 5H-1,4-Dioxepin, 2,3-dihydro-2,5-dimethyl | 8.010 | 1.19 | - | - | - | - |
| 4. | Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid | 15.733 | 11.10 | 15.414 | 10.19 | 15.427 | 3.26 |
| 6. | (-)Caryophyllene oxide | 15.950 | 0.43 | 15.597 | 0.78 | - | - |
| 7. | Globulol | 16.802 | 0.56 | - | - | - | - |
| 8. | 4,8-Dimethyl-Nona-3,8-Dien-2-One | 17.370 | 0.92 | - | - | - | - |
| 9. | Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid | 17.981 | 10.82 | 17.643 | 5.32 | - | - |
| 10. | Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid | 20.065 | 25.11 | - | - | 19.734 | 3.74 |
| 11. | Octadec-9-Enoic Acid | 21.731 | 31.10 | - | - | - | - |
| 12. | Octadecanoic acid | 21.947 | 7.09 | - | - | - | - |
| 13. | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS) Li | 22.410 | 1.47 | - | - | - | - |
| 14. | .alpha.-Guaiene | - | - | 13.845 | 1.16 | - | - |

| | | | | | | | |
|-----|--|---|---|--------|-------|--------|-------|
| 15. | Seychellene | - | - | 13.963 | 2.24 | - | - |
| 16. | 5-Azulenemethanol, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahyd | - | - | 14.154 | 1.46 | - | - |
| 18. | 1-Hexadecanol | - | - | 15.733 | 1.48 | - | - |
| 19. | 1(2H)-Naphthalenone, octahydro- 4a,8a-dim | - | - | 16.570 | 19.18 | - | - |
| 20. | Hexadecanoic acid, methyl ester | - | - | 19.249 | 1.46 | 19.270 | 0.87 |
| 21. | n-Hexadecanoic acid | - | - | 19.714 | 7.92 | - | - |
| 22. | Dodecanoic acid, 1,2,3- propanetriyl ester | - | - | 20.888 | 29.08 | - | - |
| 23. | Heptadecene-(8)-Carbonic Acid | - | - | 21.364 | 9.18 | - | - |
| 24. | Glyceryl Tridodecanoate | - | - | 22.649 | 10.55 | - | - |
| 25. | 2-Pentanol, 2-methyl- (CAS) 2- Methyl-2-p | - | - | - | - | 3.303 | 10.33 |
| 26. | 2-Hexanone n-Butyl methyl ketone | - | - | - | - | 3.872 | 7.45 |
| 27. | Cyclopentanol, 1-methyl- | - | - | - | - | 4.007 | 3.72 |
| 28. | 2-Hexen-1-ol, (E)- (CAS) trans-2- Hexen-1- | - | - | - | - | 4.746 | 3.73 |
| 29. | Styrene Benzene, ethenyl- | - | - | - | - | 5.451 | 1.51 |
| 30. | Alpha.-Pinene | - | - | - | - | 6.296 | 4.43 |
| 31. | Benzene, 1,3,5-trimethyl- (CAS) 1,3,5-Tri | - | - | - | - | 7.174 | 1.78 |
| 32. | 5-Hexen-2-one (CAS) | - | - | - | - | 7.671 | 5.47 |
| 33. | Allylacetone | - | - | - | - | 7.783 | 26.51 |
| 34. | 1,8-Cineole | - | - | - | - | 9.414 | 0.98 |
| 35. | Camphor | - | - | - | - | 9.936 | 1.37 |
| 36. | Borneol L | - | - | - | - | 15.427 | 3.26 |
| 37. | Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid | - | - | - | - | 15.618 | 1.91 |
| 38. | Dodecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl la | - | - | - | - | 17.028 | 1.32 |
| 39. | Benzene, (2-decyldodecyl)- (CAS) 11-Benz | - | - | - | - | 17.662 | 2.25 |
| 40. | Tetradecanoic acid | - | - | - | - | 17.890 | 1.64 |
| 41. | Tetradecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl | - | - | - | - | 18.019 | 0.61 |
| 42. | 1-Heptadecene | - | - | - | - | 19.956 | 3.73 |
| 43. | Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl | - | - | - | - | 20.076 | 2.09 |
| 44. | 1-Octadecene (CAS) .alpha.- Octadecene | - | - | - | - | 21.151 | 1.35 |
| 45. | Phytol | - | - | - | - | 21.389 | 1.38 |
| 46. | Oleic Acid | - | - | - | - | 21.582 | 5.26 |
| 47. | Elaidic acid, (E)-9-Octadecenoic acid ethyl | - | - | - | - | 21.838 | 1.32 |
| 48. | Octadecanoic acid, ethyl ester | - | - | - | - | 21.952 | 1.96 |

IV.2 Pembahasan

Beberapa jenis mangrove telah dilakukan uji sitotoksiknya meliputi *Xylocarpus granatum*, *Sonneratia alba*, *Rhizophora mucronata*, *Avicennia marina*, *Rhizophora apiculata* dan *Acanthus ilicifolius* (Puspita & Rozirwan, 2018; Maulana, 2021; Winda 2018). Namun demikian, hanya mangrove dari jenis *Rhizophora apiculata* dan *Acanthus ilicifolius* yang telah di uji sitotoksiknya menggunakan pelarut berbeda (polar, semi polar dan non polar) (Maulana, 2021; Winda 2018). Sementara itu, mangrove dari jenis lainnya hanya menggunakan satu jenis pelarut saja (pelarut polar: metanol) (Puspita & Rozirwan, 2018).

Dibanding pelarut polar lainnya, nilai toksitas *Rhizophora mucronata* masih lebih rendah dari tumbuhan mangrove jenis *Xylocarpus granatum* (LC_{50} -24 jam 1360.43 ppm) dan *Sonneratia alba* (LC_{50} -24 jam 801.75 ppm) namun lebih tinggi dari mangrove jenis *Avicennia marina* (LC_{50} -24 jam 403.44 ppm). Hasil penelitian Puspita & Rozirwan (2018) menunjukkan bahwa nilai toksitas *Rhizophora mucronata* yang diekstrak dengan pelarut metanol adalah sebesar 709.7 ppm, lebih rendah dibanding etanol sebesar 243.551 ppm. Hal ini disebabkan oleh pelarut etanol (polar) dapat mengikat senyawa metabolit sekunder lebih banyak seperti senyawa flavonoid.

