

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN DAN KULIT BATANG MANGROVE *Rhizophora mucronata*

Usman^{1*}, Arya Dwinata Putra²

¹Program Studi Magister Pendidikan Kimia, FKIP, Universitas Mulawarman

²Program Studi Sarjana Pendidikan Kimia, FKIP, Universitas Mulawarman

*Corresponding author, email: sainusman@gmail.com

ABSTRAK

Kekayaan tumbuhan Indonesia banyak dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan penyakit degeneratif. Salah satu tumbuhan yang diketahui memiliki khasiat sebagai bahan obat alternatif adalah tumbuhan mangrove jenis *Rhizophora mucronata*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun dan kulit batang *R. mucronata*. Analisis uji fitokimia dilakukan dengan cara uji warna, diantaranya adalah uji alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, triterpenoid, saponin, dan tanin. Sedangkan untuk uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH diukur serapan pada panjang gelombang 517 nm. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etil asetat daun mangrove *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik dan tanin, sedangkan ekstrak etil asetat kulit batang mangrove *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Kemudian hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun *R. Mucronata* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 68,356 ± 0,906 ppm dan ekstrak etil asetat kulit batang *R. mucronata* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 116,902 ± 3,007 ppm. Berdasarkan nilai IC₅₀ tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat dan ekstrak etil asetat kulit batang *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sedang.

Kata Kunci : Uji Fitokimia, DPPH, Metabolit Sekunder, Antioksidan, IC50

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif merupakan penyakit nomor satu di Asia Tenggara. Berdasarkan data WHO tahun 2008, angka kematian di Asia Tenggara sekitar 14,5 juta, sekitar 55% (7,9 juta) disebabkan oleh penyakit degeneratif (Tristantini, Ismawati, Pradana, & Jonathan, 2016). Penyakit degeneratif di Indonesia menempati urutan keempat menurut data World Health Organization (WHO) tahun 2000 (Haryoto & Frista, 2019). Penyakit degeneratif adalah penyakit tidak menular yang disebabkan oleh penurunan fungsi organ tubuh kronis akibat proses penuaan atau proses lain termasuk peradangan kronis (Berawi, Wahyudo, & Adiet, 2019). Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, stroke, gagal ginjal, hipertensi, katarak, penuaan dini dan penyakit kronik lainnya (Haryoto & Frista, 2019). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan tersebut menyebabkan radikal bebas sangat reaktif yang kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain yang mengakibatkan

terjadinya stress oksidatif (Faiqoh, Utami, & Yuniari, 2020).

Radikal bebas dapat bersumber dari dalam (sisa metabolisme tubuh) maupun dari luar tubuh (sinar UV, polutan, dll) (Kasitowati, Yamindago, & Safitri, 2017). Radikal bebas secara terus menerus terbentuk didalam tubuh, jika jumlahnya didalam tubuh sangat banyak dapat berpotensi menonaktifkan berbagai enzim, mengoksidasikan lemak dan mengganggu DNA tubuh sehingga terjadi mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker (Handayani, Ahmad, & Sudir, 2018)

Upaya untuk menangkal radikal bebas yaitu menggunakan senyawa antioksidan (Kasitowati, Yamindago, & Safitri, 2017). Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang stabil. Senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan diantaranya dapat berupa asam fenolik, flavonoid, polifenol, karoten, vitamin C, vitamin E, dan likopen yang dapat menghambat produksi radikal bebas (Febrianti, Ariani, & Niah, 2018). Antioksidan dapat diproduksi secara sintetik maupun diperoleh secara alami. Antioksidan alami dapat diperoleh

dari berbagai jenis tanaman (Faiqoh, Utami, & Yuniari, 2020).

Indonesia sebagai negara tropis mempunyai keragaman tumbuhan yang berpotensi besar untuk dikembangkan dalam dunia pengobatan (Ghozaly & Utami, 2017). 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 (Nuryadi, Erwin, & Usman, 2019). Tumbuhan herbal yang terdapat di Indonesia sangat banyak yang bisa dimanfaatkan sebagai antioksidan (Febrianti, Ariani, & Niah, 2018). Jenis tumbuhan yang banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional adalah tanaman mangrove (Usman, Masruhim, Erika, Nuridin, & Kuncoro, 2019).

