

Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder yang Diisolasi dari Daun Mangrove *Sonneratia alba*

Verly Dotulong¹⁾, Lena J. Damongilala¹⁾, Djuhria Wonggo¹⁾, Lita A.D.Y. Montolalu¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Sam Ratulangi Manado, Indonesia
Jl.Kampus Unsrat Bahu Manado 95115
Email : verly_dotulong@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Mangrove termasuk *Sonneratia alba* adalah tumbuhan yang tumbuh pada daerah pasang surut dengan tekanan lingkungan yang cukup besar, keadaan ini menyebabkan tumbuhan mangrove menyintesis metabolit sekunder yang mempunyai bioaktivitas tertentu untuk melindungi diri dari perusakan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi metabolit sekunder antibakteri dari daun mangrove *S.alba*. Metode yang digunakan adalah mengisolasi metabolit sekunder pada fraksi etil asetat menggunakan kromatografi kolom dan identifikasi hasil isolasi dengan kromatografi lapis tipis hingga didapatkan isolat murni. Isolat murni dikarakterisasi strukturnya menggunakan spektroskopi HNMR, IR dan LC-MS. Isolat yang dihasilkan berupa minyak yang larut dalam metanol mempunyai rumus molekul $C_{24}H_{38}O_4$ dengan nama Di(2-etilhexil)ftalat. Aktivitas antibakteri dari senyawa ini sama dengan aktivitas antibakteri amoxicilin sebagai kontrol positif yaitu diameter zona hambat sebesar 7 mm pada konsentrasi sampel 0,21%.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri; metabolit sekunder; *Sonneratia alba*

Antibacterial Activity of Secondary Metabolites Isolated from Mangrove Leaves *Sonneratia alba*

ABSTRACT

Mangroves *Sonneratia alb* is a plants that grows in tidal areas with considerable environmental pressure. This condition causes the plant to synthesize secondary metabolites that have certain bioactivity to protect it self from destruction. The purpose of this study was to isolate antibacterial secondary metabolites from the mangrove leaves of *S.alba*. The method applied was to isolate secondary metabolites from the ethyl setate fraction using column chromatography and identified the results of isolation with thin layer chromatography until a pure isolate was obtained. Pure isolates were characterized in structure using HNMR, IR and LC-MS spectroscopy. The resulting isolate in the form of methanol-soluble oil had the molecular formula $C_{24}H_{38}O_4$ with the name Di(2-ethylhexyl)phthalate. The antibacterial activity of this compound was the same as the antibacterial activity of amoxicillin as a positive control, namely the diameter of the inhibition zone was 7 mm at a sample concentration of 0,21%.

Keywords: antibacterial activity; secondary metabolites; *Sonneratia alba*

(Article History: Received 21-07-2022; Accepted 27-09-2022; Published 29-09-2022)

PENDAHULUAN

Mangrove, *Sonneratia alba* adalah tumbuhan yang mampu tumbuh pada daerah pasang surut dengan tekanan lingkungan yang cukup besar antara lain salinitas, radiasi sinar matahari, kandungan bahan organik dan mineral yang tinggi (Noor *et al.*, 2012). Keadaan ini menyebabkan tumbuhan mangrove *S.alba* menyintesis metabolit sekunder yang mempunyai bioaktivitas tertentu untuk melindungi diri dari perusakan (Herawati, 2011)). Hal ini ditunjukkan oleh

kebiasaan masyarakat pesisir yang menggunakan ekstrak bahan mentah tumbuhan mangrove untuk keperluan obat-obatan secara alamiah (Darminto & Dini, 2012); (Nurmalasari *et al.*, 2016).

Mangrove *S.alba* adalah salah satu jenis mangrove yang dominan tumbuh di daerah pesisir pulau Bunaken Sulawesi Utara (Schaduw, 2016). Komponen metabolit sekunder pada ekstrak tumbuhan mangrove *S.alba* yaitu fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin, alkaloid, saponin (Cahyadi *et al.*, 2018); (Dotulong, *et al.*, 2020). Adanya komponen

metabolit sekunder ini membuat tumbuhan mangrove mempunyai bioaktivitas antara lain sebagai antioksidan (Wonggo *et al.*, 2017); (Dotulong *et al.*, 2018), antikanker (Latief, Nelson, Amanda, Tarigan, & Aisyah, 2020), antidiabetes (Adhikary *et al.*, 2018); (Usman *et al.*, 2019) dan antibakteri (Karim, *et al.*, 2020). Beberapa isolat yang diisolasi dari tumbuhan mangrove mempunyai fungsi sebagai bioaktif antara lain: β -sitosterol dan stigmastanol diisolasi dari Kulit Batang *Sonneratia ovata* Backer mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Karim, *et al.*, 2020); (Nurmalasari *et al.*, 2016), lupan-3 β -ol dan lupeol yang diisolasi dari kulit batang *Sonneratia alba* (Lythraceae) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Harizon *et al.*, 2014)), Lup-20(29)-en-3 β -ol dari ekstrak metanol daun mangrove *S. alba* berfungsi sebagai antibakteri (Musa *et al.*, 2018), Xylocensin-I yang diisolasi dari ekstrak etanol mangrove *Xylocarpus granatum* mempunyai aktivitas antidiabetes (Das, *et al.*, 2019), dan squalen dari mangrove *Rhizophora mucronata* mempunyai aktivitas antikanker lambung (Palaniyandi *et al.*, 2018).