Hasil penelitian mengungkapkan bahwa pelarut n-heksana memiliki nilai toksitas yang lebih tinggi dibanding pelarut lainnya. Hasil serupa juga dilaporkan pada mangrove jenis *Acanthus ilicifolius* yaitu 245.25 ppm (Winda 2018) dan sebaliknya pada mangrove jenis *Sonneratia alba* pelarut etil asetat memiliki nilai toksitas yang paling tinggi sebanyak 3.59 ppm (Suryaningrum, 2021).

Hal ini disebabkan oleh aktivitas sitotoksik dari fraksi non-polar heksana diduga dari aktivitas senyawa triterpenoid yang terkandung dalam fraksi tersebut. Daun Bakau Kurap yang yang diekstrak menggunakan pelarut N-heksana dan Etil-asetat dengan konsentrasi 1000 ppm memiliki nilai mortalitas lebih tinggi dibanding menggunakan pelarut etanol. Namun demikian daun bakau kurap yang yang diekstrak menggunakan pelarut N-heksana cenderung memiliki nilai LC_{50} -24 jam yang lebih tinggi dibanding dua pelarut lainnya.

Perbedaan pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif (Santoso *et al*, 2012). Hal ini disebabkan karena perbedaan polaritas dari pelarut (Megha *et al.*, 2014). Proses ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis pelarut, perbandingan pelarut dengan bahan ekstraksi, suhu, tekanan dan waktu ekstraksi serta komponen bioaktif tumbuhan. Jika kondisi suhu dan temperatur sama, maka jenis pelarut dan komponen senyawa kimia yang terdapat pada tanaman menjadi faktor yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi (Lopez, 2011). Adanya sistem perendaman, maka pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif sehingga akan larut dalam pelarut (Khoiriyah, 2014).

Beberapa jenis tumbuhan nilai toksitas pada ekstrak etanol (polar) memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan n-heksana (non polar). Simorangkir *et al.*, (2021), pengujian pada ekstrak daun sarang banua (*Clerodendrum fragrans*) mendapatkan hasil dengan pelarut etanol memiliki nilai sitotoksik yang paling tinggi dibandingkan pelarut etil asetat dan n-heksana dengan masing masing sebanyak 26.25 ppm, 37.50 ppm dan 41.97 ppm.

Vitalia *et al.*, (2016) dari hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai LC50 dari ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) ekstrak etanol juga memiliki nilai toksitas yang tinggi sebesar 142.160 ppm sedangkan etil asetat dan n-heksana memiliki nilai masing-masing 453.941 ppm dan 1389.31 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder dari golongan polar lebih banyak terdapat di dalam ekstrak sampel dibandingkan golongan senyawa metabolit non polar lainnya pada daun *Ruellia tuberosa*. Rahman & Sasmito (2021), ekstrak etanol daun *Avicennia marina* memiliki kadar toksisita yang paling tinggi dibandingkan dengan pelarut n-heksana dan etil asetat dengan masing-masing nilai 98.55 ppm, 441.39 ppm dan etil asetat 1931.49 ppm.

Nilai normalitas pengujian sitotoksik daun bakau kurap pada konsentrasi 250 ppm tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan walaupun ekstrak menggunakan pelarut yang berbeda, hal ini disebabkan oleh hambatan poliferasi sel dan potensi ketoksikan suatu senyawa pada ekstrak terhadap sel tidak sampai 50%. Kemampuan

adaptasi dari artemia terhadap ke tiga ekstrak pada konsentrasi rendah masih cukup baik sehingga efek toksiknya dapat di minimalisir. Hasil pengujian daun sarang banua (*Clerodendrumfragrans vent* Willd) yang dilaporkan Simorangkir *et al.*, (2021) pada konsentrasi 100 ppm nilai mortalitas juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan antar pelarut.

Pengujian sitotoksik ekstrak selada (*Lactuca sativa* var. *crispula*) yang dilakukan Rohman *et al.*, (2019) menunjukkan semua ekstrak memiliki sifat toksisitas akan tetapi ekstrak n-heksana memiliki sifat toksisitas yang paling tinggi diperoleh nilai LC₅₀-24 jam sebesar 170.115 ppm, 322.288 ppm untuk ekstrak etanol, 207,827 ppm untuk ekstrak metanol, dan 1468.261 ppm ekstrak etil asetat.

Herru (2021), menyatakan hasil yang diperoleh dari uji aktivitas sitotoksik pada daun matoa (*Pometia pinnata*) dengan metode BSLT yaitu, fraksi n-heksana memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi sebanyak 419.855 ppm sedangkan yang kurang aktif sifat sitotoksiknya adalah fraksi metanol dengan nilai LC₅₀-24 jam 727.78 ppm. Hafidlo (2014), juga melaporkan hasil pengujian sitotoksik pada ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annus L.*) menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana dan metanol diperoleh hasil berturut-turut nilai LC₅₀-24 jam sebesar 22.175 ppm, 952.625 ppm dan 147.847 ppm.

Rizkina *et al.*,(2013) melaporkan melakukan penelitian tentang uji toksisitas ekstrak pigmen kasar mikroalga *Spirulina platensis* dengan metode BSLT diketahui nilai LC₅₀ ekstrak pigmen kasar fraksi dietil eter *Spirulina platensis* (91.2 ppm) lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak metanol (446.68 ppm) dan pigmen kasar metanol-aseton (134.9 ppm) hal ini disebabkan oleh bahan ekstrak yang terlarut dalam dietil eter adalah bahan yang memiliki sifat non polar yang diperkirakan mempunyai sifat toksis terhadap nauplii *Artemia* sp. yang memberikan tingkat mortalitas lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak pelarut aseton-metanol.

Ekstrak yang memiliki nilai LC₅₀-24 jam rendah menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terkandung di dalamnya bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L. Ekstrak n-heksana memiliki nilai LC₅₀ paling rendah dibanding ekstrak etanol dan etil asetat. Hal ini mungkin disebabkan adanya kandungan senyawa aktif yang

terdapat dalam daun bakau kurap pada ekstrak n-heksana. Kandungan senyawa aktif yang sitotoksik terhadap *Artemia* dimungkinkan bersifat non polar (Hafidlo, 2014). Pelarut seperti etanol yang bersifat polar akan mengekstraksi senyawa fenol. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Sedangkan Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Hidayah *et al.*, 2018).

Menurut Farida *et al.*, (2009) pengujian ekstrak keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L) Decne) dengan ekstrak n-heksana memiliki golongan senyawa yang toksik terhadap *Artemia* dengan metode BS LT yaitu steroid dan terpenoid. Golongan senyawa tersebut memiliki korelasi positif dengan uji sitotoksik menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) terhadap sel kanker.