Salah satu spesies mangrove yang diketahui memiliki khasiat sebagai bahan obat alternatif yaitu mangrove jenis *Rhizophora mucronata*. *R. mucronata* pada bidang medis berpotensi sebagai obat penyakit beri-beri dan haematoma (kulit batang); hepatitis (kulit batang, bunga, daun, akar); borok (kulit batang) (Kasitowati, Yamindago, & Safitri, 2017). Daun mangrove *Rhizophora mucronata* mengandung 2-(2etoksi etanol, kau-16-ena dan benzophenon, senyawa fenolik golongan flavonoid, asam fenolat, tannin dihidroflavonol, asam kafeat, asam vanilat, asam p-hidroksi benzoate, tanin, alkaloid, kumarin, flavonoid, fenol dan polifenol, quinon, resin, saponin, fitosterol, xanthoprotein, pigmen (klorofil, karotenoid) dan gula (Faiqoh, Utami, & Yuniari, 2020).

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun dan kulit batang *R. mucronata* dan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun dan kulit batang *R. mucronata* dengan 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, mikro pipet, labu takar dan pipet volume.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: daun dan kulit batang bakau hitam, pelarut etil asetat, larutan $H_2SO_4(p)$, larutan $HNO_3(p)$, larutan $HCl(p)$, serbuk Mg, larutan $FeCl_3$ 1%, larutan

H_2SO_4 , pereaksi Dragendroff, larutan asam asetat glasial, akuades, DPPH, dan vitamin C.

Preparasi Sampel

Sampel daun dan kulit batang *Rhizophora mucronata* diperoleh di pesisir Pantai Sambera, Kecamatan Muara Badak. Sampel tersebut kemudian dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara dianginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sampel serbuk dimaserasi selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut etil asetat. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat.

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak pekat etil asetat dilarutkan menggunakan etil asetat. Ekstrak tersebut ditambahkan dengan beberapa tetes H_2SO_4 dan dihomogenkan, selanjutnya larutan ini dianalisis dengan pereaksi Mayer, Dragendroff, dan Wagner sebanyak 4-5 tetes. Hasil uji positif dengan pereaksi Mayer akan terbentuk endapan putih, dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah jingga dan dengan pereaksi wagner terbentuk endapan coklat.

Uji Flavonoid

Ekstrak pekat etil asetat dilarutkan menggunakan etil asetat kemudian ditambahkan 1 mL Pb asetat 10% dan dikocok. Apabila terjadi perubahan warna menjadi coklat kekuningan berarti positif mengandung flavonoid.

Uji Saponin

Ekstrak pekat etil asetat ditambahkan akuades panas dan dikocok dengan kuat. Apabila timbul busa, tambahkan beberapa tetes larutan HCl . Jika busa yang dihasilkan stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

Uji Tanin

Ekstrak pekat etil asetat dilarutkan menggunakan etil asetat kemudian sebanyak 1 mL larutan $FeCl_3$ 3%, kemudian amati perubahannya. Bila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman mengindikasikan adanya senyawa tanin.

Uji Fenolik

Ekstrak pekat etil asetat dilarutkan menggunakan etil asetat kemudian ditambahkan 1 mL larutan $FeCl_3$ 1%. Hasil uji positif adanya senyawa fenol, ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat.

Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak pekat etil asetat dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak tersebut kemudian ditambahkan dengan asam asetat glasial dan H₂SO₄(p) secara perlahan melalui dinding tabung. Hasil uji positif adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu atau jingga dan hasil uji positif adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau biru.

Uji Aktivitas Antioksidan Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dengan 50 mL etil asetat dalam labu ukur.