Tujuan penelitian ini yaitu mengisolasi metabolit sekunder dari daun mangrove *S. alba* dan menguji aktivitas antibakteri isolat. Beberapa penelitian yang melaporkan tentang isolasi phthalate dari tumbuhan antara lain: Bis(-2-etilheksil)ftalat dari ekstrak *n*-heksana batang brotowali (Muharni *et al.*, 2015), di-butyl phthalate diisolasi dari tumbuhan *Begonia malabarica* (Shobi & Viswathan, 2018). Daun mangrove *S. alba* berpotensi sebagai antibakteri tetapi selama ini belum ada laporan tentang isolasi senyawa bioaktif dari daun mangrove *S. alba*, oleh karena itu penelitian tentang isolasi senyawa antibakteri dari daun mangrove *S. alba* ini penting dilakukan.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Sampel dan Determinasi

Pengumpulan sampel daun muda mangrove *Sonneratia alba* dilakukan pada Januari 2020 dari pesisir Desa Wori Sulawesi Utara Indonesia. Identifikasi sampel dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia.

Penelitian ini dilaksanakan dari Januari – November 2020.

Preparasi Sampel, Ekstraksi, Isolasi dan Karakterisasi senyawa (Dotulong, 2014))

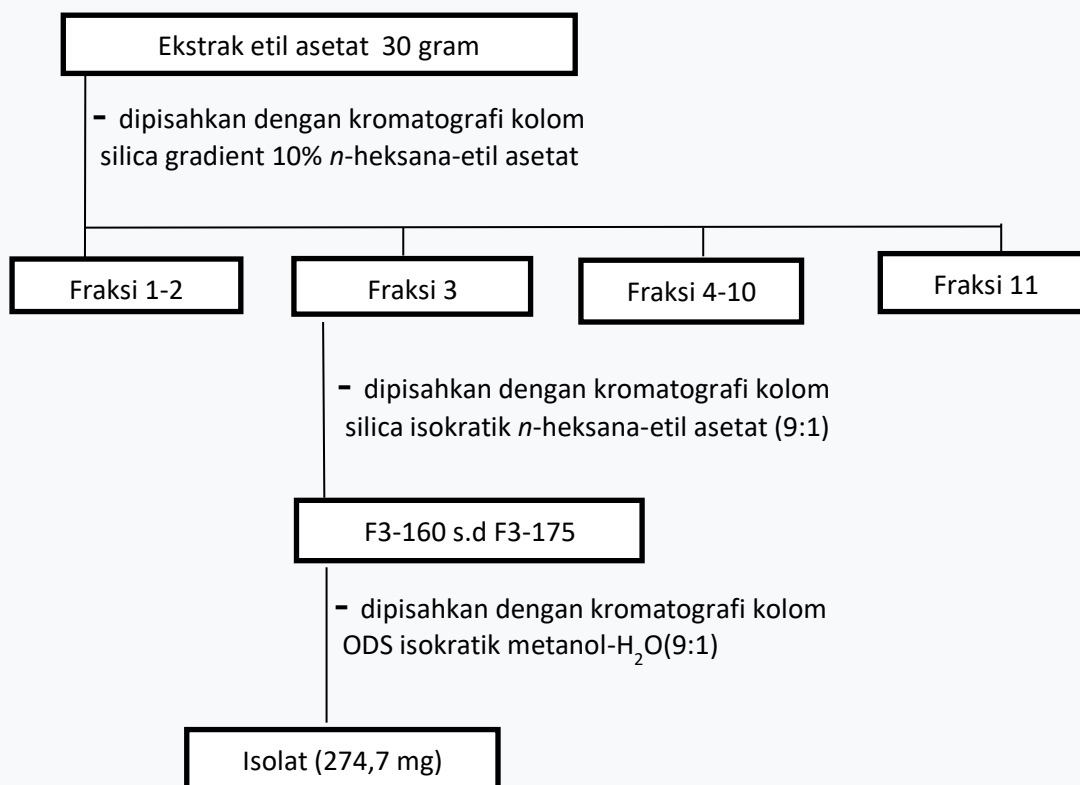
Sampel segar yang telah dibersihkan dikeringkan dibawah sinar matahari, setelah kering diblender menjadi serbuk, diekstrak dengan metanol (analytical grade - Merck Millipore-Germany), ekstrak cair dipekatkan dengan *rotary vakum evaporator* (Buchi, Zurich, Switzerland)) hingga menghasilkan ekstrak kering. Pada ekstrak kering dilakukan fraksinasi berkesinambungan dengan air-*n*-heksan (analytical grade - Merck Millipore - Germany) dan air-etilasetat (analytical grade - Merck Millipore - Germany). Hasil fraksinasi dipisahkan dan dipekatkan dengan *rotary vakum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak etilasetat.