Berdasarkan hasil GC-MS senyawa terpenoid diduga bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach. Panjaitan (2014), melaporkan hasil analisis fitokimia menunjukkan daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) mengandung senyawa tanin, alkaloid dan terpenoid/steroid yang bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach. Ratu *et al.*, (2019) melaporkan pengujian daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan menggunakan ekstrak n-heksana dan etanol dengan nilai masing-masing 57.45 ppm dan 80.33 ppm dan hasil identifikasi fitokimia menunjukkan adanya komponen senyawa terpenoid. Menurut Sukandar *et al.*, (2008) senyawa terpenoid menjadi salah satu golongan senyawa kimia dalam tanaman yang memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan. Senyawa terpenoid yang terdapat pada ekstrak n heksana daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) meliputi 1.8-Cineolo dan Phytol, senyawa terpenoid juga teridentifikasi pada pelarut etil asetat 1(2H)-Naphthalenone,octahydro-4a,8a-dim yang menyebabkan toksik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Nilai LC₅₀ pada pengujian toksisitik daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari ekstrak etanol sebanyak 402.450 ppm, etil asetat 230.977 ppm dan n heksana 180.310 ppm, ketiga ekstrak tersebut bersifat toksik
2. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam pelarut yang memiliki nilai LC₅₀ yang paling tinggi adalah Terpenoid, Alkaloid, Keton, fenol, minyak terpentin, minyak atsiri, lemak tak jenuh dan zat kapur

V.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) dapat berpotensi sebagai obat antibakteri, antivirus, dan antijamur.
2. Perlu identifikasi lebih lanjut untuk senyawa metaboli sekunder yang menyebabkan sitotoksik pada antar pelarut daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, M. N., & Majinda, R. R. (2016). GC-MS Analysis And Preliminary Antimicrobial Activity Of *Albizia Adianthifolia* (*Schumach*) and *Pterocarpus angolensis* (DC). *Medicines* 3(1). 3.
- Adani, S. I., & Pujiastuti, Y. A. (2018). Pengaruh Suhu dan Waktu Operasi pada Proses Destilasi untuk Pengolahan Aquades di Fakultas Teknik Universitas Mulawarman. *Jurnal Chemurgy*. 1(1). 31-35.
- Adham D, Irham T. (2014). Perbandingan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Dengan Ekstrak Metanol Daun Binjai (*Mangifera Caesia*). *Skripsi*. Banjarmasin. Universitas Lambung Mangkurat. 22-26.
- Aguwitasari, F. A. (2020). (*Ziziphus mauritiana L.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Diplo Thesis*. Doctoral Dissertation, Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.
- Aisiah, S. (2012). Efikasi Ekstrak Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap bakteri Aeromonas hidrophila dan Toksisitasnya pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Sains Akuatik: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Perairan*. 14(1).
- Ambara. (2007). Toksisitas Senyawa Kimia. *Kimia Biologi*.
- Ananto, W. (2015). Pengaruh Waktu Terhadap Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) Dari Minyak Bimoli Dengan Proses Transesterifikasi Menggunakan Alat Destilasi Reaktif (The Effect Of Time On Making Methyl Ester (Biodiesel) From Bimoli Oil By Transesterification Process Using Reactive Distillation Apparatus). *Thesis*. Doctoral Dissertation: Undip
- Anderson, J. E., Chang, C. J., & McLaughlin, J. L. (1988). Bioactive Components of *Allamanda Schottii*. *Journal of Natural Products*, 51(2), 307-308.
- Anderson, J. E., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L., & Suffness, M. (1991). a Blind Comparison of Simple Bench-Top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochemical Analysis*. 2(3). 107-111.
- Anjaneyulu AS, Rao VL. (2001). Rhizophorin A, a Novel Secolabdane Diterpenoid from The Indian Mangrove Plant *Rhizophora mucronata*. *Nat Prod Lett*. 15:13–9.
- Aqiila, G. R., Taufiqurrahman, I., & Wydiamala, E. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Rmania (*Bouea macrophylla Griffith*) Terhadap Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach. *Dentino: Jurnal Kedokteran Gigi*. 2(2). 170-176.

- Asanova, Z. K., Suleimenov, E. M., Atazhanova, G. A., Dembitskii, A. D., Pak, R. N., Dar, A., & Adekenov, S. M. (2003). Biological activity of 1, 8-cineole from levant wormwood. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 37 (1): 28-30. <https://doi.org/10.1023/A:1023699012354>
- Astriyani, W., Surjowardojo, P., & Susilorini, T. E. (2017). Daya Hambat Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) Dengan Pelarut Ethanol dan Aquades Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*. 18(2): 8-13.
- Ayyida, K. (2014). Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Pada Daun Salam (*Syzygium polyanthum (wight) walp*) dengan Daun Jambu Air (*Syzygium samarangense (bl.) Merr et. Perry*) Varietas Delima. *Doctoral Dissertation*. UIN Walisongo.
- Backer & Bakhuizen Van Den Brink, RC. (1963). Flora Jawa (Spermatophyta Saja), Vol. I. Wolter-Noordhoff, NVP., Groningen.
- Baravalia Y, Vaghasiya Y, Chanda S. (2012). Brine Shrimp Cytotoxicity, Anti-inflammatory and Analgesic Properties of Woodfordia Fruticosa Kurz Flowers. *Iran J Pharm Res*. 11(3):851–61.
- Baskaran, R., & Mohan, P. M. (2012). In Vitro Antibacterial Activity of Leaf Extract of *Rhizophora mucronata* L. Against Multi Drug Resisten *Vibrio* spp. Isolated From Marine Water Lobster's Larvae Hatcheries.
- Bertomi, R. P. (2011). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari*. Alyxiae cortex.
- Brown, S.K. Garver, W.S. Orlando, R.A. (2017) 1, 8-cineole: an underappreciated anti-inflammatory therapeutic, *J. Biomol. Res. Ther.* <https://doi.org/10.4172/2167-7956.1000154>.
- Candrasyah. (2011). Pertumbuhan Tanaman Bakau (*Rhizophora mucronata*) pada Lahan Restorasi Mangrove di Hutan Lindung Angke Kapuk Provinsi DKI Jakarta. *Skripsi*: 1-128.
- Chahardehi, M. A., Arsal, H., dan Lim, V. (2020). Zebrafish as a Successful Animal Model for Screening Toxicity of Medicinal Plants. *Journal plants*.
- Chakraborty, S., Ghosh, U. (2013). In Vivo Biochemical Changes Occurring at Different Time Intervals in White Spot Syndrome Virus Infected Shrimp, Treated With Anti-WSSV Drug Driven From Marine Plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*.3(11):059-069.

