

ANALISIS AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN MANGROVE *Avicennia marina* DARI KABUPATEN TRENGGALEK DAN KABUPATEN PASURUAN TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Vibrio alginolyticus*

Ridha Handriany Danata , Ade Yamindago

Program Studi Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
e-mail: adeydago@ub.ac.id

ABSTRAK

Avicennia marina mampu beradaptasi pada habitat pasang-surut dan memiliki toleransi salinitas bervariasi. Bentuk adaptasi tersebut berpotensi mempengaruhi komposisi senyawa metabolit sekunder *A. marina*. Penelitian ini bertujuan mengetahui komposisi senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun *A. marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan dan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *A. marina* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. Hasil uji fitokimia menunjukkan kandungan alkaloid, flavonoid, dan saponin pada ekstrak *A. marina* dari kedua lokasi. Namun, kandungan senyawa Terpenoid dan Tanin hanya ditemukan pada stasiun dengan kondisi tertentu. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun *A. marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan terhadap *S. aureus* menunjukkan hasil rata-rata diameter zona bening sebesar 4,43 – 5,79 mm dan terhadap *V. alginolyticus* sebesar 4,25 – 5,48 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove *A. marina* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *V. alginolyticus*. Perbedaan habitat tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kemampuan daya hambat, tetapi pada komposisi senyawa bioaktif.

Kata Kunci: aktivitas antibakteri, *Avicennia marina*, Kabupaten Pasuruan, Kabupaten Trenggalek, senyawa metabolit sekunder

ANTIBACTERIAL ACTIVITY ANALYSIS OF LEAF EXTRACT FROM DISTRICT MANGROVE *Avicennia marina* PASURUAN TRENGGALEK AND ON THE GROWTH AND *Staphylococcus aureus*, *Vibrio alginolyticus*

ABSTRACT

Avicennia marina capable of adapting to the habitat in tidal and have varying salinity tolerance. Adaptation has the potential to affect the composition of secondary metabolites, *A. marina*. This study aims to determine the composition of bioactive compounds contained in extracts of leaves of *A. marina* of Trenggalek and Pasuruan and determine the antibacterial activity of the extracts of *A. marina* in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Vibrio alginolyticus*. The test results showed phytochemical content of alkaloids, flavonoids and saponins in the extracts of *A. marina* from both locations. However, the compound Terpenoid and Tannins are found only in stations with certain conditions. The test results of antibacterial activity of the extracts of leaves of *A. marina* Trenggalek and Pasuruan against *S. aureus* showed an average yield of clear zone diameter of 4.43 to 5.79 mm and against *V. alginolyticus* of 4.25 to 5.48 mm. This indicates that *A. marina* mangrove leaf extract can inhibit the growth of bacteria *S. aureus* and *V. alginolyticus*. Differences habitat does not have a significant impact on the ability of inhibition, but the composition of bioactive compounds.

Keywords: antibacterial activity, *Avicennia marina*, Pasuruan, secondary metabolites, Trenggalek

PENDAHULUAN

Avicennia marina atau mangrove api-api (Famili *Avicenniaceae*) merupakan salah satu jenis mangrove yang terdapat di Indonesia (Macnae, 1968). Jenis mangrove tersebut umum ditemukan di wilayah pantai utara dan selatan Pulau Jawa antara lain Kabupaten Trenggalek dan Pasuruan, Jawa Timur.

A. marina mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam gangguan biologis seperti sebagai antioksidan, antitumor, *antiinflammatory*, antialergi, antimikroba, *antiageing*, *anticholinergic*, *anticonvulsant*, *antiatherosclerotic* dan *antituberculin* (Prabhu *et al.*, 2012). Menurut Amirkaveei *et al.* (2011), ekstrak *A. marina* lebih efektif digunakan sebagai anti bakteri dibandingkan anti jamur.

