

UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BATANG BAKAU API-API PUTIH (*Avicennia alba* Blume)

Dedi Nuryadi^{1*}, Erwin¹ dan Usman²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman

² Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mulawarman

*Corresponding author, email: Dedi.nyd0409@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian tentang uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak batang bakau api-api putih (*Avicennia alba* Blume) telah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit dan aktivitas antioksidan pada ekstrak total metanol. Metode yang digunakan diantaranya uji fitokimia dilakukan dengan uji warna dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak total metanol batang bakau api-api putih mengandung senyawa flavonoid, kuinon, alkaloid, fenolik, steroid dan saponin. Sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak total metanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 111,5966 ppm. Berdasarkan data nilai IC_{50} tersebut dapat disimpulkan ekstrak total metanol memiliki kekuatan aktivitas antioksidan lemah.

Kata Kunci : *Avicennia alba* Blume., *Metabolit Sekunder*, *Antioksidan*, *DPPH*.

PENDAHULUAN

Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia mencakup 30.000 jenis tumbuhan yang diantaranya terdapat 940 jenis tanaman yang berkhasiat obat, 90% jumlah ini merupakan tumbuhan obat yang terdapat di Asia [1]. Tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat di Indonesia salah satunya adalah tanaman Bakau [9].

Di Kalimantan Timur sendiri dengan panjang garis pantai sekitar 81.000 km memiliki hutan bakau kurang lebih 950.000 ha atau sekitar 21,9% dari luasnya hutan bakau Indonesia serta wilayah yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat umum karena merupakan wilayah pesisir yang subur dan memiliki banyak potensial [7].

Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa tanaman bakau *Avicennia* sp. yang terdapat di Indonesia memiliki senyawa golongan metabolit sekunder alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin, glikosida dan triterpenoid yang dimana senyawa tersebut bertindak sebagai pencegah virus, pencegah inflamasi, antioksidan dan antibakteri. *Avicennia alba* dapat digunakan sebagai antioksidan penangkal radikal bebas dan bermanfaat dalam proses penyembuhan luka, antimikroba, antiradang, antibiotik, obat hemolitik, hipoglikemik dan sitotoksik [4]. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak pekat metanol daun dan kulit batang bakau api-api (*Avicennia marina* (Forks.) Vierh) mempunyai

kemampuan antioksidan yang baik dengan nilai IC_{50} sebesar 36,35 ppm pada daun dan 51,51 ppm pada kulit batang, sehingga menunjukkan tingkat aktivitas antioksidannya cukup kuat serta dapat digunakan sebagai sumber antioksidan [5].

Berdasarkan pada latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mencari informasi lebih dalam mengenai tanaman bakau api-api putih (*Avicennia alba* Blume) khususnya bagian batang untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam batang bakau api-api putih dengan menggunakan uji fitokimia dan untuk mengetahui nilai IC_{50} pada ekstrak total metanol dengan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: seperangkat alat kaca, *rotary evaporator*, spektrofotometer Uv-Vis, tabung reaksi, pipet mikro, labu takar dan pipet volume.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: batang Rambai, pelarut metanol, pelarut *n*-heksana, pelarut etil asetat, larutan $H_2SO_{4(p)}$, larutan $HCl_{(p)}$, serbuk Mg, larutan $HCl_{(p)}$, larutan $HNO_{3(p)}$, larutan $FeCl_3$ 1%, larutan H_2SO_4 1M, pereaksi

Dragendorff, larutan asam asetat *glacial*, akuades, DPPH dan vitamin C.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Sampel batang bakau api-api putih (*Avicennia alba* Blume) dihaluskan kemudian ditimbang dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil maserasi dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol.

Uji Fitokimia

Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak tersebut kemudian ditambahkan dengan asam asetat (CH_3COOH) *glacial* dan H_2SO_4 (p) secara perlahan melalui dinding tabung dan diamati. Hasil uji positif triterpenoid akan terbentuk warna ungu atau jingga dan hasil uji positif dari steroid akan terbentuk warna hijau atau biru.

Uji Alkaloid

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol, kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes H_2SO_4 1M dan dihomogenkan, selanjutnya ditambahkan beberapa tetes pereaksi Dragendorff. Hasil uji positif dari alkaloid terbentuknya endapan berwarna jingga sampai merah coklat.

Uji Fenolik

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol, kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif adanya senyawa fenol, ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

Uji Flavonoid

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol, kemudian larutan ditambahkan dengan sedikit serbuk Mg dan beberapa tetes HCl (p) lalu dihomogenkan. Hasil positif adanya flavonoid, ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah tua, kuning, atau jingga.

