

Respon Pertumbuhan dan Komposisi Isoprenoid Semai *Acanthus ilicifolius* Linn *Growth Response and Isoprenoid Composition of Acanthus ilicifolius* Linn Seedlings

Abu Hayullah^{a*}, Mohammad Basyuni^b, Lollie Agustina P. Putri^c

^aMahasiswa Budidaya Hutan, Program Studi Kehutanan, Universitas Sumatera Utara, (*Penulis korespondensi, Email: ahayullah@gmail.com)

^bDosen Pembimbing Program Studi Kehutanan, Universitas Sumatera Utara

^cDosen Pembimbing Program Studi Agroekoteknologi, Universitas Sumatera Utara

Abstract

The purpose of this study is to analyze growth of *A. ilicifolius* seedling in response to salinities and its isoprenoid composition. The mangrove seedling were grown under different salinities for 5 month. The maximum growth of *A. ilicifolius* seedlings was in 0.5 % salinity and this elevation appeared to be attenuated by increasing of salinity. The results showed the composition of the isoprenoid in *A. ilicifolius* were consist of four phytosterols namely stigmaterol, campesterol, β -sitosterol, cycloartenol, and six triterpenoids : taraxerol, β -amyirin, germanicol, betulin, α -amyirin and lupeol. This research may provide information the characterization of triterpenoid and phytosterol of *A. ilicifolius* seedlings.

Keywords : Mangrove, *A. ilicifolius* Linn, isoprenoid, and Salinity

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hutan mangrove terluas di dunia yakni 21% dari luas total global yang tersebar hampir di seluruh pulau-pulau besar mulai dari Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi sampai ke Papua (Spalding *et al.*, 2010). Mangrove adalah tumbuhan berkayu yang hidup diantara daratan dan lautan daerah pasang surut, kondisi tanah berlumpur dan salinitas tinggi di daerah tropis dan subtropis (Kathiresan and Bingham, 2001).

Mangrove merupakan salah satu ekosistem yang paling produktif di bumi dibandingkan dengan ekosistem lainya (Clough *et al.*, 2000). Pentingnya hutan mangrove telah diakui bagi ekosistem global, namun terdapat sedikit informasi yang menjelaskan mengapa tanaman mangrove dapat tumbuh di lingkungan salinitas yang tinggi, terutama yang berasal dari mangrove Indonesia. Menurut karakteristik morfologinya dalam manajemen garam, tanaman mangrove dibagi ke dalam dua kelompok besar (Scholander *et al.*, 1962). Kelompok pertama adalah spesies yang mensekresi garam (jenis sekresi/*secreting species*) yang memiliki kelenjar garam di daunnya atau rambut garam untuk menghilangkan kelebihan garam. Yang kedua adalah spesies non-sekresi (*non-secreting species*) yang tidak memiliki fitur morfologi tersebut untuk ekskresi kelebihan garam (Scholander *et al.*, 1962; Tomlinson, 1986).

Mangrove terkenal kaya sebagai sumber senyawa triterpenoid dan fitosterol (isoprenoid) (Koch *et al.*, 2003; Basyuni *et al.*, 2007a). Salah satu kemampuan mencolok spesies mangrove adalah tumbuh dalam berbagai tingkat salinitas mulai dari air tawar sampai ke tingkat di atas air laut. Beberapa studi sebelumnya menunjukkan bahwa cekaman garam menginduksi perubahan konsentrasi triterpenoid di mangrove jenis non-sekresi (Oku *et al.*, 2003; Basyuni *et al.*, 2007b, 2009). Tambahan lagi, senyawa-senyawa tersebut berfungsi sebagai *chemical defense* bagi dirinya (Williams, 1999).

Selain itu, telah ditemukan bahwa tanaman menghasilkan metabolit sekunder dalam merespon berbagai faktor eksternal (Parida and Das, 2005). Jadi

lipid pada membran sel dapat memainkan peran penting dalam adaptasi tanaman terhadap tekanan lingkungan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa triterpenoid memainkan peran penting untuk melindungi mangrove dari cekaman garam (Oku *et al.*, 2003; Basyuni *et al.*, 2007a, 2009, 2011). Meskipun demikian, sedikit studi yang difokuskan pada komposisi triterpenoid dan fitosterol dari hutan mangrove, terutama dari hutan mangrove Indonesia. Oleh karena itu penelitian ini diarahkan pada isolasi dan karakterisasi keanekaragaman isoprenoid di tanaman mangrove di Sumatera Utara.

Pemilihan jenis sekresi *A. ilicifolius*, karena belum pernah dilakukan penelitian mengenai komposisi konten isoprenoid, dan juga karena keberadaan dari populasi spesies ini yang melimpah di alam, namun masih sedikit peranan dan manfaat yang dapat diperoleh langsung dari jenis ini, sehingga perlu diketahui informasi-informasi yang terkait mengenai *A. ilicifolius* untuk meningkatkan potensi dari spesies ini untuk kedepannya. Terutama untuk mengetahui informasi mengenai kandungan isoprenoid yang terkandung di dalam *A. ilicifolius* yang sekaligus berperan dalam menambah sumber keanekaragaman isoprenoid di hutan mangrove.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat pertumbuhan semai *A. ilicifolius* terhadap variasi cekaman garam, dan untuk mengetahui kandungan isoprenoid pada *A. ilicifolius*.

METODE PELAKSANAAN

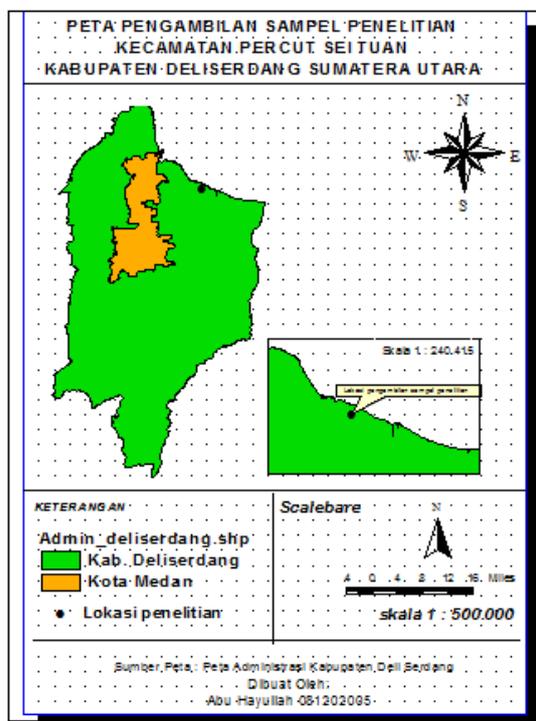
Penanaman benih *A. ilicifolius* dengan perlakuan berbagai konsentrasi garam selama 6 bulan dilakukan pada 25 Oktober 2011 sampai dengan 21 April 2012 di rumah kaca Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