Wibowo *et al.* (2009) mengemukakan bahwa *A. marina* yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa *alkaloid*, *saponin*, *tanin*, *fenolik*, *flavonoid*, *triterpenoid* dan *glikosida* serta tidak ditemukan adanya steroid. Namun, Abeysinghe *et al.* (2006) menemukan kandungan senyawa steroid pada *A. marina* yang terdapat di Sri Lanka. Selanjutnya, Oktavianus (2013) menunjukkan adanya perbedaan kemampuan antibakteri secara signifikan sebagai akibat dari perbedaan habitat mangrove *A. marina* yang di koleksi di Sulawesi Selatan.

Populasi mangrove *A. marina* yang terdapat di Pantai Utara (Kabupaten Pasuruan) dan Selatan (Kabupaten Trenggalek) memberikan gambaran perbedaan habitat. Fauzi (2012) menyatakan bahwa banyak sungai yang bermuara di pantai utara pulau Jawa. Sungai ini membawa sejumlah material organik dari daratan. Berbeda dengan Pantai Selatan Pulau Jawa yang sebagian besar merupakan pantai berpasir dan memiliki dasar laut yang curam. Perbedaan habitat tersebut diduga memberikan pengaruh terhadap komposisi senyawa bioaktif dan kemampuan anti bakteri pada mangrove *A. marina*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun *A. marina* pada Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan serta aktivitas antibakteri ekstrak *A. marina* dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan April-Mei 2014. Pengambilan sampel daun mangrove *A. marina* dilakukan pada 6 stasiun yang terdiri dari 3 stasiun di Desa Cengkong Kecamatan Karanggandu, Kabupaten Trenggalek dan 3 Stasiun di Desa Penunggul Kecamatan Nguling, Kabupaten Pasuruan.

Proses ekstraksi daun mangrove dilakukan di Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Uji fitokimia dan uji aktivitas bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Ekstraksi Daun Mangrove *A. marina*

Sampel daun diambil pada bagian yang tua (berwarna hijau) dan utuh masing-masing sebanyak 1 kg. Sampel dimasukkan ke dalam plastik *polyethylene* dan dikeringkan dengan panas matahari hingga kandungan air $\pm 15\%$ (Prihanto *et al.*, 2012). Sampel daun dikeringkan dan dihaluskan kemudian dimaserasi menggunakan pelarut metanol (perbandingan 1:3) selama 24 jam.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid (Prihanto *et al.*, 2011)

Lima ml ekstrak ditambahkan dengan 2 ml HCl kemudian ditambahkan Reagen Dragendorff. Ekstrak yang positif mengandung alkaloid akan menunjukkan warna orange atau merah pada presipitat.

2. Uji Terpenoid (Prihanto *et al.*, 2011)

Lima ml ekstrak ditambahkan 2 ml kloroform dan 3 ml H₂SO₄ secara pelan dan hati-hati hingga terbentuk lapisan berwarna merah kecoklatan yang menunjukkan positif terpenoid

3. Uji Saponin (Astuti, 2010)

Kurang lebih 2 gram serbuk sampel daun kering dilarutkan dengan 20 ml aquades dan dididihkan dengan pemanas air, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Sebanyak 10 ml filtrat ditambahkan dengan 5 ml aquades dan dikocok hingga terbentuk busa stabil. Selanjutnya, ditambahkan *olive oil* dan dikocok dengan keras. Ekstrak mengandung saponin apabila terbentuk emulsi yang stabil.

4. Uji Flavonoid (Astuti, 2010)

Satu gram sampel diekstraksi dengan 5 ml etanol kemudian tambahkan beberapa tetes HCl pekat dan 1,5 gram magnesium. Indikasi adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah muda atau merah magenta dalam waktu 3 menit.

5. Uji Tanin (Zohra *et al.*, 2012)

Kurang lebih 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml air. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₂ dan diamati perubahan warna yang terjadi. Warna hijau hingga biru kehijauan menandakan adanya *catechic tannin* atau biru kehitaman yang menandakan adanya *gallic tannin*.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode cakram. Isolat murni bakteri uji diperbanyak/diremajakan menggunakan agar TSA miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil peremajaan tersebut diambil beberapa koloni bakteri dan dipindahkan ke dalam larutan NaFis 0,9% menggunakan jarum ose. Kekeuhan larutan dibandingkan dengan reagen Mc Farlan's Barium Sulfat yang setara dengan $\pm 10^7$ sel bakteri.