Tahap selanjutnya adalah isolasi pada ekstrak etilasetat menggunakan Kromatografi Kolom (KK) dengan fasa diam silika gel 60F₂₅₄ dan fasa gerak *n*-heksana-etilasetat serta fasa diam silika gel 60F₂₅₄-RP-18 dan fasa gerak metanol, dan deteksi hasil pemisahan komponen menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan fasa diam dan fasa gerak yang sama, hingga didapatkan isolat murni, bagan prosedur isolasi dapat dilihat pada Gambar 1. Isolat murni dikarakterisasi strukturnya menggunakan spektroskopi Nuclear magnetic resonance (NMR) merk JEOL tipe ECA 500 dengan medan magnet 500 MHz (Akishima, Tokyo Japan) untuk analisis ¹H-NMR, FTIR-8400 Shimadzu untuk analisis spektrum IR dan UPLC TQD MS/MS H-Class Waters untuk analisis spektrum MS.

Pengujian Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan mengikuti prosedur Stephen (Stephen, 2005). Kultur bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan konsentrasi tertentu. diambil dengan menggunakan ujung lidi yang dibungkus dengan kapas, selanjutnya bakteri tersebut dioleskan pada lapisan agar secara merata dan dibiarkan beberapa saat agar bakteri tersebut berada pada lempeng agar,. selanjutnya dikeluarkan sampel agar yang meresap pada disk paper, disimpan pada lapisan atas agar yang telah dioleskan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C selama sehari. Langkah terakhir

adalah melakukan pengamatan dengan mengukur zona inhibisi yang terbentuk.



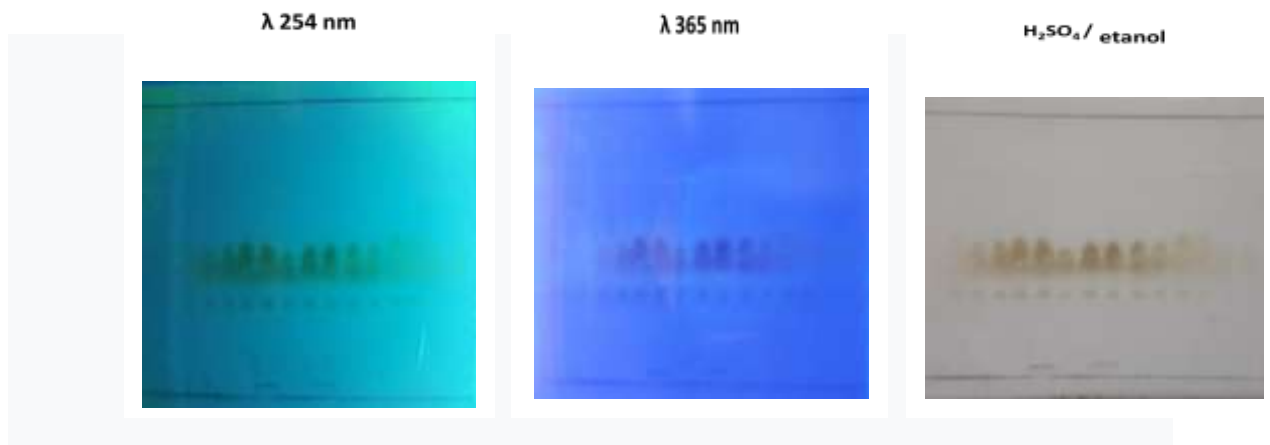
Gambar 1. Bagan prosedur isolasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

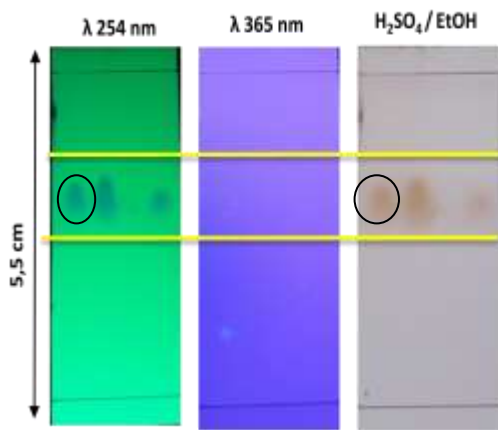
Pemisahan dan Pemurnian

Ekstrak etilasetat sebanyak 30 gram ditempatkan pada kolom kromatografi dengan perbandingan ekstrak dengan silika gel 1 : 20, dilakukan elusi secara bergradien 10% menggunakan eluen *n*-heksana-etilasetat diperoleh 11 fraksi, selanjutnya fraksi no 3 sebanyak adalah 4,6 gram, dipisahkan menggunakan fasa diam Silika Gel 60F₂₅₄ dan fasa gerak *n*-heksana-etilasetat 9,5:0,5 secara isokratik dihasilkan 175 sub fraksi. Deteksi hasil pemisahan menggunakan kromatografi lapis (KLT) silika gel 60F₂₅₄ dengan eluen *n*-heksana-etilasetat 9,5:0,5 ditemukan fraksi 160-175 mempunyai nilai R_f yang sama setelah KLT dilihat dibawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 dan 365 nm serta menggunakan reagen penampak noda yaitu H₂SO₄ dalam etanol (Gambar 2) sehingga fraksi-fraksi ini digabungkan untuk dilakukan isolasi tahap ke 3.