Pengambilan 5-6 lembar sampel daun dan 4-5 gram akar *A. ilicifolius* diambil dari herba *Acanthus* yang telah dewasa yang dilakukan pada 11 April 2012 di Kawasan Mangrove Desa Percut Sei Tuan, Sumatera Utara. Ekstraksi Lipid dan Analisis NSL (*Non-saponifiable Lipids*) dilakukan pada 25 Juni - 31 Juli 2012 di

Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.

Kota Percut Sei Tuan merupakan ibukota Kecamatan dari kecamatan Percut Sei Tuan yang merupakan bagian dari Kabupaten Deli Serdang propinsi Sumatera Utara. Batas-batas administrasi Kota Percut Sei Tuan adalah : Sebelah Utara : Selat Malaka Sebelah Selatan : Kecamatan Lubuk Pakam Sebelah Timur : Kecamatan Pantai cermin Sebelah Barat : Kecamatan Tanjung Merawan.

Ekosistem mangrove Percut Sei Tuan merupakan kawasan yang terletak di pesisir timur Sumatera Utara. Pada saat ini di beberapa bagian kawasan ini telah mengalami degradasi akibat adanya kegiatan konversi lahan menjadi peruntukan lain, seperti lahan permukiman, pertanian, dan pertambangan serta adanya kegiatan penebangan kayu oleh masyarakat untuk kebutuhan rumah tangga. Berikut ini merupakan peta lokasi pengambilan sampel di Kecamatan Percut Sei Tuan Kabupaten Deli Serdang yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Lokasi Pengambilan Sampel Penelitian

A. Bahan dan alat untuk penanaman semai di rumah kaca :

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji *A. ilicifolius* yang telah matang, bubuk garam komersial (*Dolphin Marine Salt*), pasir dari sungai (tidak memiliki salinitas), pot plastik, dan label.

Alat yang digunakan adalah jangka sorong, penggaris, kamera, oven, timbangan, *cutter* program *excel*, *hand refractometer*, program SPSS, dan alat tulis.

B. Bahan dan alat untuk Ekstraksi dan Analisis adalah:

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun dan akar dari herba *A. ilicifolius* yang dewasa yang dikoleksi langsung dari kawasan hutan mangrove Percut Sei Tuan, Sumatera Utara. Sedangkan bahan kimia dan bahan lainnya yang digunakan adalah nitrogen cair,

kloroform, methanol, hexane, KOH, ethanol, kolesterol, garam buatan, aluminium foil, kertas tisu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Salinity refractometer S/Mill-E (Atago Co. Ltd, Tokyo, Jepang), tabung reaksi untuk mengekstrak daun dan akar tanaman mangrove, rak kultur untuk tempat peletakan tabung reaksi yang digunakan dalam pengestrakan, Eyela Evaporator, waterbath, kertas filtrasi No. 2 (Advantec, Tokyo, Jepang), Gas Chromatograph Mass Spectrometry (GC-MS 2010, Shimidzu) untuk mengidentifikasi struktur kimia dari Isoprenoid khususnya triterpenoid dan fitosterol.

Prosedur Penelitian yang dilakukan adalah :

A. Percobaan toleransi garam

1. Penyiapan Media Tanam

Media Tanam yang digunakan adalah pasir sungai (tidak memiliki salinitas). Konsentrasi garam dibuat dengan melarutkan bubuk garam komersial (*Marine Salt*) untuk membuat salinitas 0%, 0.5%, 1.5%, 2%, dan 3% (sama dengan level air laut, metode ini mengacu pada penelitian Basyuni et al (2009, 2012). Untuk membuat konsentrasi salinitas 0%, 0.5%, 1.5%, 2%, dan 3% dengan cara melarutkan 5.67 gram, 17 gram, 22.66 gram, 34 gram bubuk garam komersial masing-masing 1 liter air. Salinitas adalah massa serbuk garam/massa larutan. Konsentrasi garam pada setiap perlakuan pot diperiksa seminggu sekali selama percobaan dengan menggunakan *hand refractometer*.

2. Pemilihan biji

Biji *A. ilicifolius* yang digunakan berasal dari indukan yang berumur 1-2 tahun atau lebih. Biji yang dipilih sebaiknya sehat, tidak terserang oleh hama dan penyakit dan telah matang secara fisiologis dengan warna biji hijau kekuningan.

3. Penanaman biji

Biji *A. ilicifolius* yang telah disediakan ditanam ke dalam pot plastik yang telah berisi media tumbuh yang telah disesuaikan dengan perlakuannya masing-masing. Kemudian pot plastik diberi tanda / label sesuai dengan perlakuan yang diberikan.

4. Ekstraksi Lipid

Daun *A. ilicifolius* sebanyak 5-6 lembar atau 4-5 gram akar digerus dengan Nitrogen cair, kemudian diekstrak dengan kloroform-metanol 2:1 (CM 21), dinding sel yang berisi larutan yang tidak larut dalam CM21 disaring dengan kertas saring No.2 (Advantec, Tokyo, Jepang) dan yang tersisa adalah lipid ekstrak didalam kloroform. Sebagian ekstrak dimurnikan untuk dianalisis kandungan lipidnya seperti yang digambarkan sebelumnya (Basyuni et al., 2007). Cairan ekstrak yang pekat dikeringkan kemudian ditimbang dan didapatkan berat lipidnya. Secara langsung dapat diketahui kandungan total lipid/ jaringan (mg/g jaringan).