Pembuatan larutan sampel

Dibuat larutan stok 250 ppm dengan cara menimbang ekstrak etil asetat daun dan kulit batang mangrove *Rhizophora mucronata* sebanyak 6,25 mg dan dilarutkan dengan etil asetat hingga volumenya 25 mL menggunakan labu takar. Ekstrak pekat etil asetat 250 ppm diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 20, 40, 60, dan 80 ppm.

Pembuatan larutan perbandingan

Dibuat larutan stok 40 ppm dengan cara menimbang 1 mg vitamin C kemudian dilarutkan dengan etil asetat sampai volumenya 25 mL menggunakan labu takar, kemudian dilakukan pengenceran hingga diperoleh variasi konsentrasi 2, 4, 6, dan 8 ppm.

Pengukuran Daya Antioksidan Larutan Kontrol

Pengujian dilakukan dengan memasukkan 4 mL etil asetat dan 1 mL DPPH 50 ppm kedalam tabung reaksi. Lalu dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit diruangan gelap. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pengukuran Daya Antioksidan Sampel dan Vitamin C

Pengujian dilakukan dengan memasukkan masing-masing konsentrasi ekstrak etil asetat sampel dan vitamin C sebanyak 4 mL dan 1 mL DPPH 50 ppm ke dalam tabung reaksi. Lalu dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit di ruangan gelap. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali (Triplo).

Analisis Data

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

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

Keterangan

AB : Absorbansi kontrol negatif (etil asetat + DPPH)

AS : Absorbansi sampel

Selanjutnya ditentukan kurva regresi linear diantara konsentrasi sampel dan persen penghambatan rata-rata. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai konsentrasi penghambatan (IC₅₀) yang diperoleh dari persamaan $y = ax + b$ pada kurva regresi linear hubungan konsentrasi (x) dan persentase peredaman (y) (Nuryadi, Erwin, & Usman, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak etil asetat daun dan kulit batang mangrove *Rhizophora mucronata* dapat diketahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun *R. mucronata*

Jenis Senyawa	Hasil Uji
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	-
Tanin	+
Fenolik	+
Steroid	-
Triterpenoid	-

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang *R. mucronata*

Jenis Senyawa	Hasil Uji
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	-
Tanin	-
Fenolik	+
Steroid	-
Triterpenoid	+

Berdasarkan hasil uji fitokimia, senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan pada ekstrak etil asetat daun *R. mucronata* yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, dan tanin, sedangkan pada ekstrak etil asetat kulit batang *R. mucronata* yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, dan triterpeneoid. Dimana alkaloid terutama indol memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi senyawa berantai radikal bebas secara efisien. Senyawa alkaloid lainnya yang bersifat antioksidan adalah quinolon, kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal, hidroksi dan melatonin yang berperan penting menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-obatan. Senyawa berikutnya yang berpotensi sebagai antioksidan

adalah flavonoid yang merupakan senyawa polifenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi (Handayani, Ahmad, & Sudir, 2018)

Uji Aktivitas Antioksidan

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal DPPH untuk ekstrak etil asetat daun dan kulit batang mangrove *R. mucronata* dan vitamin C dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Mangrove *R. mucronata*

Pengulangan	Konsentrasi	% Aktivitas Antioksidan	Persamaan Linear	IC ₅₀ (ppm)
1	20	21,164	$y=0,5952x + 97884$	67,560
	40	33,3333		
	60	47,619		
	80	56,0847		
2	20	20,3704	$y = 0,578x + 9,9206$	69,342
	40	33,8624		
	60	46,2963		
	80	54,7619		
3	20	20,8995	$y = 0,5899x + 9,7884$	68,167
	40	33,0688		
	60	47,8836		
	80	55,291		

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Mangrove *R. mucronata*

Pengulangan	Konsentrasi	% Aktivitas Antioksidan	Persamaan Linear	IC ₅₀ (ppm)
1	20	15,873	$y = 0,3532x + 8,7302$	116,845
	40	22,7513		
	60	29,8942		
	80	37,037		
2	20	16,4021	$y = 0,3611x + 8,8624$	113,923
	40	22,7513		
	60	30,6878		
	80	37,8307		
3	20	15,6085	$y = 0,3452x + 8,5979$	119,937