Uji Saponin

Ekstrak pekat metanol ditambahkan akuades panas dan dikocok dengan kuat. Apabila timbul busa, tambahkan beberapa tetes larutan HCl (p). Jika busa yang dihasilkan stabil selama 15 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Larutan DPPH dibuat dengan cara menimbang DPPH dan dilarutkan dalam metanol tepat pada konsentrasi 0,024mg/mL [].

Untuk ekstrak pekat metanol ditimbang 25 mg kemudian dilarutkan dengan metanol hingga volumenya 50 mL menggunakan labu takar. Sehingga diperoleh larutan ekstrak total metanol adalah 500 ppm. Ekstrak pekat metanol 500 ppm dienserkkan untuk mendapatkan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80 ppm dengan menggunakan pipet mikro.

Untuk pembandingan digunakan vitamin C ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan metanol sampai volumenya 100 mL menggunakan labu takar, sehingga diperoleh larutan induk vitamin C dengan konsentrasi 100 ppm, kemudian dilakukan pengenceran hingga diperoleh variasi konsentrasi 2, 4, 6 dan 8 ppm dengan menggunakan pipet mikro. Selanjutnya masing-masing konsentrasi ekstrak pekat metanol dan vitamin C dipipet sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,024 mg/mL lalu dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali (*Triplo*).

Aktivitas Antioksidan ditentukan berdasarkan persentase daya hambat radikal bebas. Analisa kuantitatif terhadap aktivitas penghambat radikal atau DPPH dilakukan dengan menggunakan rumus

$$\% \text{AA} = \frac{\text{AB} - \text{AS}}{\text{AB}} \times 100\%$$

Keterangan:

AB : Absorbansi kontrol negatif (metanol + DPPH)

AS : Absorbansi sampel

Selanjutnya ditentukan kurva regresi linear diantara konsentrasi sampel serta persen penghambatan rata-rata. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai konsentrasi penghambatan (IC_{50}) yang diperoleh dari persamaan $y = ax + b$ pada kurva regresi linear hubungan konsentrasi (x) dan persentase peredaman (y).

Pengujian ini bertujuan untuk mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan yang ditunjukkan melalui dekolorisasi warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning dan terjadi penurunan nilai absorbansi ekstrak terhadap kontrol. Jika terdapat indikasi tersebut maka dinyatakan bahwa telah terjadi penghambatan ekstrak terhadap radikal DPPH yang berarti ekstrak memiliki potensi antioksidan karena mampu menghambat kerja radikal bebas [2].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak total metanol dapat diketahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada **Tabel 1** berikut ini:

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak total metanol batang bakau api-api putih (*Avicennia alba* Blume).

| Jenis Senyawa | Ekstrak Total Metanol |
|---------------|-----------------------|
| Alkaloid | + |
| Fenolik | + |
| Flavonoid | + |
| Saponin | + |
| Steroid | + |
| Triterpenoid | - |

Ket : (+) Positif mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) Negatif mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada ekstrak total metanol batang bakau api-api putih diperoleh hasil positif terhadap alkaloid, steroid, fenolik, flavonoid dan saponin. Hasil uji fitokimia ini didukung pada penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa pada ekstrak etanol daun *Avicennia sp.* mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, triterpenoid, fenolik, tannin dan saponin. Dimana perbedaan senyawa hanya terletak pada senyawa steroid dan triterpenoid [11]. Pada uji alkaloid digunakan pereaksi Dragendorff, hasil uji positifnya ditandai dengan terbentuknya endapan merah jingga [6].

Endapan yang terbentuk merupakan endapan kalium-alkaloid karena atom nitrogen yang berada pada struktur alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan K^+ yang merupakan ion logam. Pada uji steroid digunakan pereaksi Liebermann-Burchard, merupakan campuran antara asam asetat glasial dan asam sulfat pekat. Hasil uji positif steroid jika terbentuk warna biru atau hijau [6]. Pada uji fenolik, hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru [6]. Ciri khas dari fenolik yaitu membentuk kompleks dengan pewarnaan biru atau biru ungu dengan besi (III) klorida. Kompleks yang terbentuk diduga berupa besi (III) heksafenolat, sehingga uji ini memberikan indikasi gugus OH aromatik.