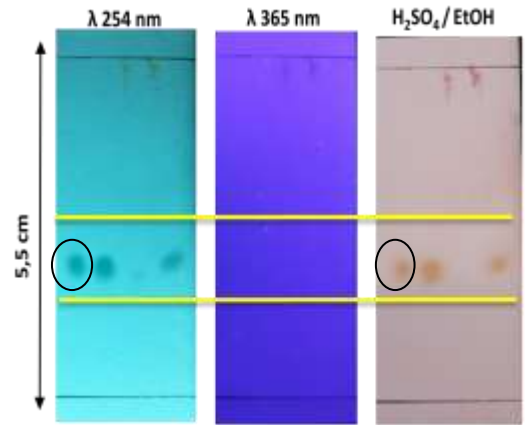
Isolasi tahap ke-3 menggunakan massa sampel sebesar 0,33 g dengan kromatografi kolom secara isokratik fasa diam Silika Gel 60F₂₅₄ Rp-18 dan fasa gerak metanol air 9:1, dihasilkan 46 sub fraksi. Selanjutnya Setelah dianalisis dengan 2 jenis KLT yaitu : 1. Silika gel 60F₂₅₄ dan fasa gerak *n*-heksana-etilasetat 9,5:0,5 (Gambar 3a); 2. Silika gel 60F₂₅₄ RP-18, fasa gerak metanol 100% (Gambar 3b) ditemukan isolat murni pada sub fraksi no 5 berbentuk minyak dengan massa 124 mg. Isolat memiliki nilai R_f 0,6 pada KLT Silika gel 60F₂₅₄ dengan fasa gerak *n*-heksana-etilasetat (9,5:0,5) dan R_f 0,4 pada KLT Silika gel 60F₂₅₄-RP-18 dengan fasa gerak metanol.



Gambar 2. Analisis KLT fraksi 160-175 menggunakan pelarut n-heksana-etilasetat 9,5:0,5



Gambar 3a. Analisis KLT fraksi 5,6,12 dan 13 silika G 60 F254 dengan pelarut Heksan-Etil asetat (9,5:0,5)



Gambar 3b. Analisis KLT fraksi 5,6,12 dan 13 silika G 60 Rp-18 F254S dengan pelarut Metanol 100%

Karakterisasi Isolat

Berdasarkan spektrum infra merah (Gambar 4), isolat memiliki gugus CH sp^3 , karbonil (C=O), C=C aromatik, dan gugus eter (C-O). Serapan pada bilangan gelombang 2943,3 cm^{-1} menunjukkan stretching ikatan tunggal C-H sedangkan gugus karbonil terlihat pada serapan 1724,3 cm^{-1} . Selanjutnya, serapan 1462,0 – 1592,1 cm^{-1} merupakan serapan khas untuk ikatan karbon-karbon aromatik. Serapan khas yang lainnya pada 1132,2 dan 1274,9 adalah ciri khas gugus eter.

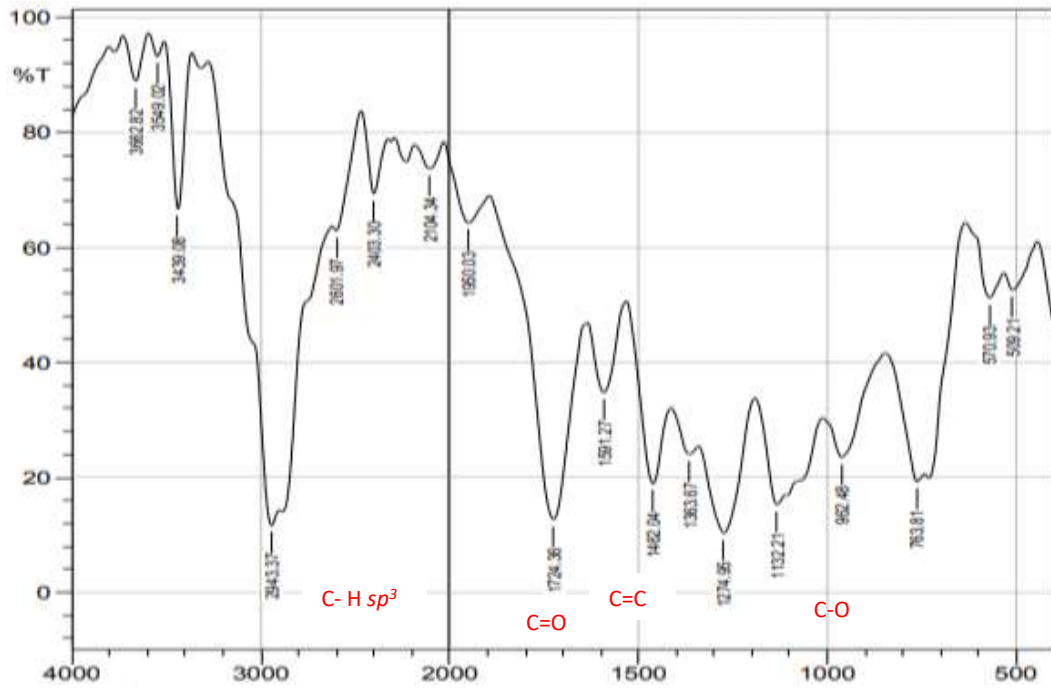
Isolat diukur menggunakan spektroskopi NMR (*nuclear magnetic resonance*) untuk mengetahui jumlah, jenis dan lingkungan proton dan untuk mengetahui

jumlah, jenis serta pemecahan sinyal karbon yang tergantung dari jumlah proton yang terikat (metin, metilen, metil dan karbon kuarterner). Data spektrum 1H -NMR pada Gambar 5, memperlihatkan adanya 6 sinyal proton yang terdiri dari dua sinyal proton ikatan rangkap (sp^2) dan yang lainnya adalah proton sp^3 . Proton sp^2 ditunjukkan dengan jelas pada Gambar 6.