	40	22,2222		
	60	29,3651		
	80	36,2434		

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Pengulangan	Konsentrasi	% Aktivitas Antioksidan	Persamaan Linear	IC ₅₀ (ppm)
1	2	16,9312	$y = 9,537x - 1,455$	5,395
	4	37,037		
	6	57,1429		
	8	73,8095		
2	2	16,4021	$y = 9,6825x - 2,2487$	5,396
	4	36,7725		
	6	57,4074		
	8	74,0741		
3	2	17,1958	$y = 9,5767x - 1,5873$	5,386
	4	36,7725		
	6	56,8783		
	8	74,3386		

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode ini di pilih karena merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan secara in vitro dan juga merupakan metode yang sederhana, cepat serta bahan kimia dan sampel yang digunakan hanya sedikit (Ghozaly & Utami, 2017). 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. (Nuryadi, Erwin, & Usman, 2019)

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 ($y = ax + b$) yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal (Nuryadi, Erwin, & Usman, 2019). Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y. Setelah mensubstitusikan nilai 50 pada nilai y, akan didapat nilai x sebagai nilai IC₅₀. (Tristantini, Ismawati, Pradana, & Jonathan, 2016). Semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Hal ini diperkuat bahwa suatu ekstrak dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ dari ekstrak tersebut kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (150-200) (Faiqoh, Utami, & Yuniari, 2020). Berdasarkan klasifikasi tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar $68,356 \pm 0,906$ ppm dan ekstrak etil asetat kulit batang *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar $116,902 \pm 3,007$ ppm.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia, senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etil asetat daun mangrove *R. mucronata* yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik dan tanin sedangkan pada ekstrak etil asetat kulit batang mangrove *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Kemudian hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat daun *R. mucronata* memiliki nilai IC_{50} sebesar $68,356 \pm 0,906$ ppm dan ekstrak etil asetat kulit batang *R. Mucronata* memiliki nilai IC_{50} sebesar $116,902 \pm 3,007$ ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat daun *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat dan ekstrak etil asetat kulit batang *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Berawi, K., Wahyudo, R., & Adiet, A. (2019). Potensi Terapi Moringa oleifera (Kelor) pada Penyakit Degeneratif. *JK Unila*, 210.
- Diani, N. M., Swantara, I. M., & Mahardika, I. G. (2015). AKTIVITAS ANTIKANKER ISOLAT TOKSIK DARI EKSTRAK METANOL SPONS GENUS Haliclona Grant, 1836 TERHADAP SEL HELA . *Cakra Kimia*, 40.
- Faiqoh, M., Utami, T. F., & Yuniari. (2020). Uji Antioksidan Sediaan Stick Balm Ekstrak Daun Rhizophora Mucronata Dengan Metode Dpph. *Jurnal Ilmiah Jophus*, 51-52.
- Febrianti, D. R., Ariani, N., & Niah, R. (2018). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL KULIT JERUK SIAM BANJAR (Citrus reticulata). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2.
- Ghozaly, M. R., & Utami, Y. N. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Jantung Pisang Kepok (Musa balbisiana BBB) dengan Metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil). *Sainstech Farma*, 12-13, 15.
- Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*, 90-91.
- Haryoto, H., & Frista, A. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Non Polar dari Daun Mangrove Kacangan (Rhizophora apiculata) dengan Metode DPPH dan FRAP. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 132.
- Kasitowati, R. D., Yamindago, A., & Safitri, M. (2017). Potensi Antioksidan dan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove Rhizophora mucronata, Pilang Probolinggo. *Journal of Fisheries and Marine Science* , 75.
- Nuryadi, D., Erwin, & Usman. (2019). UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BATANG BAKAU APIAPI PUTIH (Avicennia alba Blume). *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2019*. Samarinda: Jurusan Kimia FMIPA UNMUL.