Pada uji flavonoid, hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [6]. Perubahan warna terjadi akibat hidrolisis senyawa flavonoid oleh HCl pekat membentuk garam flavilium. Selanjutnya dengan penambahan serbuk Mg membentuk buih yang menandakan terjadinya reaksi reduksi-oksidasi, dimana flavonoid mengalami reduksi dan Mg teroksidasi menjadi Mg^{2+} . Reaksi yang terjadi berdasarkan metode Willstater Cyanidin. Pada uji saponin digunakan metode uji Forth menggunakan aquades panas dan larutan $HCl_{(p)}$ yang dimana sampel ditambahkan dengan aquades panas lalu dikocok secara kuat selama 15 menit untuk menimbulkan busa lalu ditambahkan dengan $HCl_{(p)}$, uji positif ditandai dengan terbentuknya busa secara konstan. Hal ini disebabkan adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain [6].

Uji Aktivitas Antioksidan

Adapun data uji yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal DPPH untuk ekstrak total metanol dan vitamin C dapat dilihat pada tabel 2 dan 3 berikut ini :

Tabel 2. Persen peredaman radikal DPPH (%AA) dari ekstrak total metanol pada berbagai konsentrasi

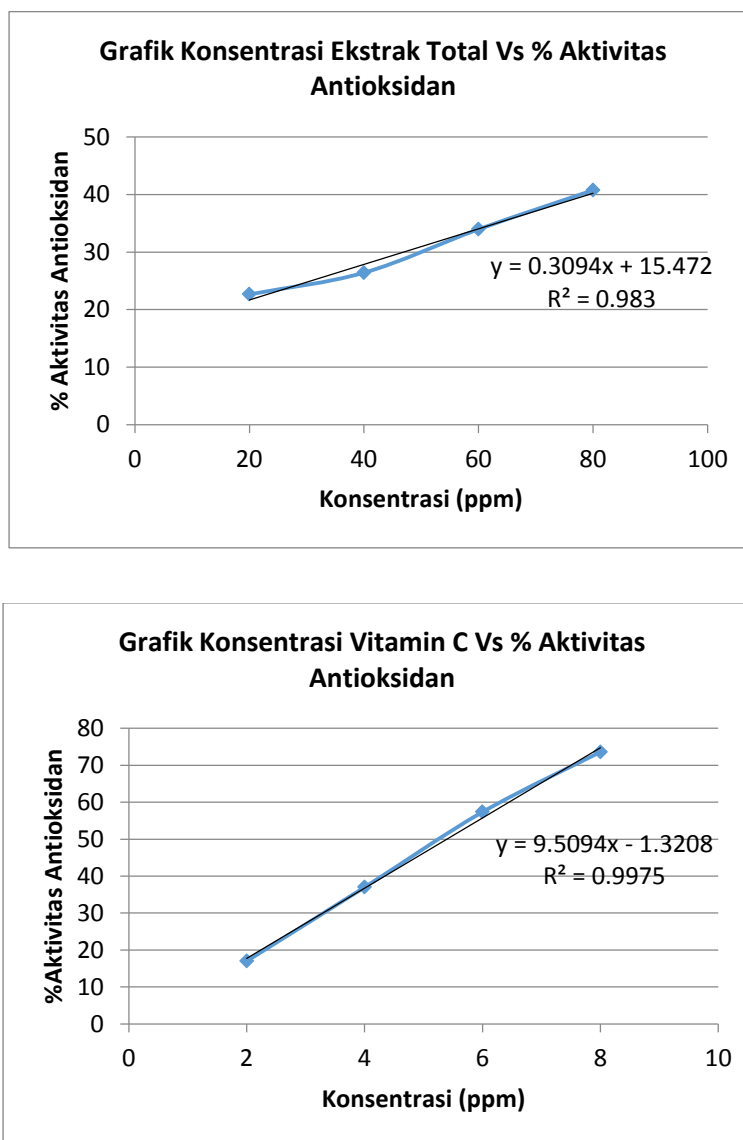
| Sampel | Konsentrasi | | | |
|-----------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | 20 ppm | 40 ppm | 60 ppm | 80 ppm |
| Ekstrak total metanol | 22,6415 % | 26,4150 % | 33,9622 % | 40,7547 % |

Tabel 3. Persen peredaman radikal DPPH (%AA) dari Vitamin C pada berbagai konsentrasi

| Sampel | Konsentrasi | | | |
|-----------|-------------|----------|-----------|-----------|
| | 2 ppm | 4 ppm | 6 ppm | 8 ppm |
| Vitamin C | 16,9811% | 36,9812% | 57,3584 % | 73,5849 % |

Berdasarkan hasil data tersebut maka grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak total metanol

dan vitamin C terhadap peredaman radikal DPPH (%AA) pada gambar 1 berikut ini :



Gambar 1. Kurva hubungan antara %AA terhadap ekstrak total metanol dan vitamin C sebagai pembanding