5. Analisis NSL

Lipid ekstrak di dalam kloroform yang telah diketahui berat total lipidnya dikeringkan kemudian ditambahkan 2 ml KOH 20% dalam Etanol 50% di refluxed selama 10 menit dengan suhu 90 °C, ditambahkan 2 ml Hexane (NSL) kemudian diaduk. Lapisan Hexane dipindahkan ke dalam tube yang telah diketahui beratnya, kemudian cairan dikeringkan dengan *Nitrogen Stream*, kemudian dikeringkan di bawah vakum

selama 10 menit, selanjutnya ditimbang berat NSLnya. Secara langsung dapat diketahui kandungan NSL/jaringan (mg/jaringan) atau kandungan NSL/total lipid (mg/mg total lipid) (Basyuni *et al.*, 2007).

B. Parameter penelitian

Pengamatan dilakukan ketika tanaman berumur 5 bulan dengan parameter yang diamati adalah :

1. Tinggi semai (cm)

Pengukuran tinggi semai dilakukan dengan menggunakan penggaris. Pengambilan data dilakukan pada umur 5 bulan sebelum pemanenan. Tinggi semai diukur mulai dari bagian plumula sampai titik tumbuh tertinggi.

2. Diameter semai (cm)

Pengukuran diameter batang dilakukan pada tanda awal dengan menggunakan jangka sorong dengan dua arah yang berlawanan dan saling tegak lurus terhadap batang kemudian diambil rata-ratanya.

C. Analisa Data

Pengujian data-data tersebut diolah dengan menggunakan model rancangan acak lengkap. Dengan menggunakan 5 taraf yaitu dengan perbandingan antara biji dan konsentrasi garam sebagai berikut 0, 0.5, 1.5, 2, dan 3%.

Model linear dari rancangan tersebut adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Dimana:

Y_{ij} = Respon pengaruh bagian ke-i ulangan ke-j

μ = Rata-rata umum

α_i = Pengaruh salinitas ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat perlakuan ke-i ulangan ke-j

i = 1,2,3,4,5

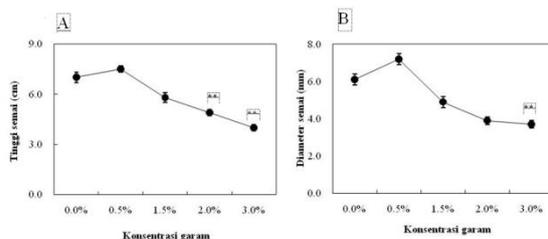
j = 1,2,3,4,5

Data dianalisis dengan analisis varian satu arah (ANOVA) yang diikuti dengan uji Dunnett untuk perbandingan dari semua perlakuan terhadap kontrol. Nilai $P < 0,01$ dipakai sebagai batas untuk menunjukkan pengaruh perlakuan. Uji statistik dilakukan dengan SPSS versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Salinitas Terhadap Pertumbuhan Tinggi dan Diameter Semai *A. ilicifolius*

Hasil dari pengukuran morfologi *A. ilicifolius* disajikan dalam gambar 1. Tinggi semai *A. ilicifolius* maksimum pada salinitas 0.5 % yaitu 7.5 cm dan paling rendah pada salinitas 3% yaitu 4.0 cm. Berdasarkan hasil uji Dunnett $P < 0.01$ menunjukkan bahwa salinitas 2% dan 3% berpengaruh nyata terhadap kontrol (Gambar 3A).



Gambar 3. Tinggi dan diameter semai *A. ilicifolius* pada berbagai konsentrasi salinitas pada umur 5 bulan. Data merupakan rata-rata \pm SE (n=25). Tanda ** mengindikasikan signifikan terhadap kontrol secara statistik tanda $P < 0,01$.

Pertumbuhan diameter semai *A. ilicifolius* yang tertinggi pada salinitas 0.5% yaitu 0.72 cm dan paling rendah pada salinitas 3% yaitu 0.37 cm. Hasil uji $P < 0.01$ menunjukkan bahwa salinitas 3 % berpengaruh nyata dibandingkan dengan kontrol terhadap penambahan diameter semai *A. ilicifolius*. Pertumbuhan diameter semai *A. ilicifolius* dapat dilihat pada Gambar 3B.

Berdasarkan pengukuran morfologi dari spesies *A. ilicifolius* menunjukkan bahwa pertumbuhan yang paling bagus adalah pada salinitas 0.5 %. Berdasarkan gambar 3A dan 3B, terlihat bahwa kenaikan dari penambahan tinggi dan diameter semai *A. ilicifolius* semakin menurun tingkat pertumbuhannya dengan meningkatnya salinitas. Kondisi ini hampir sama dengan studi sebelumnya yang telah dilaporkan oleh Basyuni *et al* (2009) pada semai *K. candel* dan *B. gymnorhiza* di Okinawa Jepang yang menunjukkan bahwa tingkat pertumbuhan dari semai ini semakin menurun dengan meningkatnya salinitas.

Tingginya tingkat pertumbuhan semai *A. ilicifolius* pada salinitas 0.5 % berkaitan dengan bagaimana spesies ini dapat beradaptasi terhadap tingginya cekaman garam dari lingkungannya. Proses pertumbuhan yang baik ini juga dikarenakan di dalam biji *A. ilicifolius* terdapat cadangan makanan yang digunakan tanaman sebagai sumber energi awal untuk proses perkecambahan dengan sempurna. *A. ilicifolius* merupakan jenis mangrove sekresi artinya secara fisiologis tanaman ini mampu mengakumulasi kelebihan garam dari dalam tubuh tanaman melalui kelenjar sekresi garam. Hal ini sesuai dengan studi Soeroyo (1993) yang menyatakan bahwa beberapa tumbuhan mangrove seperti *Avicennia*, *Acanthus* dan *Aegiceras sp.* memiliki alat sekresi garam. Konsentrasi garam dalam cairan biasanya tinggi, sekitar 10% dari air laut. Sebagian garam dikeluarkan melalui kelenjar garam dan selanjutnya diuapkan oleh angin atau hujan. Kondisi ini bisa dirasakan dengan mengecap daun tumbuhan mangrove jenis sekresi, dan akan terasa asin karena garam dari dalam tanaman dikeluarkan melalui kelenjar garam yang ada di daun.