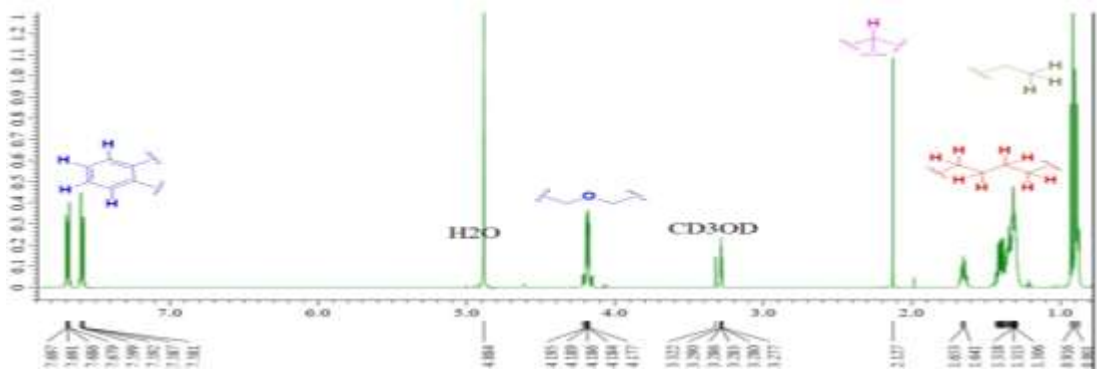
Ada dua sinyal pada pergeseran kimia 7,69 dan 7,59 ppm dengan nilai penjodohan yang sama yaitu 3,1 dan 8,8 Hz. Hal ini menunjukkan keduanya membentuk posisi meta dan orto. Selanjutnya satu sinyal proton pada pergeseran 4,17-4,19 ppm merupakan hidrogen yang terikat pada karbon teroksidasi, kemudian dua sinyal yang

bertumpuk pada rentang 1,64-1,66 dan 1,30-1,32 adalah sinyal metilen yang membentuk rantai hidrokarbon jenuh (Gambar 7), sinyal

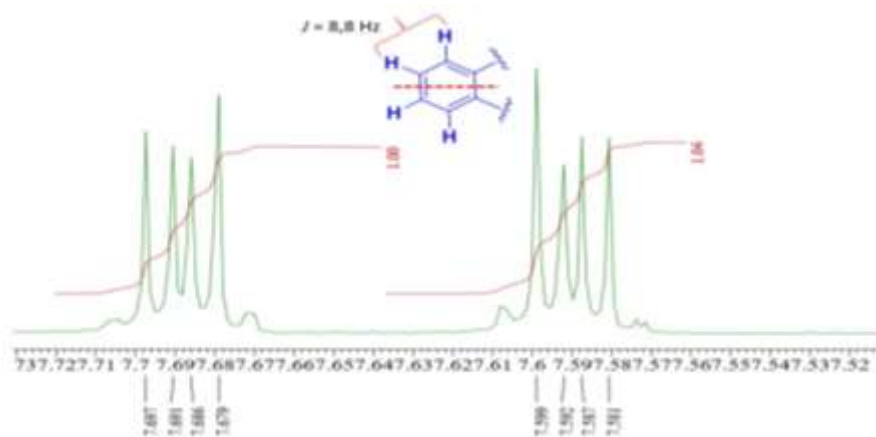
yang terakhir ini adalah sinyal metil dengan multiplisitas triplet yang menunjukkan adanya korelasi dengan metilen ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$).



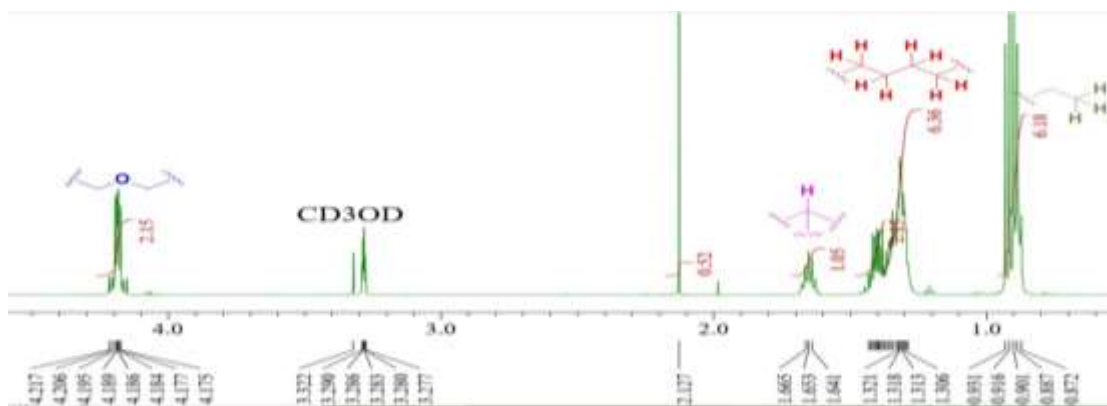
Gambar 4. Spektrum IR Isolat (dalam plat KBr)