Pembuatan media NA dilakukan dengan dua cara yaitu: (1) NA (*Nutrien Agar*) sebanyak 1,6 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan air laut steril sebanyak 80 ml. Media NA ini digunakan untuk penanaman bakteri *Vibrio alginolyticus*, (2) media NA untuk penanaman bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan memasukkan 1,6 gram NA ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 80 ml. Kedua erlenmeyer diaduk dan direbus hingga homogen kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. Media steril dituang ke dalam cawan petri kurang lebih sebanyak 20 ml dan ditunggu hingga memadat. Penuangan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah adanya kontaminasi.

Larutan perendaman ekstrak mangrove *A. marina* dengan konsentrasi 1600 ppm dibuat dengan melarutkan 1600 mg ekstrak ke dalam 1 liter metanol. Larutan perendaman streptomisin 2% digunakan sebagai penanda adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji dibuat dengan melarutkan 2 gram bubuk streptomisin ke dalam 98 ml aquades (b/v). Larutan perendaman metanol p.a digunakan untuk menunjukkan bahwa pelarut dalam proses ekstraksi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji dibuat dengan menuangkan 20 ml larutan metanol p.a ke dalam cawan petri.

Bakteri diinokulasi pada media menggunakan *cotton swab* dengan metode tebar (*spread plate method*), kemudian meletakkan *paper disc* yang telah mengandung ekstrak dari masing-masih stasiun, streptomisin, dan metanol p.a pada media agar dengan sedikit ditekan supaya dapat meresap. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Mangrove *A. marina*

Dari daun kering sebanyak 150 gram yang diekstraksi dengan metanol p.a 450 ml, didapatkan hasil rendemen seperti pada Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Mangrove *A. marina*

Lokasi Pengambilan Sampel	Stasiun	Rendemen (%)	Lama Perendaman (jam)
Trenggalek	1	3,97	26
	2	5,38	30
	3	3,68	26
Pasuruan	1	4,43	28
	2	4,27	28
	3	2,99	24

Uji Fitokimia

Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun *Avicennia marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan dapat diketahui bahwa ekstrak dari seluruh stasiun positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin. Senyawa tanin hanya ditemukan di stasiun 2 (Kabupaten Pasuruan) dan senyawa terpenoid ditemukan di seluruh stasiun kecuali stasiun 2 (Kabupaten Trenggalek) (Tabel 2).

Tabel 2. Uji Fitokimia

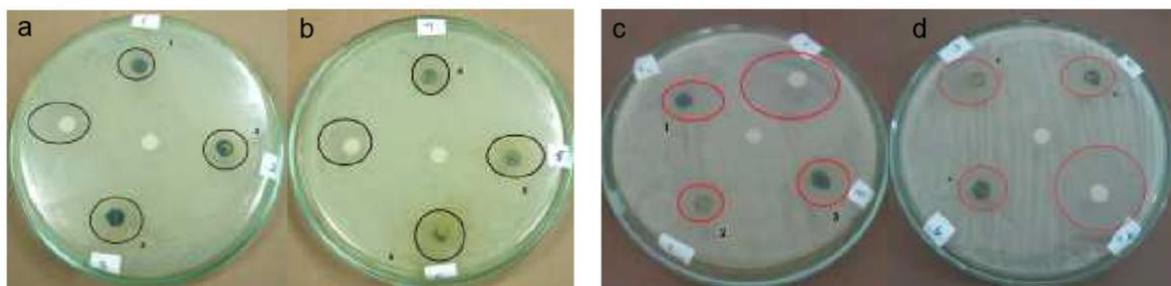
Lokasi Pengambilan Sampel	Stasiun	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Tanin	Terpenoid
Trenggalek	1	+	+	+	-	+
	2	+	+	+	-	-
	3	+	+	+	-	+
Pasuruan	1	+	+	+	-	+
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	-	+