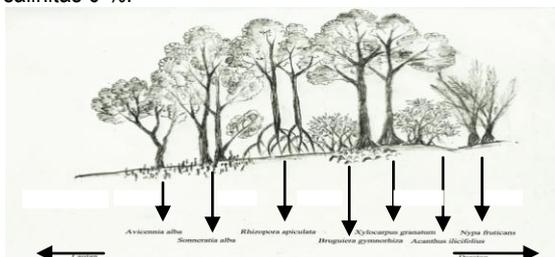
Mekanisme pengeluaran garam dari daun mangrove telah dijelaskan pada penelitian sebelumnya (Popp, 1984; Sakamoto and Murata, 2000); bahwa penyesuaian tekanan osmotik oleh akumulasi molekul kecil seperti osmolytes, glisin-betain atau alkohol gula; Garam ekstrusi melewati membran plasma menggunakan ion transporter (Allen *et al.*, 1995); akumulasi garam dalam vakuola menggunakan tonoplast transporter (Blumwald and Poole, 1987; Mimura *et al.*, 2003).

Zonasi *A. ilicifolius* di dalam Zonasi Mangrove di Kawasan Mangrove Percut Sei Tuan Kabupaten Deli Serdang

A. ilicifolius tumbuh liar di daerah pantai, tepi sungai, serta tempat-tempat lain yang tanahnya berlumpur dan berair payau. Berikut ini merupakan zonasi *A. ilicifolius* di dalam zonasi mangrove di kawasan mangrove Percut Sei Tuan Sumatera Utara yang dapat dilihat pada Gambar 3.

Dari hasil penelitian ini dapat digambarkan bahwa zonasi *A. ilicifolius* di kawasan hutan mangrove Percut

Sei Tuan Deli Serdang, berada pada posisi diantara *R. apiculata* dan *N. fruticans* atau zonasi yang berada di belakang garis pantai yang akan tergenang apabila terjadi pasang tinggi, seperti terlihat pada gambar 4. Dari gambar 4 terlihat bahwa *A. ilicifolius* tersebar mulai dari salinitas 0.5 % sampai 1.5 % bahkan dapat tumbuh di salinitas 0 %.



Gambar 4. Zonasi Mangrove di Kawasan Hutan Mangrove Percut Sei Tuan Sumatera Utara

Kemampuan tanaman ini dapat tumbuh di salinitas yang rendah disebabkan tanaman ini sebenarnya adalah tanaman yang toleran terhadap garam bukan tanaman yang membutuhkan garam. Hal ini sesuai dengan studi Hutahaean *et al* (1999) menyatakan bahwa pada umumnya respon pertumbuhan tinggi yang baik diperoleh pada salinitas yang rendah. Hal ini terjadi karena tumbuhan mangrove bukan merupakan tumbuhan yang membutuhkan garam (*salt demand*) tetapi tumbuhan yang toleransi terhadap garam (*salt tolerance*). Juga disebutkan bahwa jenis ini dapat tumbuh tanpa adanya salinitas hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Noakes (1951) memperlihatkan bahwa mangrove bukan halofit obligat, yang berarti bahwa tumbuhan mangrove dapat tumbuh pada air tawar tetapi mangrove akan tumbuh maksimum pada pertengahan air tawar dengan air laut.

Penyebaran dan lebarnya populasi spesies mangrove di dalam zonasi mangrove berbeda-beda antar spesies. Lebar zonasi mangrove sangat dipengaruhi oleh adanya intrusi air laut yang sangat dipengaruhi oleh tinggi rendahnya pasang surut air laut. Faktor lain yang juga mempengaruhi penyebaran suatu jenis di dalam zonasi mangrove adalah karena setiap jenis tumbuhan mangrove memiliki kemampuan adaptasi yang berbeda-beda terhadap kondisi lingkungan seperti kondisi tanah, salinitas, temperatur, curah hujan dan pasang surut. Hal ini menyebabkan terjadinya struktur dan komposisi tumbuhan mangrove dengan batas-batas yang khas, mulai dari zona yang dekat dengan daratan sampai dengan zona yang dekat dengan lautan.

Total Lipid dan Non-Saponifiable Lipid (NSL) dari Daun dan Akar *A. ilicifolius*

Komposisi dan kandungan Non-Saponifiable Lipid (NSL) yang teridentifikasi di akar dan daun mangrove diperoleh dari hasil Analisis Gas Chromatografi Mass Spectra (GC MS) dengan menggunakan kolom *Rtx 1* ms dengan panjang kolom 30 m dan diameter 0.25 mm dengan diameter partikel yang dilewati 0.25 μm df yang berisi 100 % *dimethyl polysiloxa*. Pada saat analisis temperatur kolom oven adalah 300°C atau berada pada proses isotherm, dengan temperatur injeksi 300°C dengan mode injeksi split.

Komponen NSL secara garis besar terdiri dari 2 komponen besar yaitu triterpenoid dan fitosterol. Komponen-komponen triterpenoid yang teridentifikasi di dalam daun dan akar jenis *A. ilicifolius* antara lain adalah taraxerol, β -amyirin, germanicol, lupenone, betulin, lupeol, dan α -amyirin. Sedangkan komponen-komponen fitosterol yang teridentifikasi di dalam daun dan akar jenis *A. ilicifolius* antara lain adalah campesterol, stigmasterol, β -sitosterol, dan sikloartenol. Total lipid dan kandungan NSL pada jenis *A. ilicifolius* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total lipid dan kandungan NSL pada jenis *A. ilicifolius*

Jenis	Jaringan (jaringan)	Berat Sampel (g)	Total Lipid (mg)	NSL (mg)	Total Lipid/ jaringan	NSL/ jaringan	NSL/ Total Lipid
					(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
<i>Acanthus</i>	Daun	4.3255	6.70	0.30	1.55	0.07	0.04
<i>ilicifolius</i>	Akar	4.2450	4.30	0.30	1.01	0.07	0.07

Tabel 1. Menunjukkan Total dan Kandungan NSL dari daun dan akar mangrove jenis *A. ilicifolius*. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa kandungan total lipid/jaringan lebih banyak di daun dibandingkan di akar. Total lipid/jaringan di daun sebesar 1.55 mg/jaringan dan di akar sebesar 1.01 mg/jaringan. Banyaknya kandungan lipid di daun disebabkan karena berat sampel di daun lebih banyak bila dibandingkan berat sampel yang ada di akar. Semakin tinggi berat sampel maka semakin tinggi pula nilai total lipid/jaringannya.

Nilai NSL di daun sama dengan nilai NSI yang terdapat di akar yaitu sebesar 0.3 mg. Hal ini berarti bahwa kandungan NSL yang terdapat di akar hampir sama dengan kandungan NSL yang ada di daun.