Gambar 5. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat (125 MHz dalam metanol-D4)



Gambar 6. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat perbesaran ke-1 (500 MHz dalam metanol-D4)



Gambar 7. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat perbesaran ke-2 (500 MHz dalam metanol-D4)

Data spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat yang dihasilkan diduga adalah senyawa Di(2-etilhexil)ftalat (DEHP) karena mempunyai nilai pergeseran kimia yang sama dengan nilai pergeseran kimia pada hasil penelitian (Garg, Bihst, & Ling, 2014), data ini ditampilkan pada Tabel 1. Pada Tabel ini dapat terlihat bahwa isolat memiliki struktur seperti DEHP,

hanya saja jumlah proton yang tampak pada spektrum adalah jumlah proton pada perbandingan terkecilnya karena senyawa DEHP ini adalah senyawa simetris sehingga setiap sinyal proton yang muncul pada kenyataannya adalah dua kali lipat dari jumlah proton yang tampil pada spektrum.

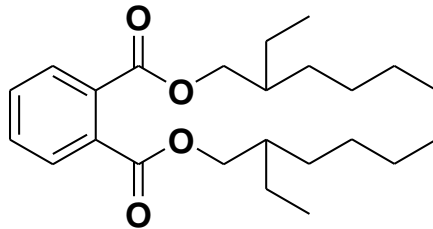
Tabel 1. Data pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ isolat dan DEHP

No	δ_{H} (Int., mult., J =Hz) 500 MHz (ppm)	
	Isolat	DEHP (Di(2-etilhexil) ftalat)*
1	7,69 (dd, 1H, $J = 8,8, 3,1$ Hz),	7,7 (dd, 2H, $J = 8,8, 3,1$ Hz),
2	7,59 (dd, 1H, $J = 8,8, 3,1$ Hz)	7,5 (dd, 2H, $J = 8,8, 3,1$ Hz)
3	4,17-4,19 (t, 2H, -O-CH ₂)	4,21-4,23 (t, 4H, -O-CH ₂)
4	1,64-1,66 (q, 1H, -CH ₂)	1,61-1,65 (m, 2H, -CH)
5	1,30-1,32 (m, 8H, -CH ₂)	1,23-1,32 (m, 16H, -CH ₂)
6	0,90 (t, 6H, -CH ₃)	0,85 (t, 6H, -CH 3)
		0,80 (t, 6H, -CH ₃)

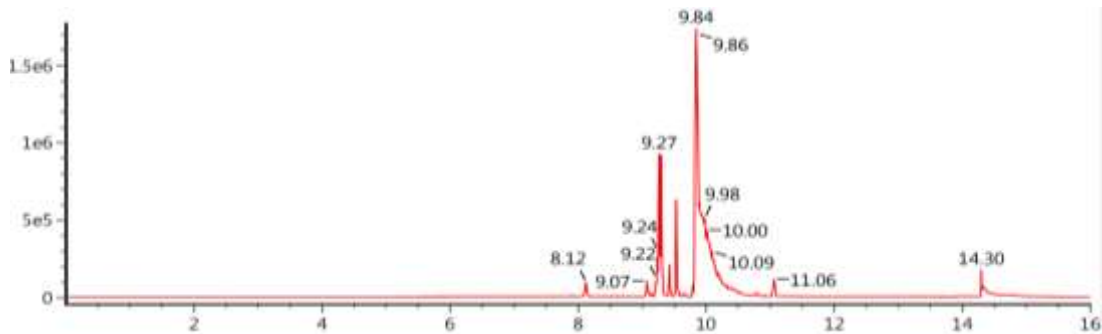
*Sumber: (Garg, Bihst, & Ling, 2014)

Isolat berupa minyak yang larut dalam metanol. Dengan mengacu pada data NMR yang telah diuraikan, didapat dugaan struktur dari isolat yang ditunjukkan pada Gambar 8.

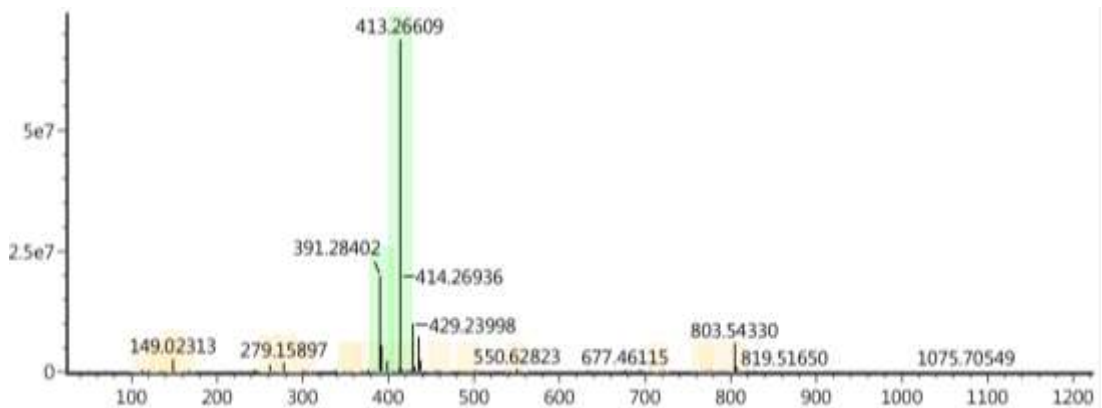
Karakterisasi selanjutnya adalah analisis spektroskopi massa. Berdasarkan spektrum LC-MS, puncak pada waktu retensi 9.86 merupakan Di(2-etilhexil)ftalat (Gambar 9).