Besarnya nilai IC50 pada ekstrak total metanol dan vitamin C sebagai pembanding dapat diketahui dari persamaan regresi linier sederhana pada grafik di atas. Nilai IC50 untuk ekstrak total metanol diperoleh 111,5966 ppm dan pada vitamin C diperoleh 5,3964 ppm. Prinsip uji antioksidan dengan metode DPPH ini adalah perubahan intensitas warna ungu pada DPPH yang berbanding lurus dengan konsentrasi DPPH yang tersisa setelah direaksikan dengan senyawa

antioksidan. Perubahan intensitas warna ini dapat terjadi karena terjadinya peredaman radikal bebas DPPH. Dimana elektron bebas pada DPPH akan berikatan dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh senyawa antioksidan sehingga intensitas warna ungu DPPH berkurang dan berubah warna menjadi kuning. Perubahan warna ini akan menyebabkan terjadinya perubahan absorbansi dari larutan saat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang

gelombang optimum DPPH [2]. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH adalah nilai IC₅₀. IC₅₀ didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50 %. Nilai IC₅₀ diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar [10]. Secara spesifik, suatu senyawa jika memiliki nilai IC₅₀ < 10 ppm maka senyawa tersebut merupakan antioksidan sangat kuat, aktivitas kuat untuk IC₅₀ 10-50 ppm, aktivitas sedang untuk IC₅₀ 50-100 ppm, aktivitas lemah untuk IC₅₀ 100-250 ppm dan tidak aktif untuk IC₅₀ >250 ppm. [8]. Berdasarkan klasifikasi tersebut maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak total metanol batang bakau api-api memiliki potensi sebagai antioksidan lemah karena memiliki nilai IC₅₀ yang berada dalam rentang 100-250 ppm yaitu diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 111,5966 ppm.

Untuk ekstrak total metanol juga mengandung senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid dan steroid, namun masih bercampur antara senyawa yang polar dan non polar. Aktivitas antioksidannya tidak terlalu kuat karena senyawa yang terdapat di dalam ekstrak total metanol tidak bersinergis dengan baik sebagai antioksidan. DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi [2].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia terdapat beberapa jenis metabolit sekunder pada ekstrak total metanol batang bakau api-api putih (*Avicennia alba* Blume) yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan saponin. Sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak total metanol memiliki nilai IC₅₀ sebesar 111,5966 ppm. Berdasarkan data nilai IC₅₀ tersebut dapat disimpulkan ekstrak total metanol memiliki kekuatan aktivitas antioksidan lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Erviana, L. Malik, A. Najib, A. 2016. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(2).
- [2] Erwin. Nissa, R, A dan Daniel. 2015. Uji Fitokimia Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) Dengan Metode DPPH. *Indonesia Chimica Acta*. 8 (1).
- [3] Erwin. Pusparohmana, W. R., Sari, I. P., Hairani, R dan Usman. 2018. Phytochemical and Antioxidant Activity Evaluation of the Bark of Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *F1000Research*. 7. 1977.
- [4] Fitri, Z, M., Kismiyati. Mubarak, A, S. 2018. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Api-Api (*Avicennia alba*) Terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis Secara Invitro. *JIPK*.10(2).
- [5] Handayani, S. 2013. "Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina*(Forks.)Vierh.) Sebagai Senyawa Aktif Antioksidan". Skripsi. IPB : Bogor. 16-29.
- [6] Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [7] Imanuddin. B, D, A, S, Simarankir. 2012. Analisis Vegetasi Kawasan Hutan Mangrove di Teluk Pangempang Kecamatan Muara Badak Kabupaten Kartanegara. *Jurnal Kehutanan Tropika Humida*. 5(1).
- [8] Phongpaichit, S., Nikom, J., Hutadilok T. N., Rukachaisirikul, V., Kirtikara, K. 2007. Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From *Garcinia* Plant. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 51(3). 517-525.
- [9] Purwanti, R. 2016. *Studi Etnobotani Pemanfaatan Jenis-Jenis Mangrove Sebagai Tumbuhan Obat di Sulawesi*. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Ke-50. Samarinda. 20-21 April 2016.
- [10] Supomo. Syamsul, E. S., Apriliana, A., Saleh, C., Erwin dan Lestari, D. 2019. Antioxidant Assay Of Dayak Onion (*Eleutherine palmifolia*) Via DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) And BSLT Test For Its Active Fraction. *Rasayan J. Chem*. 12(3). 1340-1346.

- [11] 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 of Pharmacy and Technology*. 12(4). 1707-1712.