- Chaniago, A. (2003). Respon Ikan Sersan Mayor (Abudefduf saxatilis) terhadap Pembiusan dengan Biji Teh (Saponin) dan Potassium Sianida (KCN).
- DasGupta, R. dan Shaw, R. (2013). Cumulative Impacts of Human Interventions and Climate Change on Mangrove Ecosystems of South and Southeast Asia: An Overview. *Journal of Ecosystems*. 1-15.
- Duan, W., Meng, M., Cui, H., Wang, G., dan Wu, J. (2018). Ecotoxicity of Phenol and Cresols To Aquatic Organisms:A Review. *Journal ELSEVIER*. 157: 441-456.
- Edu, EAB, Edwin-Wosu, NL, & Udensi, OU. (2015). Evaluasi Senyawa Bioaktif Di Mangrove: Sebuah Obat Mujarab Untuk Memanfaatkan dan Mengoptimalkan Sumber Daya Mangrove. *Journal of Natural Sciences Research*. 5(23): 1
- Egra, S., Mardhiana, M., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*. 12(1): 26-31.
- Exarchou V, Nenadis N, Tsimidou M, Gerorthanassis IP, Troganis A, Boskou D. (2002). Antioxidant Activities and Phenolic Composition of Extracts From Greek Oregano, Greek Sage, and Summer Savory. *J Agric Food Chem*. 50(19):5294–9.
- Faisal, S., Husni, H., & Sapdi, S. (2016). Pengaruh Penggunaan Saponin Dan Serbuk Bijik Pinang Terhadap Mortalitas Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.) dan Keamanan Ikan Lele. *Jurnal Kawista Agroteknologi*, 1(1), 23-29.
- Farida, Y., Martati, T., & Edward, B. (2009). Uji Aktivitas Biologi Secara BSLT dan Uji Sitotoksik dengan Metode MTT dari Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L) Decne). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 8(2):118-124.
- Fessenden, R. J., & Fessenden, J. S. (1997). *Dasar-Dasar Kimia Organik*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Genetic Science Learning Center. (2014). *Brine Shrimp Life Cycle*
- Guenther, E. (1987). *Minyak Atsiri Jilid I*. Jakarta: Universitas Indonesia
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.067>
- Hadley KB, Ryan AS, Forsyth S, Gautier S, Salem N. (2016) The Essentiality of Arachidonic Acid in Infant Development, Nutri 8: 216.

- Hafidloh, D. (2014). Sitotoksik Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annus* L) dengan Metode BS LT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Halidah. (2010). Pertumbuhan *Rhizophora mucronata* Lamk pada Berbagai Kondisi Substrat di Kawasan Rehabilitasi Mangrove Sinjai Timur Sulawesi Selatan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 7(4): 1-14.
- Hamrun, N., Nabilah, T., Hasyim, R., Ruslin, M., Dammar, I., & As, M. A. (2020). Toxicity Test of Bioactive Red Alga Extract *Eucheuma spinosum* on Shrimp Artemia Salina Leach. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 11(5):672-676.
- Harmita, & Radji M. (2006). *Buku Ajar Analisis Hayati Ed 3*. Jakarta: EGC. Hal 76-80.
- Herru, Y. D. N. (2021). Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi N-Heksana Daun Matoa (*Pometia pinnata*) Serta Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Doctoral dissertation*. Universitas Andalas.
- Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., & Mustikaningtyas, D. (2018). Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Student*, 1(2).
- Hou, D. (1958). A conspectus of the genus Bhesa (Celastraceae). *Blumea. Supplement*. 4(1). 149-153.
- Jacub, C. (2019). Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Skrripsi*. Yogyakarta: Universitas ATMA Jaya Yogyakarta
- Jannah, H., Sudarma, I. M., & Andayani, Y. (2019). Analisis senyawa fitosterol dalam ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Chemistry Progress*. 6(2).
- Kanwar, A.S. (2007). *Brine Shrimp (Artemia salina)* a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine*.2(4):35-42
- Kasitowati, R. D., Yamindago, A., & Safitri, M. (2017). Potensi Antioksidan dan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*, Pilang Probolinggo. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*. 1(2):72-77.
- Kinasih, I., Supriyatna, A., & Rusputa, R. N. (2013). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* Linn) terhadap ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) sebagai organisme non-target. *Jurnal Istek*.7(2).

- Kumari, C. S., Yasmin, N., Hussain, M. R., & Babuselvam, M. (2015). In Vitro anti-inflammatory and anti-arthritic property of *Rhizophora mucronata* leaves. *Intern J Pharm Sci Res.* 6.482-485.
- Kusmana C. (2014). Distribution and current status of mangrove forests in Indonesia. Di dalam: Hanum FI, Latiff A, Hakeem KR, Ozturk M, editor. *Mangrove Ecosystem of Asia: Status, Challenges and Management Strategies.* Springer. 37-60.
- Kusmana,C., Valentino, N., Mulyana, D. (2013). *Flora Mangrove di Kawasan Hutan Angke Kapuk Jakarta Utara, Provinsi DKI Jakarta.* Bogor, Indonesia. PT. Kapuk Naga Indah dan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Kusumastanto, T., L. Adrianto & A. Damar. (2006). *Pengelolaan Wilayah Pesisir dan Laut.* Jakarta: Universitas Terbuka Press.
- Lavieren HV, Spalding M, Alongi DA, Kainuma M, Godt MC, Adeel Z. (2015). *Securing the Future of Mangroves.* Hamilton (CA): Institute for Water, Environment and Health, United Nations University.
- Leboe, D. W., Fitrah, M., & Jumasni, J. (2018). Toksisitas Fraksi Daun Boboan (*Cleome rutidosperma* DC) terhadap Larva Udang *Artemia salina.* *ad-Dawaa Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1(2).
- Lestari, D. M., Mahmudati, N., Sukarsono, S., Nurwidodo, N., & Hasamah, H. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenol Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fobs). *Biosfera.* 35(1). 37-43.
- Lestari, D., Kartika, R., & Marliana, E. (2019). Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia.* 1(1):1-10.
- Loomis T, A. (1978). *Toksikologi Dasar.* Ed ke-3. Semarang: IKIP Semarang
- Lopez, A. Rico, M, Rivero, A., dan de Tangil, M.S. (2011) ‘The Effects of Solvent on The Phenolic Contents and Antioxidant Activity of *Stylocaulon scoparium* algae Extracts’, *Food Chemistry.* 125(3): 1104 – 1109.
- Marliza, H., & Oktaviani, D. (2021). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia Gigantea* Hook. F) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Bencoolen Journal Of Pharmacy.* 1(1), 38-45.
- Maulana, D. M. (2021). The Dose Effect of Mangrove Leaf Extract (*Rhizophora apiculata*) on Anticancer Activity in HeLa Cells. *Journal of Stem Cell Research and Tissue Engineering,* 5(1), 1-15.