Gambar 8. Dugaan struktur isolate



Gambar 9. Spektrum massa (LC-MS) Isolat



Gambar 10. Spektrum massa isolat

Pada spektrum massa lanjutannya (Gambar 10), diketahui bahwa isolat memiliki puncak 391 yang berarti massa molekul relatifnya adalah 390 karena spectrum masa ini ESI+ (ditambah satu elektron sehingga Mr dalam spectrum bertambah 1). Kerangka struktur yang didapat dan data masa molekul

relatif pada spektrum masa sangat mendukung bawa senyawa $C_{24}H_{38}O_4$ memiliki Mr 390. Hal ini sesuai dengan dugaan struktur bahwa isolat adalah Di(2-etilhexil)ftalat rumus molekul $C_{24}H_{38}O_4$. Senyawa serupa telah diisolasi dari ekstrak etilasetat jamur endofitik tumbuhan brotowali (*Tinosporacrispa* L)

(Elfita, Munawar, & Wahyuni, 2014) dan juga dari ekstrak *n*-heksana batang brotowali (*Tinosporacrispa* L) berbentuk minyak berwarna kuning setelah dianalisis dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etilasetat 9,5 : 1,5 diduga adalah bis-(2-etilheksil)ftalat (Muharni, Elfita, & Masyita, 2015).

Aktivitas Antibakteri Isolat

Hasil pengujian aktivitas antibakteri isolat yaitu Di(2-etilhexil)ftalat dengan menggunakan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat (mili meter zona hambat) isolat terhadap pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol positif Amoxilin. Data hasil pengujian antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil analisis menunjukkan bahwa isolat yaitu Di(2-etilhexil)ftalat pada konsentrasi 0.21% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 7 mm, diameter zona hambat ini tergolong kuat karena sama besar dengan daya

hambat amoxilin sebagai kontrol positif, sebaliknya isolat menunjukkan tidak mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri gram positif (*S.aureus*) lebih sensitif terhadap isolat daripada kelompok bakteri gram negatif. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa senyawa golongan ftalat yaitu di-butyl ftalat yang diisolasi dari tumbuhan *Begonia malabarica* mempunyai kemampuan untuk menghambat bakteri genus *Staphylococcus* yaitu daya hambat terhadap bakteri *S. epidermidis*, *S. pneumonia* sebesar 9 mm pada konsentrasi sampel 100 mg/ml (Shobi & Viswathan, 2018). Menurut mekanisme kerjanya maka bioaktif antibakteri dapat bekerja dengan beberapa cara, yaitu sebagai penghambat pertumbuhan dinding sel, pengubah permeabilitas membrane sel atau penghambat transpor aktif dalam membran sel, penghambat sintesis protein, dan antibakteri penghambat sintesis asam nukleat sel (Damongilala *et al.*, 2021).

Tabel 2. Aktivitas antibakteri isolat yaitu Di(2-etilhexil)ftalate terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Jenis Sampel	Diameter zona hambat	
	<i>E.coli</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)
Isolat 0.21%	-	7
Amoxilin 0,21%	5	7

KESIMPULAN

Metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak etilasetat daun mangrove *Sonneratia alba* menggunakan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis berbentuk minyak dan setelah dikarakterisasi dengan spektrofotometer H-NMR, IR dan LC-MS adalah senyawa Di(2-etilhexil)ftalat mempunyai rumus molekul C₂₄O₄H₃₈. Di(2-etilhexil)ftalat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* sama dengan aktivitas antibakteri amoxilin sebagai kontrol positif yaitu diameter zona hambat sebesar 7 mm pada konsentrasi sampel 0.21%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikary, A., Ray, M., Das, A.K., & Sur, T. K. 2018. Antidiabetic and Antioxidant Activity of *Rhizophora mucronata* Leaves (Indian Sundarban Mangrove): An in Vitro and In Vivo Study. *International Quarterly Journal of Research* , **37(1)**: 76-81.
- Cahyadi, J., Satriani, G.I., Gusman, E., & Sabri. 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak Buah mangrove (*Sonneratia alba*) Sebagai Bioenrichment Pakan alami Artemia Salina. *Phytochemical Jurnal Borneo Saintek*, **1(3)**: 33-39.
- Damongilala, L.J., Losung, F., & Dotulong, V. 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma spinosum* Segar dari Perairan Pulau Nain Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Sains*, **21(1)**: 91-95.