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *A.marina* (setelah dikurangi dengan diameter kertas cakram sebesar 6 mm) terhadap *S. aureus* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan menunjukkan hasil rata-rata diameter zona bening sebesar 4,43-5,79 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *A.marina* terhadap *Vibrio alginolyticus* menunjukkan hasil rata-rata diameter zona bening sebesar 4,25-5,48 mm (Tabel 2) dan Gambar 1.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Lokasi Pengambilan Sampel	Stasiun	Diameter Zona Bening (mm)									Metanol	
		<i>S.aureus</i>				<i>V.alginolyticus</i>						
		Pengulangan			Rata-rata	Pengulangan			Rata-rata	Streptomycin		
1	2	3		1	2	3						
Trenggalek	1	6	4,28	3	4,43	19,4	4,4	3,35	5	4,25	13,69	0
	2	8,2	4,4	4,15	5,58		6	4,25	6,2	5,48		0
	3	10,05	2,3	2,38	4,91		5,18	2,4	6,38	4,65		0
Pasuruan	1	6,2	6,23	4,08	5,5	6	4,25	4,4	4,88	0		
	2	6,23	4,15	3,38	4,58	8	4,18	4,18	5,08	0		
	3	8,05	4,08	5,25	5,79	7,25	3,25	3,25	4,63	0		



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri (Ditandai Dengan Lingkaran) *S. aureus* (a) Kabupaten Trenggalek, (b) Kabupaten Pasuruan dan *V. alginolyticus* (c) Kabupaten Trenggalek, (d) Kabupaten Pasuruan

Hasil Pengukuran Parameter Lingkungan

Hasil pengukuran parameter lingkungan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada Salinitas dan suhu pada kedua lokasi penelitian tersebut (Tabel 4).

Tabel 4. Parameter Lingkungan

Stasiun	Parameter Lingkungan						
	Perairan				Tanah		
	pH	DO	Suhu	Salinitas	pH tanah	Bahan Organik	
Trenggalek	1	7,29	10,1	32	5	6,3	5,27
	2	7,11	10,5	31	2	5,35	2,01
	3	7	9,3	30,7	4	5,3	2,6
Pasuruan	1	7,94	5,00	29,30	31,33	7,3	0,3
	2	7,92	5,37	30,87	30,67	6,9	1,47
	3	8,22	5,37	31,40	29,33	7,5	0,69

Pembahasan Uji Fotokimia

Pada stasiun 2 (Kabupaten Pasuruan) tidak ditemukan adanya terpenoid. Hal ini dapat disebabkan oleh salinitas yang rendah. Menurut Oku *et al.* (2003), senyawa triterpenoid memainkan peran penting untuk melindungi mangrove dari tekanan garam atau salinitas. Pada kondisi salinitas tinggi, tumbuhan *A. marina* dapat mengubah tingkat metabolit sekunder seperti triterpenoid atau senyawa fenolik untuk meningkatkan sistem pertahanan terhadap tekanan oksidatif. Hal tersebut berpotensi mempengaruhi kandungan senyawa terpenoid pada stasiun 2 Kabupaten Trenggalek yang diketahui memiliki salinitas 2 ‰ atau lebih rendah daripada stasiun lainnya (Tabel 4).

Hanya pada stasiun 2 (Kabupaten Trenggalek) yang mengandung tanin yang dapat disebabkan oleh pengaruh pH tanah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ehike dan LeGare (1993), diketahui bahwa kandungan tanin dalam tanaman dipengaruhi oleh pH tanah. Kadar pH tanah yang rendah atau cenderung asam berpotensi mengurangi produksi tanin oleh tanaman. Kadar pH tanah di stasiun 2 Kabupaten Pasuruan adalah 6,9 yang berarti lebih tinggi daripada pH tanah di Kabupaten Trenggalek (5,3 – 6,3) namun paling rendah daripada stasiun lain di Kabupaten Pasuruan (7,3 di stasiun 1 dan 7,5 di stasiun 3) (Tabel 4).