- McLaughlin, J.L., Chang, C. J., dan Smith, D. L. (1991). *Bench-Top, Bioassay for The Discovery of Bioactive Naturals Products, An Update, Natural Product Chemistry*. Elsevier. Amsterdam.
- Megha, N.M dan Sabale, A.B. (2014) ‘Antimicrobial, Antioxidant and Haemolitic Potential of Brown Macroalga Sargosum’, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(8): 2091 – 2104
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., & McLaughlin, J. L. (1982). *Brine shrimp: a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. *Planta Medica*, 45(5): 31-34.
- Mulyani, Y., Bachtiar, E., & Agung, M. U. K. (2013). Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*. 4(1).
- Mulyani, Y., Haetami, K., Baeha, L. K., Arsal, S., & Prasetya, F. S. (2020). In Vivo Test of *Rhizophora mucronata* Mangrove Extract From Pangandaran Coast Towards Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Infected by *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 9(2):131-142.
- Munawaroh, S. & Handayani, P.A., (2010). Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*. 2(1):73–78.
- Mustikasari K, Ariyani D. (2008). Studi Potensi Binjai (*Mangifera Caesia*) Dan Kasturi (*Mangifera Casturi*) Sebagai Antidiabetes Melalui Skrining Fitokimia Pada Akar Dan Batang. *J Sains Terapan Kimia* 2. 2(2): 64-73.
- Ningdyah, A. W., Alimuddin, A. H., & Jayuska, A. (2015). Uji Toksisitas Dengan Metode BS LT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 4(1).
- Noor YR, Khazali M, Suryadiputra INN. (2012). *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Bogor: Wetlands International Indonesia Programme.
- Novianti, R. K., Boedi, S. R., dan Cahyono, Y. (2012). Pengaruh pengkayaan Artemia spp. dengan kombinasi minyak kedelai dan minyak ikan salmon terhadap pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup larva kepiting Bakau (*Scylla paramamosain*). *Journal of Marine and Coastal Science*. 1 (2): 125-139.
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., & Febrianto, R. (2006). Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* Terhadap *Artemia salina* Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo*. 2(1): 41-46

- Oktaviani, E., Harpeni, E., & Wardiyanto, W. (2019). Fitofarmaka Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Untuk Meningkatkan Imunitas Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal 1775) Terhadap Serangan Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 12(1), 52-64.
- Oratmangun, S. A. (2014). Uji toksisitas ekstrak tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) terhadap Artemia salina dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai studi pendahuluan potensi anti kanker. *Pharmacon*.3(3).
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(4). 279764.
- Panggabean MGL. (1984). Teknik penetasan dan Pemanenan *Artemia salina*. *Jurnal Oseana*. IX(2): 57-65
- Pangow, M. E. (2018). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas dari Ekstrak Etanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Pharmacon*. 7(3).
- Panjaitan, M. (2014). Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Daun Bakau *Rhizophora Mucronata* Dari Perairan Pantai Hamadi Kota Jayapura, Provinsi Papua Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt). *Doctoral dissertation*. Universitas Brawijaya.
- Panjaitan, R. B. (2011). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxiae cortex*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Parasuraman P. (2011) Toxicological screening. *J. Pharmacol Pharmacother*. 2(2):74- 79
- Parra AL, Yhebra RS, Sardiñas IG, Buela LI. (2001). Comparative Study Of The Assay of *Artemia salina* L. and The Estimate of The Medium Lethal Dose (LD₅₀ Value) in Mice, to Determine Oral Acute Toxicity of Plant Extracts. *Phytomedicine*. 8(5):395–400.
- Poedjirahajoe, E., Widyorini, R., & Mahayani, N. P. D. (2011). Kajian ekosistem mangrove hasil rehabilitasi pada berbagai tahun tanam untuk estimasi kandungan ekstrak tanin di pantai utara Jawa Tengah. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 5(2).99-107.
- Purnobasuki, H. (2004). *Potensi Mangrove Sebagai Tumbuhan Obat*. (2):125-126.

- Purwanti, R. (2016). Studi Etnobotani Pemanfaatan Jenis-Jenis Mangrove Sebagai Tumbuhan Obat di Sulawesi. *In Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 3:340-348.
- 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.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 56-60.
- Rahman, M. & Sasmito B.B. (2021). The Effect Of Dosage Of Mangrove Leaf Extract Avicennia Marina On The Viability Of Hela Cells. *Journal of Stem Cell Research and Tissue Engineering*, 5(1), 41-51.
- Rahman, M., & Sasmito, B. B. (2021). The Effect Of Dosage Of Mangrove Leaf Extract *Avicennia Marina* On The Viability Of Hella Cells. *Jounal of SCRTE*. 5(1)
- Rajeswari, J., & Rani, S. (2015). GC-MS Analysis Of Phytochemical Compounds in The Ethanolic Extract of Root of *Lawsonia Inermis* Linn. *International Journal of ChemTech Research*. 7(1). 389-399. ISSN : 0974-4290
- Ramadhani, A. N. (2009). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artrocarpus communis*) Terhadap Larva Artemia salina Leachdengan Metode BSLT. *Skripsi. Fakultas Kedoketran Universitas Diponegoro. Semarang*.
- Ratu, A. P., Nunang, P. P. L., & Suryaganda, P. J. (2019). Uji Toksisitas Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less), Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Dan Kulit Daging Buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Proceeding of The URECOL*. 60-65.
- Redha, Abdi. (2010) Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Karya Tulis Ilmiah Program Studi Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak. *Jurnal Berlian*. 9 (2): 19-22.
- Rizkina, R. A., Yudiat, E., & Sedjati, S. (2013). Uji toksisitas ekstrak pigmen kasar mikroalga Spirulina platensis dengan metode uji BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Journal of Marine Research*. 2(1).25-31.
- Rohmah, J., Rini, C. S., & Wulandari, F. E. (2019). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa var. Crispula*) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Riset*. 4(1).