- Darminto, A., & Dini, I. 2012. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Utama Ekstrak Etanol Kulit Batang Tumbuhan Mangrove (*Avicennia* spp). *Jurnal Sainsmart*, **1(1)**: 61-67.
- Das, S.K., Samantaray, D., Sahoo, S.K., Pradhan, S.K., Samanta, Samanta, L., 2019. Bioactivity Guidet Isolation of Antidiabetic and Antioxidant Compount from *Xylocarpus granatum* J Koenic bark. *Biotech*, **9(5)**: 1-9.
- Dotulong, A.R., Dotulong, V., Wonggo, D., Montolalu, L.A., Harikedua, S.D., Mentang, F. 2020. Metabolit Sekunder Ekstrak air Mendidih Daun Mangrove *Sonneratia alba*. *Media Teknologi Hasil Perikanan* , **8(2)**: 66-69.
- Dotulong, V. 2014. Aktifitas Antioksidan Alga Laut *Caulerpa sertularoides*, *Laurencia tranoi*, *Padina australis*, Isolasi dan Elusidasi Senyawa Aktif pada Fraksi *n*-Heksana *Laurencia tranoi*. Disertasi. Universitas Brawijaya, Program Studi Ilmu Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang.
- Dotulong, V., Wonggo, D., & Montolalu, L. A. 2018. Phytochemical Content, Total Phenols and Antioxidant Activity of Mangrove *Sonneratia alba* Young Leaf Through Extraction Methods and Solvents. *International Journal of ChemTech* , **11(11)**: 356-363.
- Elfita, Munawar, & Wahyuni, S. 2014. Isolation of Secondary Metabolite Compounds of Phatalate Derivatives from Endophytic Fungi of Brotowali Plant (*Tinospora crispa* L). *Biodevercsity Seminar Proeeiding*, (pp. **2(3)**: 241-244.
- Garg, B., Bihst, T., & Ling, Y.C. 2014. Sulfonated Graphene as Highly Efficient and Reusable Acid Carbocatalyst for The Synthesis of Ester Plasticizers Electronic Supplementary Material (ESI) for RSC Advances . *The Royal Society of Chemistry* , **4(100)**: 1-15.
- Harizon, Pudjiastuti, B., Kurnia, D., Samiarsa, D., & Shiono. 2014. Triterpenoid Lupan dari Kulit Batang *Sonneratia alba* (Lytraeaceae) . *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik* , **16(1)**: 25-29.
- Herawati, N. 2011. Identifikasi Senyawa Bioaktif Tumbuhan Mangrove *Sonnerati alba*. *Jurnal Chemical*, **12(2)**: 54-58.
- Karim, M.A., Islam, A., Islam, M.M., Rahman, M. S., Sultana, S., Biswas, S. 2020. Evaluation of Antioxidant , Anti Hemolytic, Cytocxic Effects and Antibacterial of Selected Mangrove Plants (*Bruguera gymnorrhiza* and *Heritiera litoralis* in Bangladesh Activity. *Clinical Phytiscience*, **6(8)**: 1-12.
- Latief, M., Nelson, Amanda, H., Tarigan, I. L., & Aisyah, S. 2020. Potential Trackingof Citotoxic Activities of Mangrove Perepate (*Sonneratia alba*) Root Extract as an Anti-cancer Candidate. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Reseach*, **6(8)**:1-12.
- Muharni, Elfita, & Masyita. 2015. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak *n*-Heksana Batang Tumbuhan Brotowali (*Tinospora crispa*). *Molekul*, **10(1)**: 38-44.
- Musa, W.J., Duengo, S., & Situmeang, B. 2018. Isolatin and Characterization TYriterpenoid Compound from Leaf Mangrove Plant (*Sonneratia alba*) and Antibacterial Activity Tes. *Int. Res. J. Pharm*, **9(3)**: 85-89.
- Noor, Y.R., Khazali, M., & Suryadipura, I.N. 2012. Panduan Pengenalan Mangrove Indonesia.
- Nurmalasari, F., Ersam, T., & Fatimawati, S. 2016. Isolasi senyawa Antioksidan dari kulit Batang *Sonneratia Ovata* Backer. *Jurnal sains dan seni*, **5(2)**: 149-153.
- Palaniayandi, T., Sivaji, A., Thiruganasambandam, R., Natarajan, S., & Hari, R. 2018. In Vitro Antigastric Cancer Activity of Squalene, a Triterpenoid Compound Isolated from *Rhizophora Mucronata* Mangrove Plant Leaves Againts AGS Cell Line. *Pharmacognosy Magizine*, **14(57)**: 369-375.
- Schaduw, J.N. 2016. Kondisi Ekologi Mangrove Pulau Bunaken Kota Manado Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi* , **3(2)**: 64-74.

- Shobi, T.M., & Viswathan, M.B. 2018. Antibacterial Activity of Di-butyl Phthalate Isolated from *Begonia malabaric*. *Journal of Applied Biotechnology dan Bioengineering*, **5(2)**: 97-100.
- Stephen, J. (2005). Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. *American Society for Microbiology*.
- Usman, Amir, M., Erika, F., Nurdin, M., & Kuncoro, H. 2019. Antidiabetic Activity of Leaf Extract from Three Types of Mangrove Originating from Sambera Coastal Region Indonesia. *Research Journal Pharm and Tech*, **12(4)**: 1707-1712.
- Wonggo, D., Berhimpon, S., Kurnia, D., & Dotulong, V. 2017. Antioxidan Activity of *Sonneratia alba* Fruit from Wori Village North Sulawesi Indonesia. *International Journal of ChemTech Research*, **10(12)**: 284-290.