Pembahasan Uji Aktivitas Antibakteri

Perbedaan Zona Hambat Antara Bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Vibrio Alginolyticus*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *A. marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan menunjukkan adanya zona bening sebagai indikator adanya daerah hambatan. Hal ini berarti bahwa senyawa antimikrobal yang berdifusi ke dalam agar dari kertas cakram mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *V. alginolyticus*. Kontrol streptomisin yang digunakan untuk menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji menunjukkan hasil positif (ada zona bening), sedangkan metanol p.a yang digunakan untuk menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji menunjukkan hasil negatif (tidak ada zona bening).

Ekstrak daun mangrove *A. marina* dengan konsentrasi 1600 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambatan rata-rata sebesar 4,43 – 5,79 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* dengan zona hambat rata-rata sebesar 4,25 – 5,48 mm, sedikit lebih rendah dibandingkan dengan *S. aureus*. Kemampuan antibakteri ekstrak metanol *A. marina* terhadap *S. aureus* juga ditunjukkan pada penelitian Subashree *et al.* (2010) yang menunjukkan bahwa zona bening yang dihasilkan pada *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri uji yang lain. Menurut Prihanto *et al.* (2011), hal ini dikarenakan *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang sensitif terhadap senyawa-senyawa aktif karena dinding selnya tidak mengandung peptidoglikan seperti yang terdapat pada mikroba gram negatif.

Kemampuan antibakteri ekstrak metanol *A. marina* terhadap *V. alginolyticus* masih belum diketahui dengan baik. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *A. marina* memiliki kemampuan anti bakteri. Setiap spesies bakteri *Vibrio* menunjukkan perbedaan zona hambat yang berbeda seperti pada *V. parahaemolyticus* (tidak ada zona bening), *V. fluvialis* (2 mm) dan *V. splendidus* (4 mm) (Subashree *et al.*, 2010).

Pengaruh Perbedaan Habitat terhadap Zona Hambat

Ekstrak *A. marina* yang dikoleksi dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan menunjukkan kemampuan anti bakteri. Namun, hasil uji One-Way Anova tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak daun mangrove *A. marina* pada kedua lokasi tersebut, baik pada bakteri *S. Aureus* dengan nilai sig. (*p-value*) sebesar 0,554 (> 0,05) dan bakteri *V. alginolyticus* dengan nilai sig. (*p-value*) sebesar 0,861 (> 0,05).

Penelitian yang dilakukan Oktavianus (2010) menunjukkan bahwa kemampuan antibakteri ekstrak daun mangrove *A. marina* yang diambil dari Kabupaten Maros lebih baik dari pada yang

diambil dari Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Hal ini disebabkan karena habitat *A. marina* di Kabupaten Maros berada di sekitar pemukiman penduduk dan aktivitas masyarakat sehari-hari, sedangkan habitat *A. marina* di Kabupaten Takalar masih alami. Faktor abiotik yang berasal dari aktivitas manusia di sekitar habitat mangrove *A. marina* diduga menjadi penyebab kemampuan anti bakteri pada Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan tidak signifikan. Gomez-Parra *et al.* (2000) mengemukakan bahwa gangguan dari faktor antropogenik seperti adanya buangan limbah industri dan rumah tangga mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder pada organisme sebagai bentuk adaptasi pada kondisi lingkungan tercemar. Hal ini sebagaimana yang dikemukakan Burhanuddin *et al.* (2007), mangrove *A. marina* memiliki system pengenceran (dilusi) untuk beradaptasi dengan logam berat yang ada di lingkungannya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu:

1. Terdapat perbedaan komposisi senyawa bioaktif atau senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun mangrove *Avicennia marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan. Tanin hanya ditemukan pada stasiun 2 (Kabupaten Pasuruan) dan terpenoid ditemukan pada semua stasiun kecuali stasiun 2 (Kabupaten Trenggalek).
2. Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun mangrove *A. marina* yang diperoleh dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *V. alginolyticus* tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata.