- Sangi, M., Momuat, L. dan Kumaunang, M. (2012). Uji Toksisitas Dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepas Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*. 12: 128-134.
- Santoso, J., Anwariyah, S., Rumiantin, R. O., Putri, A.P., Ukhyt, N., dan Yoshie-stark, Y. (2012) ‘Phenol Content, Antioxidant Activity and Fibers Profile of Four Tropical Seagrasses from Indonesia’, *Journal of Coastal Development*, 15(2): 189 – 196
- Saragih, G., Tamrin, M., & Nasution, D. Y.(2020). Phytochemical Screening and Toxicity of Ethanolic Extract of Mangrove (*Rhizophora mucronata*) Leaves From Langsa, Aceh Timur. *Rasayan J Chem*. Vol. 13 (1): 476 – 480
- Senen, H., Lasut, M. T., & Tasirin, J. S. (2018). Deskripsi Vegetasi Hutan Mangrove di Desa Pungkol, Kecamatan Tatapaan. *In Cocos*.1(2).
- Simon JA, Chen YH, Bent S. (2009) The relation of alpha-linolenic acid to the risk of prostate cancer: A Systematic review and meta-analysis., *Am J Clin Nutr* 89: 1558-1564.
- Simorangkir, M., Nainggolan, B., Juwitaningsih, T., & Silaban, S. (2021). The Toxicity of n-Hexane, Ethyl Acetate and Ethanol Extracts of Sarang Banua (*Clerodendrumfragrans* Vent Willd) Leaves by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. In *Journal of Physics: Conference Series*.1811(1). IOP Publishing.
- Snyder, C. R., J. J. Kirkland, and J. L. Glajach. (1997). Practical HPLC Method Development, Second Edition. New York: John Wiley and Sons, Lnc. Pp. 722-723.
- Suciati, A. (2012). Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*.1(1):1-8.
- Suciati, A. (2012). Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*.1(1):1-8.
- Sudjarwo, G. W., Mahmiah, M., & Andriyani, F. (2017). Skrining Fitokimia Dan Analisis Gc-Ms Hasil Fraksi Heksana Kulit Batang (*Rhizophora mucronata* L). Seminar Nasional Kelautan XII.
- Sudjarwo, S. A., & Sudjarwo, G. W. (2017). Protective effect of curcumin on lead acetate-induced testicular toxicity in Wistar rats. *Research in pharmaceutical sciences*, 12(5), 381. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.213983>.

- Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. (2008). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Kimia Valensi*. 1(2).
- Sulistiyowati, H. (2009). Biodiversitas mangrove di cagar alam pulau sempu. *Jurnal Sainstek*. 8(1):59-63.
- Suryaningrum, F. D. (2021). The Effect Of Mangrove Leaf Extract Dosage Sonneratia Alba On Hela Cell Viability. *Journal of Stem Cell Research and Tissue Engineering*, 5(1), 30-40.
- Triana E, Titin Y. Uji Toksisitas Citrinin Yang Dihasilkan Oleh Angkak Hail Fermentasi Berbagai Isolat Monascus Purpureus Terhadap Larva Artemia Salina Leach. *Biodiv Indonesia*. 2015; 1(2): 287.
- Vitalia, N., Najib, A., & Ahmad, A. R. (2016). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(1):124-129.
- Wahdaningsih, S., Untari, E. K., & Fauziah, Y. (2014). Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Pharmaceutical Sciences & Research*. 1(3): 4.
- Wardhani, L. K., & Sulistyani, N. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil kromatografi lapis tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1):1-6.
- Winda, A. (2018). Uji Pendahuluan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Dan Fraksi Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Universitas Andalas.
- Wiwattanawanichakun, P., Ratwatthananon, A., Poonsri, W., Yooboon, T., Pluempanupat, W., Piyasaengthong, N., Nobsathian, S., dan Bullangpoti, V. (2018). The Possibility Of Using Isolated Alkaloid Compounds and Crude Extracts Of *Piper Retrofractum* (Piperaceae) As Larvicidal Control Agents For *Culex Quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) Larvae. *Journal of Medical Entomology*. 20(10): 1-6.
- Yogananth, N., Anuradha, V., Ali, M. Y. S., Muthezhilan, R., Chanthuru, A., & Prabu, M. M. (2015). Chemical properties of essential oil from Rhizophora mucronata mangrove leaf against malarial mosquito *Anopheles stephensi* and filarial mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5, S67-S72.

Yudiaty, E., Sedjati, S., Rizkina, R.A., dan Sunarsih. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol dan Pigmen Kasar *Spirulina* sp. Jurnal Ilmiah Ilmu Kelautan, Vol 16(4): 187-192



LAMPIRAN

Lampiran 1



SURAT KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH Nomor: B-533/Lit.08/FST/KP.07.6/11/2021

TENTANG

PENETAPAN PEMBIMBING SKRIPSI MAHASISWA PROGRAM STUDI BIOLOGI FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH

DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH

| | |
|---------------|---|
| Menimbang | : a. bahwa untuk kelancaran bimbingan skripsi mahasiswa Prodi Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry, maka dipandang perlu menunjuk pembimbing dimaksud; b. bahwa yang namanya tersebut dalam Surat Keputusan ini dianggap cakap dan mampu untuk ditetapkan sebagai pembimbing skripsi mahasiswa. |
| Mengingat | : 1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional; 2. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012, tentang Pendidikan Tinggi; 3. Peraturan Pemerintah Nomor 19 Tahun 2005 tentang Standar Nasional Pendidikan; 4. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi; 5. Peraturan Presiden RI Nomor 64 Tahun 2013 Tentang Perubahan Institut Agama Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh menjadi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh; 6. Peraturan Menteri Agama RI Nomor 12 Tahun 2014, tentang Organisasi dan Tata Kerja UIN Ar-Raniry Banda Aceh; 7. Keputusan Menteri Agama Nomor 12 Tahun 2020 Tentang Statuta UIN Ar-Raniry Banda Aceh; 8. Keputusan Rektor UIN Ar-Raniry Nomor 01 Tahun 2015 Tentang Pemberian Kuasa dan Pendeklegasian Wewenang Kepada Para Dekan dan Direktur Program Pascasarjana dalam Lingkungan UIN Ar-Raniry Banda Aceh; 9. Surat Keputusan Rektor UIN Ar-Raniry Banda Aceh Nomor 80 Tahun 2020 Tentang Satuan Biaya Khusus Tahun Anggaran 2021 di Lingkungan UIN Ar-Raniry Banda Aceh; |
| Memperhatikan | : Keputusan Sidang/Seminar Proposal Skripsi Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh tanggal 10 September 2021. |
| Menetapkan | : MEMUTUSKAN |
| Kesatu | : Menunjuk Sandara: 1. Kamaliah, M.Si 2. Iham Zulfahmi, M.Si |
| | : Sebagai Pembimbing I Sebagai Pembimbing II |
| | Untuk membimbing Skripsi: |
| | : Nama : Zeltira Harina Roza NIM : 170703026 Prodi : Biologi Judul Skripsi : Uji Toksisitas Daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) yang Dicikstrak Menggunakan Pelarut Berbeda dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) |
| Kedua | : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan akhir Semester Genap Tahun Akademik 2021/2022 dengan ketentuan bahwa segala sesuatu akan diubah dan diperbaiki kembali sebagaimana mestinya, apabila kemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini. |

Ditetapkan di Banda Aceh
Pada Tanggal 04 November 2021
Dekan,

Azhar Amsal

Tanda tangan:
1. Dekan UIN Ar-Raniry di Banda Aceh;
2. Atas izin Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry;
3. Posisideng yang bersangkutan semuanya disebutkan dan dilikuidasikan;
4. Yang tersangkut.