Komposisi Non-Saponifiable Lipid (NSL) dari Daun dan Akar *A. ilicifolius*

Komposisi lipid non saponifiable dari daun mangrove jenis sekresi *A. ilicifolius* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi lipid non saponifiable (%) dari daun mangrove sekresi *A. ilicifolius*

NSL	Komponen	<i>A. ilicifolius</i>	
		Daun	Akar
Fraksi NSL lain	Squalene	4.9 \pm 1.6	2.9 \pm 1.7
	Cholesterol	7.0 \pm 3.3	----
Fitosterol	Campesterol	8.9 \pm 2.7	4.2 \pm 1.3
	Stigmasterol	9.5 \pm 2.9	7.7 \pm 2.1
	β -Sitosterol	12.5 \pm 0.6	5.4 \pm 0.8
	Cycloasterol	7.0 \pm 0.9	7.8 \pm 1.0
Triterpenoid	Taraxerol	12.5 \pm 3.4	8.6 \pm 1.3
	β -Amyrin	9.7 \pm 2.3	13.2 \pm 2.5
	Germanicol	10.5 \pm 4.3	5.7 \pm 0.5
	Lupenone	---	4.4 \pm 1.0
	Betulin	---	8.7 \pm 1.9
	Lupeol	10.7 \pm 1.7	13.6 \pm 2.0
	α -Amyrin	11.7 \pm 0.1	17.7 \pm 4.2

Tabel 2. merangkumkan komposisi non saponifiable lipid dari daun dan akar *A. ilicifolius*. Keragaman terlihat di dalam komponen-komponen NSL dari spesies ini. Terdapat keanekaragaman isoprenoid pada daun dan akar *A. ilicifolius*, yang terdiri dari fraksi triterpenoid dan fraksi fitosterol. Kandungan triterpenoid

merupakan komponen terbesar yang terkandung didalam daun dan akar *A. ilicifolius* dibandingkan fitosterol. Jumlah kandungan triterpenoid di daun sebesar 55.1% dan di akar sebesar 71.9 %. Jumlah kandungan triterpenoid di daun diperoleh dengan menjumlahkan semua kandungan dari komponen-komponen triterpenoid yang terdapat di daun, demikian pula jumlah kandungan triterpenoid di akar. Sedangkan jumlah kandungan fitosterol di daun sebesar 37.9 % dan di akar sebesar 25.1 %, diperoleh dengan menjumlahkan semua kandungan dari komponen-komponen fitosterol yang terdapat di daun dan di akar.

Triterpenoid merupakan komponen terbesar yang terkandung di dalam daun *A. ilicifolius* dibandingkan fitosterol yang terdapat di bagian ini. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik, yaitu squalene, senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi, dan bersifat optis aktif. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Basyuni et al, (2007) secara garis besar triterpenoid terbagi 3 tipe berdasarkan rantai karbonnya yaitu golongan lupane (lupeol, lupenone, dan betulin); oleanane (taraxerol, β -amyrin, germanicol); dan ursane (α -amyrin).

Fitosterol atau sterol tumbuhan merupakan kelompok steroid alkohol, fitokimia yang ada secara alami di dalam tumbuhan dan tidak ditemukan pada mamalia. Senyawa ini tidak larut di dalam air tetapi larut di dalam alkohol. Senyawa ini banyak digunakan sebagai bahan tambahan pangan, obat-obatan dan kosmetik. Fitosterol meliputi campesterol, stigmasterol, β -sitosterol, sikloartenol, dan kolesterol.

Berdasarkan tabel 2, terlihat bahwa komponen terbesar triterpenoid yang terdapat di daun adalah taraxerol yang jumlahnya berkisar 12.5. Kondisi ini hampir sama dengan studi sebelumnya oleh Killops dan Frewin (1994); Koch et al (2003); Versteegh et al (2004) pada *R. stylosa* yang menyatakan bahwa hanya spesies ini mengandung sejumlah besar taraxerol di daun, seperti yang terjadi untuk *R. mangle* dan *R. racemosa*. Taraxerol juga dilaporkan sebagai lipid umum yang minor yang terdapat di dalam daun dan buah *R. mucronata* (Kokpol et al, 1990;.. Laphookhieo et al, 2004a), dan pada buah *B. cylindrica* (Laphookhieo et al, 2004b). Taraxerol di daun memiliki peranan sebagai biomarker di dalam ekosistem mangrove. Hal ini sesuai dengan studi Killop dan Frewin (1994); Versteegh et al (2004); Koch et al (2005) pada *R. stylosa* yang menyatakan bahwa Taraxerol ditemukan lebih tahan terhadap mikroba degradasi dibandingkan dengan jenis terpenoid oleanana lainnya seperti β -Amirin atau germanicol, yang membuat senyawa ini lebih ideal sebagai pelacak bahan organik yang diturunkan dari mangrove.

Komponen terendah dari triterpenoid di daun adalah kolesterol yang jumlahnya berkisar 7.0 lupenone dan betulin tidak terdapat di dalam daun *A. ilicifolius*. Hal ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya yang telah dilaporkan pada mangrove di Okinawa Jepang dimana pada *A. marina* dan *S. alba* juga tidak terdapat di komponen lupenone dan betulin (Basyuni et al., 2007). Terpenoid yang terkandung di dalam *A. ilicifolius* memiliki

peranan dalam mengatasinya terhadap cekaman garam. Hal ini telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa triterpenoid mungkin terlibat dalam perlindungan mangrove dari stres garam (Oku et al., 2003). Triterpenoid dari *A. ilicifolius* juga memiliki peranan sebagai senyawa obat dan telah lama digunakan oleh masyarakat di sekitar mangrove sebagai obat kembang dan peradangan. Hal ini sesuai dengan studi Kokpol et al (1986) yang menyatakan bahwa triterpenoid dari *A. ilicifolius* telah dilaporkan memiliki aktivitas anti-leukimia. Hal ini juga sesuai dengan penelitian sebelumnya Sparg et al (2004) yang menyatakan bahwa isoprenoid dianggap penting sebagai sumber alam yang potensial untuk senyawa obat.