Penelitian lebih lanjut sebaiknya memperhatikan pengaruh aktivitas antropogenik sehingga diperoleh pemahaman yang lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeyasinghe, P. D., & Wanigatunge, R. P. (2006). Evaluation of antibacterial activity of different mangrove plant extracts. *Ruhuna Journal of Science*, 1, 104-112.
- Amirkaveei, S., & Behbahani, B. A. (2011). Antimicrobial effect of mangrove extract on *Escherichia coli* dan *Penicillium digitatum*. *IPCBEE*, 9, 185-188.
- Astuti, M. S. (2010). *Skrining fitokimia dan uji aktifitas antibiotika ekstrak etanol daun, batang, bunga dan umbi tanaman binahong (Auredera cordifolia (Ten Steenis))*. Universitas Malaysia Pahang: Malaysia.
- Burhanuddin, Violet, & Yuliana (2007). Produksi dan analisis kualitatif senyawa aktif getah pohon api-api (*Avicennia marina* Vierh). *Jurnal Hutan Tropis Borneo*, 8(21), 71-83.
- Ehike, N. J., & LeGare, D. G. (1993). The effects of temperature and soil stress on the production of tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L). *Lotus-Newsletter*, 24, 64-66.
- Fauzi, R. G. (2012). Dampak pendangkalan pantai utara Pulau Jawa bagi perekonomian. *Makalah*. UM: Malang.
- Gomez-Parra, A., Forja, J. M., DelValls, T. A., Saenz, I., & Riba, I. (2000). Early contamination by heavy metals of the Guadalquivir estuary after the aznalcollar mining spills (SW Spain). *Marine Pollution Bulletin*, 40(12), 1115-1123.
- Karlisan, T. (2009). Identifikasi mikroba air laut di Ujung Grenggengan Semenanjung Muria. *Sigma Epsilon*, 13(2), 59-63.
- Macnae, W. (1968). A general account of the fauna and flora of mangrove swamps and forests in the Indo-West-Pacific region. *Advances Marine Biology*, 6, 73-270.
- Oktavianus, S. (2013). *Uji daya hambat ekstrak daun mangrove jenis Avicennia marina terhadap bakteri Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi. Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Oku, H., Baba., Kogah., Takarak., & Iwasaki, H. (2003). Lipid composition of mangrove and its relevance to salt tolerance. *J Plant Rest*, 116, 37-45.
- Prabhu, V., & Guruvayoorappan, C. (2012). Phytochemical screening of methanolic extract of mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Der Pharmacia Sinica*, 3(1), 64-70.

- Prihanto., Asep, A., Firdaus, M., & Nurdiani, R. (2011). *Penapisan fitokimia dan antibakteri ekstrak metanol mangrove (Excoecaria agallocha) dari Muara Sungai Porong.*
- Subashree, M., Mala, P., Umanmahasewari, M., Jayakumari, M., Maheswari, K., Sevanthi, T., & Manikandan, T. (2010). Screening of the antibacterial properties of *Avicennia marina* from Pichavaram Mangrove. *Asian Journal of Science and Technology*, 1, 16-19.
- Taslihan, A., Murdriani, M., Purbomartono, C., & Kusnendar, E. (2000). Bakteri patogen penyebab penyakit mulut merah pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan*, 2(2), 57-62.
- Wibowo, C., Kusmana, A. Suryani, Y. H., & Oktadiyani, P. (2009). Pemanfaatan jenis pohon mangrove api-api (*Avicennia* spp.) sebagai bahan pangan dan obat-obatan. *Seminar Hasil Penelitian*. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Zohra, F. S., Meriem, B., Samira, S., & Muner, A. (2012). Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *J. Nat. Prod. Plant. Resour.*, 2(4), 512-516.