Lampiran 2



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

Jl. Syeikh Abdur Rauf Kopelma Darussalam Banda Aceh
Telepon : 0651- 7557321, Email : uin@ar-raniry.ac.id

Nomor : B-1643/Un.08/FST-I/PP.00.9/06/2022

Lamp : -

Hal : **Penelitian Ilmiah Mahasiswa**

Kepada Yth,

Kepala Laboratorium Biologi Fakultas Sain dan Teknologi

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dengan ini menerangkan bahwa:

Nama/NIM : **ZULTIRA HARINA ROZA / 170703026**

Semester/Jurusan : X / Biologi

Alamat sekarang : Lamgapang, Ulee Kareng

Saudara yang tersebut namanya diatas benar mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi bermaksud melakukan penelitian ilmiah di lembaga yang Bapak/Ibu pimpin dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul ***Uji Toksisitik Daun Bakau Kurap (Rhizophora mucronata) Yang Diekstrak dengan Menggunakan Pelarut Berbeda dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)***

Demikian surat ini kami sampaikan atas perhatian dan kerjasama yang baik, kami mengucapkan terimakasih.

Banda Aceh, 01 Juli 2022

an. Dekan

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kelembagaan,



Berlaku sampai : 31 Juli 2022

Dr. Mizaj, Lc., LL.M.

Lampiran 3

(Dokumentasi Kegiatan)

Gambar Lokasi Pengambilan Sampel

a. Preparasi sampel



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel



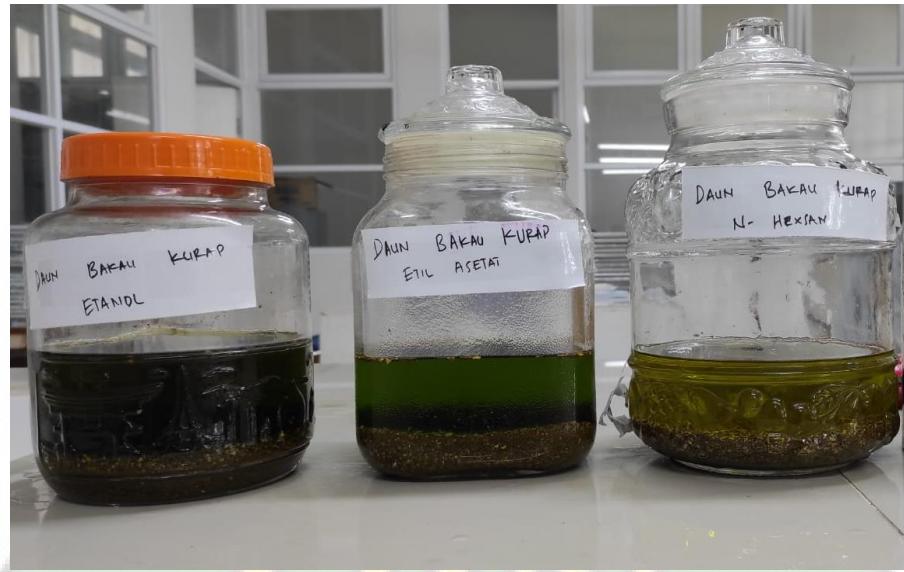
Gambar 2. Proses pengeringan sampel



Gambar 3. Sampel dihaluskan dengan blender



Gambar 4. Sampel yang sudah diayak



Gambar 5. Proses meserasi dengan menggunakan 3 pelarut



Gambar 6. Penyaringan sampel ekstrak etanol

Gambar 6. Penyaringan sampel ekstrak n-heksana



Gambar 8. Penyaringan sampel ekstrak Etil Asetat



Gambar 9. Proses evaporasi ekstrak

b. Pengujian BSLT



Gambar 1. Penimbangan telur *Artemia salina* Leach



Gambar 2. Perendaman telur *Artemia salina* Leach dengan aquades



Gambar 3. Penetasan *Artemia salina* Leach



Gambar 4. Pengukuran pH air laut



Gambar 5. Pengukuran DO dan Suhu



Gambar 6. Pengukuran salinitas



Gambar 7. Pembuatan Larutan Uji



Gambar 8. Ekstrak Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)



Gambar 9. Pengujian sitotoksik ekstrak etanol (100 ppm, 250 ppm, 500 ppm & 1000 ppm)



**Gambar 10. Pengujian sitotoksik ekstrak etil asetat
(100 ppm, 250 ppm, 500 ppm & 1000 ppm)**





**Gambar 11. Pengujian sitotoksik ekstrak n Heksana
(100 ppm, 250 ppm, 500 ppm & 1000 ppm)**

c. Pengujian GC-MS



Gambar 1. Identifikasi kromatogram daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Lampiran 4

Tabel Analisi Statistik Mortalitas

Tabel 1. analisis statistik mortalitas 100 ppm

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Mortalitas 100 ppm

LSD

| (I) Pelarut | (J) Pelarut | Mean Difference | | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------|-------------|-----------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | (I-J) | Std. Error | | Lower Bound | Upper Bound |
| Etanol | Etil Asetat | 1.00000 | 3.87298 | .801 | -7.4385 | 9.4385 |
| | N heksana | -7.00000 | 3.87298 | .096 | -15.4385 | 1.4385 |
| Etil Asetat | Etanol | -1.00000 | 3.87298 | .801 | -9.4385 | 7.4385 |
| | N heksana | -8.00000 | 3.87298 | .061 | -16.4385 | .4385 |
| N heksana | Etanol | 7.00000 | 3.87298 | .096 | -1.4385 | 15.4385 |
| | Etil Asetat | 8.00000 | 3.87298 | .061 | -.4385 | 16.4385 |