Berdasarkan penelitian sebelumnya pada mangrove Okinawa Jepang, fitol adalah turunan dari klorofil yang hadir di dalam fraksi NSL dari semua spesies (Basyuni et al, 2007), namun komponen ini tidak teridentifikasi di daun *A. ilicifolius* ini. Juga karena respon profil dari konsentrasi terpenoid di dalam daun menunjukkan variasi berdasarkan kepada spesies (Basyuni et al, 2009). Squalene teridentifikasi di dalam fraksi NSL ini namun terdapat dalam konsentrasi yang rendah, hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Basyuni et al, 2007) pada mangrove di Okinawa Japan yang menyatakan bahwa squalene, perantara dalam isoprenoid, juga terdeteksi pada jumlah yang cukup di semua spesies, kecuali untuk kasus *L. racemosa*. Daun *A. ilicifolius* juga teridentifikasi kolesterol. Kolesterol merupakan substansi kimia organik yang diklasifikasikan sebagai steroid berlemak dari lemak, yang merupakan komponen struktural yang esensial membran sel mamalia, namun komponen ini terdapat di daun. Hal ini karena substansi ini juga disintesis di daun tanaman dalam jumlah yang kecil. Kolesterol dibiosintesis dari lanosterol yang pada umumnya hanya disintesis oleh sel hewan. Kolesterol memiliki struktur yang hampir mirip dengan fitosterol.

Keragaman komponen-komponen NSL ini juga terlihat pada jenis ini. Jika dibandingkan komponen NSL pada daun dengan akar, maka terlihat bahwa lebih banyak komponen yang teridentifikasi di akar dibandingkan di daun. Pada akar *A. ilicifolius* hampir semua komponen NSL teridentifikasi. Kecuali fitol yang hanya terdapat di daun karena merupakan turunan dari klorofil (Basyuni et al 2007) yang terdapat di daun, dan kolesterol. Seperti pada kasus untuk daun, terpenoid terdiri dari proporsi yang terbesar dari NSL dibandingkan fitosterol. Komponen α -amyrin dan β -amyrin merupakan komponen terbesar yang melimpah di akar. Berdasarkan studi sebelumnya oleh Hogg and Gillan (1984) pada *K. candel* dan *B. gymnorrhiza* yang menunjukkan bahwa terpenoid utama untuk *K. candel* adalah β -Amirin, dan lupeol untuk *B. gymnorrhiza*. Kedua komponen ini, agak lebih tahan terhadap degradasi mikroba dibandingkan asam lemak. Kerentanan terhadap mikroba degradasi juga menunjukkan variasi antara molekul spesies terpenoid (Koch et al., 2005). Hal ini berbeda dengan kasus di daun, β -amyrin terdapat dalam jumlah yang sedikit lebih rendah dibandingkan di akar, sedangkan α -amyrin merupakan komponen triterpenoid yang terbanyak yang terdapat di akar di bandingkan di daun.

Secara umum triterpenoid memiliki peranan di dalam akar sebagai pertahanan terhadap stress garam, hal ini sesuai dengan studi sebelumnya oleh Oku *et al* (2003) yang menyarankan bahwa triterpenoid mungkin terlibat dalam perlindungan mangrove dari stres garam (Oku *et al.*, 2003).

Berdasarkan aspek farmakologi, α -amyrin memiliki potensi sebagai senyawa obat yaitu memiliki aktifitas anti-inflamasi atau mencegah peradangan. Berdasarkan studi sebelumnya oleh Otuki *et al* (2005) pada tanaman obat asli Brazil *Protium kleinii* (Burseraceae) yang menyatakan bahwa senyawa aktif yang hadir dalam ekstrak eter *P. kleinii* termasuk triterpen pentasiklik α -amyrin adalah kandidat yang baik untuk mengembangkan obat kulit permeabel anti-inflamasi. Anti-inflamasi yaitu aktifitas mengurangi peradangan dengan bertindak pada respon tubuh, atau anti-inflamasi mengacu pada sifat dari suatu zat atau perawatan yang mengurangi peradangan. Anti-inflamasi berperan sebagai analgesik, menanggulangi nyeri yang mempengaruhi sistem saraf pusat. Hal ini sesuai dengan studi sebelumnya oleh Sparg *et al* (2004) yang menyatakan bahwa isoprenoid dianggap penting sebagai sumber alam yang potensial untuk senyawa obat.

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa fitosterol dapat digunakan sebagai pelacak dari berbagai masukan dan transformasi proses untuk lingkungan karena struktur mereka keragaman, biosintesis dan stabilitas (Volkman, 1986; Currie dan Johns, 1989; Mudge dan Norris, 1997). Berdasarkan data pada Tabel 2. terlihat bahwa campesterol merupakan komponen NSL yang terendah yang terdapat di akar *A. ilicifolius* dengan jumlahnya adalah 4.2. Squalene juga terdapat di akar *A. ilicifolius*, namun dalam jumlah yang sedikit. Jumlah ini jauh lebih sedikit dibandingkan squalene yang terdapat di daun.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Tingkat pertumbuhan tinggi dan diameter semai terbaik berada pada salinitas 0.5 % dan tingkat pertumbuhan tinggi dan diameter terendah berada pada salinitas 3 %. Pertambahan tinggi pada salinitas 2 dan 3 % berpengaruh nyata terhadap kontrol, sedangkan pertambahan diameter berpengaruh nyata pada salinitas 3 % terhadap kontrol.
2. Kandungan isoprenoid yang merupakan triterpenoid adalah komponen terbesar yang terkandung didalam daun dan akar *A. ilicifolius* dibandingkan fitosterol. Jumlah kandungan triterpenoid di daun sebesar 55.1 % dan di akar sebesar 71.9 %, sedangkan jumlah kandungan fitosterol di daun sebesar 37.9 % dan di akar sebesar 25.1 %.

DAFTAR PUSTAKA

Allen, G.J., Wyn-Joens, R.G., Leigh, R.A., 1995. Sodium transport measured in plasma membrane vesicles isolated from wheat genotypes with differing K⁺/Na⁺ determination traits. *Plant Cell Environ.* 18, 105-115.