Tabel 2 Analisis statistik mortalitas 250 ppm

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Mortalitas 250 ppm

LSD

| (I) Pelarut | (J) Pelarut | Mean Difference | | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------|-------------|-----------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | (I-J) | Std. Error | | Lower Bound | Upper Bound |
| Etanol | Etil Asetat | 1.00000 | 4.43471 | .825 | -8.6624 | 10.6624 |
| | N heksana | -5.00000 | 4.43471 | .282 | -14.6624 | 4.6624 |
| Etil Asetat | Etanol | -1.00000 | 4.43471 | .825 | -10.6624 | 8.6624 |
| | N heksana | -6.00000 | 4.43471 | .201 | -15.6624 | 3.6624 |
| N heksana | Etanol | 5.00000 | 4.43471 | .282 | -4.6624 | 14.6624 |
| | Etil Asetat | 6.00000 | 4.43471 | .201 | -3.6624 | 15.6624 |

Tabel 3. Analisis statistik mortalitas 500 ppm

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Mortalitas 500 ppm

LSD

| (I) Pelarut | (J) Pelarut | Mean Difference | | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------|-------------|-----------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | (I-J) | Std. Error | | Lower Bound | Upper Bound |
| Etanol | Etil Asetat | 2.00000 | 5.57592 | .727 | -10.2725 | 14.2725 |
| | N heksana | -16.00000* | 5.25703 | .011 | -27.5706 | -4.4294 |
| Etil Asetat | Etanol | -2.00000 | 5.57592 | .727 | -14.2725 | 10.2725 |
| | N heksana | -18.00000* | 5.57592 | .008 | -30.2725 | -5.7275 |
| N heksana | Etanol | 16.00000* | 5.25703 | .011 | 4.4294 | 27.5706 |
| | Etil Asetat | 18.00000* | 5.57592 | .008 | 5.7275 | 30.2725 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 4. Analisis statistik mortalitas 1000 ppm

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Mortalitas 1000 ppm

LSD

| (I) Pelarut | (J) Pelarut | Mean Difference | | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------|-------------|-----------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | (I-J) | Std. Error | | Lower Bound | Upper Bound |
| Etanol | Etil Asetat | -38.00000* | 2.94392 | .000 | -44.4143 | -31.5857 |
| | N heksana | -38.00000* | 2.94392 | .000 | -44.4143 | -31.5857 |
| Etil Asetat | Etanol | 38.00000* | 2.94392 | .000 | 31.5857 | 44.4143 |
| | N heksana | .00000 | 2.94392 | 1.000 | -6.4143 | 6.4143 |
| N heksana | Etanol | 38.00000* | 2.94392 | .000 | 31.5857 | 44.4143 |
| | Etil Asetat | .00000 | 2.94392 | 1.000 | -6.4143 | 6.4143 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 5

Pembuatan Larutan Uji

1. Membuat Larutan Induk Ekstrak Etanol, Etil Asetat, N-Heksana dan Akuades

Larutan induk di buat dengan cara melarutkan 2 gram ekstrak dengan 1 liter air laut steril (pelarut standar) dengan konsentrasi 2000 ppm.

2. Membuat Varian Konsentrasi Dari Larutan Induk

Larutan induk yang telah dibuat dengan konsentrasi 2000 ppm kemudian diencerkan menjadi 100, 250, 500 dan 1000 ppm dengan menggunakan rumus pengenceran.

Rumus pengenceran :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

V_1 = Volum larutan induk yang diambil

M_1 = Konsentrasi larutan yang diencerkan

V_2 = Volum larutan hasil pengenceran

M_2 = Konsentrasi larutan hasil pengenceran

- a. Larutan 100 ppm

Untuk larutan 100 ppm sebanyak 100 ml diencerkan dari larutan 2000 ppm maka ; $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$V_1 \times 2000 = 100 \times 100$$

$$V_1 = \frac{100 \times 100}{2000}$$

$$= 5 \text{ ml}$$

Sehingga untuk membuat larutan standar 100 ppm diambil sebanyak 5 ml larutan dan di encerkan sebanyak 100 ml

b. Larutan 250 ppm

Untuk larutan 250 ppm sebanyak 100 ml diencerkan dari larutan 2000 ppm maka ; $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$V_1 \times 2000 = 100 \times 250$$

$$V_1 = \frac{100 \times 250}{2000}$$
$$= 12.5 \text{ ml}$$

Sehingga untuk membuat larutan standar 100 ppm diambil sebanyak 12.5 ml larutan dan di encerkan sebanyak 100 ml

c. Larutan 500 ppm

Untuk larutan 500 ppm sebanyak 100 ml diencerkan dari larutan 2000 ppm maka ; $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$V_1 \times 2000 = 100 \times 500$$

$$V_1 = \frac{100 \times 500}{2000}$$
$$= 25 \text{ ml}$$

Sehingga untuk membuat larutan standar 100 ppm diambil sebanyak 25 ml larutan dan di encerkan sebanyak 100 ml

d. Larutan 100 ppm

Untuk larutan 1000 ppm sebanyak 100 ml diencerkan dari larutan 2000 ppm maka ; $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

$$V_1 \times 2000 = 100 \times 1000$$

$$V_1 = \frac{100 \times 1000}{2000}$$
$$= 50 \text{ ml}$$

Sehingga untuk membuat larutan standar 100 ppm diambil sebanyak 50 ml larutan dan di encerkan sebanyak 100 ml

RIWAYAT HIDUP

| | | |
|----------------------|---|---|
| Nama | : | Zultira Harina Roza |
| Tempat/Tanggal Lahir | : | Kuta Makmoe, 16 Juli 1999 |
| Jenis Kelamin | : | Perempuan |
| Agama | : | Islam |
| NIM/ Jurusan | : | 170703026/Biologi |
| Kebangsaan/Suku | : | Indonesia/Aceh |
| Email | : | <u>zultiraharinaroza@gmail.com</u> |

Riwayat Pendidikan

| | | |
|------------------|---|------------------------------------|
| SD/MI | : | MIN Gunong Reubo (2004-2010) |
| SMP/MTs | : | SMPN 10 Kuala (2010-2013) |
| SMA/MA | : | SMA 1 Kuala (2013-2016) |
| Perguruan Tinggi | : | Universitas Islam Negeri Ar-Raniry |

Data Orang Tua

| | | |
|----------------|---|--|
| Nama Ayah | : | Zainuddin |
| Nama Ibu | : | Rahimah |
| Pekerjaan Ayah | : | Petani/Pekebun |
| Pekerjaan Ibu | : | Pensiunan |
| Alamat | : | Desa Kuta Makmoe, Kec. Kuala Kab. Nagan Raya |

Banda Aceh,
Yang menerangkan,

Zultira Harina Roza