- Ansori, S. 1998. Studi Sifat Fisik dan Pasang Surut Air Laut Terhadap Penyebaran Jenis *Rhizophora* Hutan Mangrove Pantai Tempora Jatim. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Malang. Malang.
- Basyuni, M., Oku, H., Baba, S., Takara, K., Iwasaki, and Oku, H., 2007a. Isoprenoids of Okinawan mangroves as lipid input into estuarine ecosystem. *J. Oceanogr.* 63, 601-608.
- Basyuni, M., Oku, H., Tsujimoto, E., Kinjo, K., Baba, S., Takara, K., 2007b. Triterpene synthases from the Okinawan mangrove tribe, *Rhizophoraceae*. *FEBS J.* 274, 5028-5042.
- Basyuni, M., Baba, S., Inafuku, M., Iwasaki, H., Kinjo, K., Oku, H., 2009. Expression of terpenoid synthase mRNA and terpenoid content in salt stressed mangrove. *J. Plant Physiol.* 166, 1786-1800.
- Basyuni, M., Kinjo, Y., Baba, S., Shinzato, N., Iwasaki, H., Siregar, E.B.M., Oku, H., 2011. Isolation of Salt Stress Tolerance Genes from Roots of Mangrove Plant, *Rhizophora stylosa* Griff., using PCR-based Suppression Subtractive Hybridization. *Plant Mol. Biol. Rep.* 29, 533-543.
- Bengen, D. G. dan Adrianto. 2002. Pengenalan dan Pengelolaan Ekosistem Mangrove. Pusat Kajian Pesisir dan Lautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Blumwald, E., Poole, R.J., 1987. Salt tolerance in suspension cultures of sugar beet: induction of Na⁺/H⁺ antiport activity at the tonoplast by growth in salt. *Plant Physiol.* 83, 884-887.
- Clough, B., Tan, D.T., Phuong, D.X., Buu, D.C., 2000. Canopy leaf area index and litter fall in stands of the mangrove *Rhizophora apiculata* of different age in the Mekong Delta, Vietnam. *Aquat. Bot.* 66, 311-320.
- Currie, B. R., R. B. Johns., 1989. An organic geochemical analysis of terrestrial biomarkers in a transect of the Great Barrier Reef Lagoon. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 40, 275-284.
- Daniel, T.W., J.A. Helm, F.S. Baker., 1987. Prinsip-Prinsip Silvikultur. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Ezawa, S., Tada, Y., 2009. Identification of salt tolerance genes from the mangrove plant *Bruguiera gymnorhiza* using *Agrobacterium* screening. *Plant Sci.* 176, 272-278.
- Ganesh, S., Jenet, J.V., 2011. Phytochemical Analysis of *Acanthus ilicifolius* and *Avicennia officinalis* By GC-MS. *Res. J. Phytochemistry.* 10, 1819-3471.
- Hutahaean, E., E., C, Kusmana dan H, R, Dewi. 1999. Studi Kemampuan Tumbuh Anakan Mangrove Jenis *Rhizophora mucronata*, *Bruguiera gymnorhiza* dan *Avicennia marina* pada Berbagai Tingkat Salinitas. *Jurnal Manajemen Hutan Hutan Tropika* V(1), 77-85.
- Istomo, 1982. Tinjauan Ekologi Hutan Mangrove dan Pemanfaatannya di Indonesia. Lab. Ekologi Hutan, Fakultas Kehutanan IPB. Bogor.
- Kathiresan, K. and B. L. Bingham. 2001. Biology of mangrove and mangrove ecosystem. *Adv. Mar. Biol.* 40, 81-151.

- Khan M.A, Aziz I. 2001. Salinity tolerance in some mangrove species from Pakistan. *Wetlands Ecology and Management* 9, 219–223.
- Killops, S. D. and N. L. Frewin (1994): Triterpenoid diagenesis and cuticular preservation. *Org. Geochem.*, 21, 1193–1209.
- Kim, Y.J., Ham, A.R., Shim, J.S., Lee, J.H., Jung, D.Y., In J.G., Lee, B.S., Yang, D.C., 2008. Isolation and characterization of terpene synthase gene from *Panax ginseng*. *J. Ginseng Res.* 32, 114–119.
- Koch, B.P., Rullkotter, J., Lara, R.J., 2003. Evaluation of triterpenoids and sterols as organic matter biomarkers in a mangrove ecosystem in northern Brazil. *Wetl. Ecol. Manag.* 11, 257-263.
- Koch, B. P., J. Harder, R. J. Lara and G. Kattner., 2005: The effect of selective microbial degradation on the composition derived pentacyclic triterpenols in surface sediments. *Org. Geochem.*, 36, 273–285.
- Kokpol, U., Chittawong, V., Miles, D.H., 1986. Chemical constituents of the roots of *Acanthus illicifolius*. *J. Nat. Prod.* 49, 355-356.
- Kokpol, U., Chavasiri, W., Chittawong, V., Miles, D.H., 1990. Taraxeryl cis-p-hydroxycinnamate, a novel taraxeryl from *Rhizophora mucronata*. *J. Nat. Prod.* 53, 953-955.
- Laphookhieo, S., C. Karalai and C. Ponglimanont., 2004a. New sesquiterpenoid and triterpenoids from the fruits of *Rhizophora mucronata*. *Chem. Pharm. Bull.*, 52, 883–885.
- Laphookhieo, S., C. Karalai, C. Ponglimanont and K. Chantrapromma., 2004b. Pentacyclic triterpenoid esters from the fruits of *Bruguiera cylindrica*. *J. Nat. Prod.*, 67, 886–888.
- Lenny, S., 2006. Senyawa Terpenoida dan Steroid. USU Repository.
- Mansour, M.M.F., van Hasselt, P.R., Kuiper, P.J.C., 1994. Plasma membrane lipid alternations induced by NaCl in winter wheat roots. *Physiol. Plant.* 92: 473–478.
- Mimura, T., Kura-Hotta, M., Tsujimura, T., Ohnishi, M., Miura, M., Okazaki, Y., Mimura, M., Maeshima, M., Washitani-Nemoto, S., 2003. Rapid increase of vascular volume in response to salt stress. *Planta* 216, 397-402.
- Mudge, S. M., C. E. Norris, 1997. Lipid biomarkers in the Conwy Estuary (North Wales, U.K.): a comparison between fatty alcohols and sterols. *Mar. Chem.*, 57, 61-84.
- Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bring them together. *New Phytol.* 167, 645-663.
- Noakes, 1951. Mangrove. *FAO Tropical Silviculture* (2) : 379 – 404.
- Oku, H., Baba, S., Koga, H., Takara, K., Iwasaki, H., 2003. Lipid composition of mangroves and its relevance to salt tolerance. *J. Plant Res.* 116, 37-45.
- Otuki, M. F., V. L. Fabiana., M. Angela., Y. A. Rosendo., J. B. Calisto. 2005. Topical anti-inflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and α -amyrin pentacyclic triterpene. *E. J. Pharmacology.* 507, 253-259.
- Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60, 324-349.
- Popp, M., 1984. Chemical composition of Australian mangroves II. Low molecular weight carbohydrates. *Z. Plant Physiol.* 113, 411-421.
- Sakamoto, A., Murata, N., 2000. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implication for enhancement of stress tolerance. *J. Exp. Bot.* 51, 81-88.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E., Garey, W., 1962. Salt balance in mangroves. *Plant Physiol.* 37, 722-729.
- Soeroyo, 1993. Pertumbuhan Mangrove dan Permasalahannya. Buletin Ilmiah INSTIPER. Yogyakarta.
- Spalding, M., Kainuma, M., Collins, L., 2010. World Atlas of Mangroves. Earthscan. London.
- Sparg, S.G., Light, M.E., van Staden, J., 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.* 94, 219-243.
- Sugihara, K., Hanagata, N., Dubinsky, Z., Baba, S., Karube, I., 2000. Molecular characterization of cDNA encoding oxygen evolving enhancer protein 1 increased by salt treatment in the mangrove *Bruguiera gymnorrhiza*. *Plant Cell Physiol.* 41, 1279-1285
- Tomlinson P.B., 1986. The Botany of Mangroves. Cambridge University Press; 1986.
- Ueda, A., Shi, W., Nakamura, T., Takabe, T., 2002. Analysis of salt-inducible genes in barley roots by differential display. *J. Plant Res.* 115, 119-130.
- Versteegh, G. J. M., E. Schefuß, L. Dupont, F. Marret, J. S. S. Damsté and J. H. R. Jansen., 2004. Taraxerol and *Rhizophora* pollen as proxies for tracking past mangrove ecosystems. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 68, 411–422.
- Volkman, J. K., 1986. A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org. Geochem.*, 9, 83-99.
- Williams, L.A.D., 1999. *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) triterpenoids with insecticidal activity. *Naturwissenschaften* 86, 450-452.
- Wei, L., Chonglin, Y., Binbin, Y., Xioyin, G., 2008. Effect of Salinity on Leaf $\delta^{18}\text{C}$ in Three Dominant Mangrove Species along Salinity Gradients in an Estuarine Wetland, Southeast China. *J. Coastal Research* 24, 267-372.
- Yamada, A., Saitoh, T., Mimura, T., Ozeki, Y., 2002. Expression of mangrove allene oxide cyclase enhances salt tolerance in *Escherichia coli*, yeast, and tobacco cells. *Plant Cell Physiol.* 43, 903-910.
- Yeo, A., 1998. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *J. Exp. Bot.* Vol. 49, 915–929.
- Zwenger, S., Basu, C., 2007. In silico analysis of terpene synthase genes in *Arabidopsis thaliana*. *EXCLI J.* 6:203-211.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis sidik ragam (ANOVA) dan uji Dunnett's semai *A. ilicifolius* pada berbagai tingkat salinitas.

Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) dan uji dunnett tinggi *A. ilicifolius* pada berbagai konsentrasi salinitas

ANOVA

Tinggi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.602	4	10.651	13.482	.000
Within Groups	15.800	20	.790		
Total	58.402	24			

Multiple Comparisons

Tinggi
Dunnett t (2-sided)

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Salinitas 0.5%	Salinitas 0%	.5000	.5621	.786	-1.409	2.409
Salinitas 1.5%	Salinitas 0%	-1.2000	.5621	.138	-3.109	.709
Salinitas 2%	Salinitas 0%	-2.1000*	.5621	.005	-4.009	-.191
Salinitas 3%	Salinitas 0%	-3.0400*	.5621	.000	-4.949	-1.131

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) dan uji dunnett diameter *A. ilicifolius* pada berbagai konsentrasi salinitas

ANOVA

Diameter					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.442	4	.110	9.662	.000
Within Groups	.228	20	.011		
Total	.670	24			

Multiple Comparisons

Diameter
Dunnett t (2-sided)

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Salinitas 0.5%	Salinitas 0%	.11000	.06760	.325	-.1195	.3395
Salinitas 1.5%	Salinitas 0%	-.11800	.06760	.270	-.3475	.1115
Salinitas 2%	Salinitas 0%	-.21800	.06760	.015	-.4475	.0115
Salinitas 3%	Salinitas 0%	-.24200*	.06760	.007	-.4715	-.0125

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Lampiran 2. Cara Kerja Gas Chromatography Mass Spectra (GC MS)

Metode Analisis Dengan GC MS

Analisis sampel dengan menggunakan GC MS, bertujuan untuk mengidentifikasi struktur kimia dari isoprenoid khususnya triterpenoid dan fitosterol. GC MS memiliki suhu kolomnya 300°C, sedangkan untuk suhu injeksinya juga 300 °C, kecepatan dalam menganalisis sampel 0.65 ml/min. Gas yang digunakan yaitu helium. Ukuran panjang kolom 30 cm, diameter 0.25 mm.

Sebelum melakukan analisis sampel, GC MS yang baru dinyalakan tidak boleh langsung digunakan, harus di tunggu selama satu jam untuk menstabilkan semua rangkaian peralatannya, begitu juga setelah melakukan analisis sampel GC MS jangan langsung dimatikan lakukan dahulu pencucian dengan mendownload *file metode conditioning* hingga baseline telah cukup lurus, kemudian dilakukan pendinginan sebelum mematikan sistem dengan mendownload *file metode cooling* hingga muncul status *reading* kemudian tunggu selama satu jam tidak bekerja (*running*) dan terakhir menutup semua menu utama pada computer dan menutup semua aliran gas, membuang sisa air dan talang composer udara melalui drainase, kemudian matikan semua aliran listriknya. Hal ini sangat perlu dilakukan dalam perawatan GC MS.

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Pengambilan Sampel daun *A. ilicifolius* Linn. di kawasan hutan mangrove kecamatan Percut Sei Tuan Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara.



Gambar 2. Pengambilan Sampel akar *A. ilicifolius* Linn. di kawasan hutan mangrove kecamatan Percut Sei Tuan Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara.