

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Non Polar dari Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*) dengan Metode DPPH dan FRAP

H. Haryoto*, Alfa Frista

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Achmad Yani Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura, Surakarta, Jawa Tengah 57102
*Email: haryoto@ums.ac.id

Abstract

Mangrove plants (*Rhizophora apiculata*) is one type of mangrove that has the potential as a source of natural antioxidants. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the extract of legumes from mangrove leaves (*Rhizophora apiculata*) and determine the differences in the value of antioxidant activity using the DPPH and FRAP methods. Extraction of leaves of *R. apiculata* maceration method using ethanol 96% solvent. Antioxidant activity of ethanol extract and three fractions was measured by DPPH and FRAP methods and identification of groups of compounds with spray reagents with silica GF₂₅₄ stationary phase and nexex: ethyl acetate (8:2) mobile phase. Visualization with dragendroff reagent, FeCl₃, anisaldehyde, and cytoborate. The results of IC₅₀ ethanol extract, polar fraction, semi-polar fraction, non-polar fraction and vitamin E with the DPPH method were obtained respectively 17.60; 119.81; 176,59; 253.03; 9.36 ppm while for the FRAP method IC₅₀ is 18.44; 154,81; 179,40; 259.25; 9.41 ppm ethanol extract is more potential than the three fractions. Test of bioactive components of ethanol extract and three fractions containing flavonoids, tannins, and terpenoids. The statistical test with paired T-test produced a significance value of 0.063 indicating that there was no significant difference in the value of antioxidant activity of extracts of mangrove leaves (*R. apiculata*) with the DPPH and FRAP method.

Keywords: Antioxidants, *Rhizophora apiculata*, FRAP, DPPH

Abstrak

Tumbuhan mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) merupakan salah satu jenis mangrove yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangrove kacang (*R. apiculata*) dan mengetahui perbedaan nilai aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan FRAP. Ekstraksi daun *R. apiculata* metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan tiga fraksi diukur dengan metode DPPH dan FRAP dan identifikasi golongan senyawa dengan pereaksi semprot dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak nheksan:etil asetat (8:2). Visualisasi dengan reagen dragendroff, FeCl₃, anisaldehyd, dan sitoborat. Hasil IC₅₀ ekstrak etanol, fraksi polar, fraksi semi polar, fraksi non polar dan vitamin E dengan metode DPPH didapatkan masing- masing 17,60; 119,81; 176,59; 253,03; 9,36 ppm sedangkan untuk metode FRAP didapatkan IC₅₀ masing-masing 18,44; 154,81; 179,40; 259,25; 9,41 ppm. Ekstrak etanol lebih potensial

dibandingkan dengan ketiga fraksi. Uji komponen bioaktif ekstrak etanol dan tiga fraksi mengandung golongan flavonoid, tanin, dan terpenoid. Uji statistik dengan *paired T-test* dihasilkan nilai signifikansi 0,063 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangrove kacang (*R. apiculata*) dengan metode DPPH dan FRAP.

Kata Kunci: Antioksidan, *Rhizophora apiculata*, FRAP, DPPH.

Submitted: 26 Juni 2019

Accepted: 05 November 2019

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i2.129>

■ Pendahuluan

Antioksidan adalah senyawa atau zat yang dapat menghambat, menunda, mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi meskipun dalam konsentrasi yang kecil. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas sehingga memicu reaksi berantai (*chain reaction*) [1]. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, stroke, gagal ginjal, hipertensi, katarak, penuaan dini dan penyakit kronik lainnya [2,3]. Penyakit degeneratif di Indonesia menempati urutan keempat menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2000 [4]. Aktivitas radikal bebas dapat diredam dengan pemberian antioksidan. Kebanyakan penggunaan antioksidan sintetik yang berpotensi karsinogenik [5]. Oleh karena itu alternatif lain menggunakan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Salah satunya adalah daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*).

Mangrove kacang (*R. apiculata*) termasuk famili Rhizophoraceae, merupakan tumbuhan yang tumbuh disepanjang pesisir Indonesia. Mangrove kacang digunakan sebagai pengobatan tradisional sebagai obat pelangsing, antidiare dan antimuntah [6]. Kandungan senyawa pada tumbuhan mangrove kacang di antaranya alkaloid, tannin, flavonoid, yang dapat digunakan sebagai antibakteri, antimalaria, antiviral dan antioksidan. Komponen metabolit sekunder dari mangrove kacang jenis flavonoid terkandung: luteolin, asam hidrosik sinamil flavanol, flavonol, apigenin, flavon, pigmen antosianin, dan benzophenon memiliki aktivitas dalam menghambat radikal bebas metode DPPH dan ABTS [6-8]. Penelitian metode DPPH pada kulit batang *R. apiculata* dapat menangkap radikal bebas dengan IC_{50} ekstrak metanol, ekstrak etil

asetat dan ekstrak nheksan sebesar 3,31; 137,11; 167,67 ppm [9]. Rahim [10] meneliti aktivitas antioksidan senyawa tanin yang diisolasi dari kulit batang *R. Apiculata* diperoleh data bahwa aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrihidrasil (DPPH) dan 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6 sulfonic acid (ABTS) memiliki persentase aktivitas antioksidan > 90% pada konsentrasi 30 dan 50 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*), yaitu dengan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang mangrove kacang menggunakan metode DPPH dan ABTS diperoleh hasil bahwa kulit batang mangrove kacang memiliki potensi sebagai antioksidan. Oleh sebab itu dalam penelitian ini dilakukan pada daun mangrove kacang dengan skrining fitokimia terlebih dahulu, fraksinasi dan uji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH dan FRAP dengan vitamin E sebagai kontrol positif.

■ Metode Penelitian

Determinasi tumbuhan

Determinasi dilakukan untuk mencocokkan keadaan tumbuhan yang diteliti berdasarkan literatur dan kunci-kunci determinasi untuk memastikan identitas tumbuhan dan menghindari kesalahan dalam pengambilan tumbuhan yang diteliti. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA UNS.

Pembuatan simplisia

Tumbuhan mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) yang diambil dari desa Biji Lor, Hutan Payau yang terletak di Cilacap Utara pada tanggal 5 agustus 2018. Tumbuhan mangrove kacang

(*Rhizophora apiculata*) yang dikumpulkan panjang dan diameter daun yang diambil sebagai sampel berkisaran 4-8 cm dan 3-6 cm berwarna hijau, kemudian dikeringkan dioven selama ± 3 hari dilakukan perajangan dan dihaluskan dengan blender.

Pembuatan ekstrak

Ekstraksi dilakukan pada simplisia sebanyak 500 mg dilakukan dengan maserasi menggunakan etanol 96% (teknis) sebanyak 1,5 L sekali maserasi yang dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali selama 3 hari. Kemudian dilakukan penyaringan dengan bantuan *vacuum rotary evaporator* ($\pm 40^\circ\text{C}$; 0,16 atm) untuk pemekatan, ekstrak etanol kemudian dikeringkan dengan bantuan *waterbath*. Hasil ekstrak dihitung nilai rendemennya.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat basah}} \times 100\% \quad (1)$$

Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak etanol daun mangrove kacang (*R. apiculata*) menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) yang dimodifikasi. Fase diam yang digunakan dalam KCV adalah silika gel G60 GF₂₅₄, sedangkan fase gerak digunakan fase gerak terbaik pada KLT dengan eluen n-heksana : etil asetat. Sebelum dilakukan proses pemisahan dengan kolom kromatografi vakum, sampel diimpregnasi terlebih dahulu menggunakan silika gel dengan ukuran 50-100 mesh. Sebanyak 20 g ekstrak etanol diimpregnasi dengan silika gel sebanyak 40 g kemudian dicampur hingga homogen dan kering. Tahap fraksinasi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang meningkat digunakan campuran nheksana : etil asetat dengan berbagai perbandingan yaitu 9:1 (2 \times), 8,5:1,5 (3 \times), 8:2 (3 \times), 7:3 (3 \times), 6:4 (2 \times), 5:5 (2 \times). Penggunaan etanol 2 \times untuk melarutkan senyawa-senyawa yang masih tersisa di dalam ekstrak yang masih tertahan dalam silika. Tiap elusi diperlukan eluen sebanyak 150 mL. Kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Setiap perbandingan eluen diletakan pada wadah yang berbeda. Dari hasil KCV diperoleh sebanyak 16 fraksi yang selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dianalisis menggunakan KLT. Fase diam KLT terbuat dari silika GF₂₅₄ dengan perbandingan fase gerak n-heksan : asam asetat (8:2). Noda-noda dengan nilai *R_f* yang sama

pada pelat KLT selanjutnya digabung yang bisa diamati dengan UV 254 dan 366 nm. Proses analisis tersebut dapat dikelompokkan menjadi tiga fraksi berdasarkan nilai *R_f* yang sama yaitu fraksi polar, semi polar, dan non polar. Hasil tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu $\pm 40^\circ\text{C}$.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan secara kualitatif senyawa metabolit sekunder pada sampel yang berdasarkan perubahan warna yang akan ditimbulkan. Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot. Golongan-golongan senyawa yang akan diidentifikasi yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid dan polifenol. Pereaksi semprot yang digunakan yaitu dragendroff (deteksi alkaloid), FeCl₃ (deteksi tanin dan polifenol), anisaldehyd H₂SO₄ (deteksi terpenoid) dan sitoborat (deteksi flavonoid).

Profil KLT

Analisis kualitatif kandungan senyawa daun mangrove kacang (*R. apiculata*) menggunakan profil KLT. Fase diam KLT terbuat dari silika GF₂₅₄ dengan perbandingan fase gerak nheksan : asam asetat (8:2). Ekstrak dan tiga fraksi ditotolkan di atas lempeng KLT 5 \times 1 cm batas atas 0,5 cm, dan batas bawah 0,5 cm. Dimasukkan ke dalam bejana berisi fase gerak jenuh, dan elusi ditunggu sampai batas atas KLT. Hasil elusi didiamkan sampai kering dan disemprot dengan reagen sitoborat, FeCl₃, Dragendroff, dan anisaldehyd.

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan metode DPPH ekstrak etanol dan tiga fraksi berdasarkan [11] yang dimodifikasi. Dibuat larutan DPPH konsentrasi 390 ppm dengan etanol p.a sebagai pelarut disimpan dalam botol gelap dan simpan dalam lemari es. Pembacaan serapan DPPH dilakukan dengan membuat 5 seri konsentrasi 2, 4, 8, 16, 32 ppm pada ekstrak etanol ; 16, 32, 64, 128, 256 ppm pada fraksi polar, semi polar dan non polar serta vitamin E (sebagai kontrol positif) 6, 8, 10, 12, 14 ppm yang telah ditambahkan 1000 μL larutan pereaksi DPPH dan etanol p.a sampai 5 mL. Dilakukan vorteks dan inkubasi selama 30 menit. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimal 516,1

nm. Selanjutnya kontrol digunakan pereaksi DPPH 1000,0 µL ditambah etanol p.a sampai 5 mL. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan tiga fraksi daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin E. Dari pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh data abs kontrol (nilai absorbansi larutan DPPH dalam etanol) dan abs sampel (nilai absorbansi dari larutan DPPH dalam etanol ditambah sampel). Berdasarkan data tersebut dapat dihitung aktivitas antioksidannya dengan rumus [12], seperti terlihat pada Persamaan (2).

$$\text{Persen (\%)} \text{ penangkap radikal} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\% \quad (2)$$

Setelah mendapatkan harga % dihitung persamaan garis linear untuk bisa menentukan nilai IC₅₀ (besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal bebas sebanyak 50%)

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

Uji aktivitas antioksidan metode FRAP ekstrak etanol dan tiga fraksi berdasarkan [13] yang dimodifikasi. Pembacaan serapan FRAP dilakukan dengan membuat 5 seri konsentrasi membuat 5 seri konsentrasi 2, 4, 8, 16, 32 ppm pada ekstrak etanol; 16, 32, 64, 128, 256 ppm pada fraksi polar, semi polar dan non polar serta vitamin E (sebagai kontrol positif) 6, 8, 10, 12, 14 ppm yang ditambahkan dengan 3 mL larutan pereaksi FRAP dan akuades sampai 5 mL. Dilakukan inkubasi selama 95 menit dan dibaca pada panjang gelombang 596,2 nm. Larutan FRAP yang terdiri dari 10 mmol/mL TPTZ (2,4,5 tripyridil-striazine), 300 mmol/mL buffer asetat pH 3,6 dan 20 mmol/mL FeCl₃.6H₂O, FeSO₄.7H₂O sebagai larutan standar. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan tiga fraksi daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin E. Dari pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh data abs kontrol (nilai absorbansi yang berisi larutan FeSO₄.7H₂O berbagai konsentrasi, 3 mL larutan FRAP dan akuades) dan abs sampel ((nilai absorbansi sampel berbagai konsentrasi dikurangi abs blanko (FRAP dan akuades)). Berdasarkan data tersebut dapat dihitung aktivitas pereduksi dengan rumus pada persamaan 3.

$$\text{Persen (\%)} \text{ pereduksi} = \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\% \quad (3)$$

Setelah mendapatkan harga % dihitung persamaan garis linear untuk bisa menentukan nilai IC₅₀ (besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat mereduksi radikal bebas sebanyak 50%)

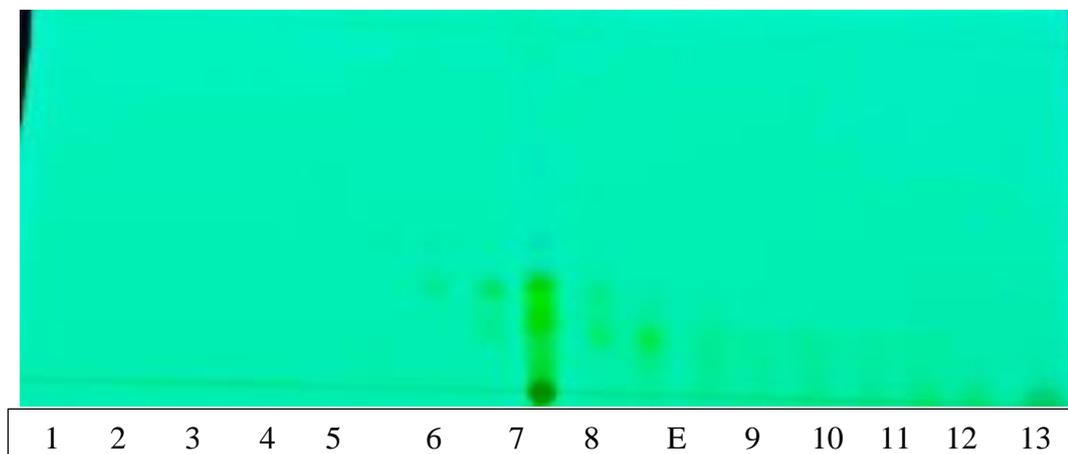
■ Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil identifikasi dari FMIPA UNS, diperoleh bahwa tumbuhan bakau yang akan digunakan sebagai sampel adalah jenis *Rhizophora apiculata* BL dengan nomor spesimen 200/UN27.9.6.4/Lab/2018. Pemilihan sampel dipilih daun mangrove karena jaringan penyusunnya sederhana dan dapat menghasilkan flavonoid [8]. Flavonoid merupakan salah satu senyawa target dalam penelitian ini. Ekstraksi daun mangrove kacang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Keuntungan maserasi adalah simpel, tidak sulit, sedikit gangguan fisik, rendemen tinggi, dan lebih efisien dalam penyarian ekstrak karena bantuan refluks dengan pemanasan 40-60°C [14]. Hasil penelitian lain menyampaikan, bahwa daya ekstraksi etanol cukup tinggi dalam menyari komponen metabolit sekunder daun mangrove kacang, yaitu sekitar 10% [15]. Besar dan kecil persen rendemen dari setiap ekstrak dipengaruhi oleh jumlah kandungan metabolit sekunder dalam daun mangrove kacang.

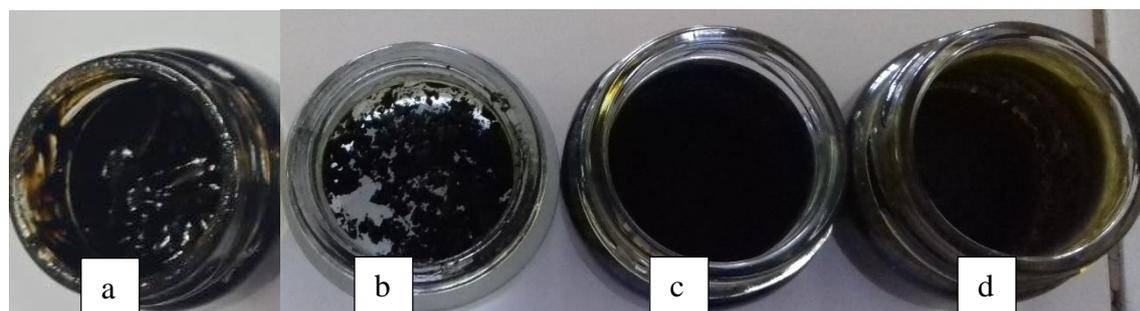
Hasil ekstrak etanol dilakukan fraksinasi menggunakan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum). Prinsip kerja KCV yaitu partisi dan adsorpsi yang pemisahannya menggunakan bantuan tekanan dari pompa vakum. Fase diam pada fraksinasi KCV menggunakan Silika G60 GF₂₅₄ dan fase gerak menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran meningkat (n-heksana : etil asetat). Penggunaan pelarut dengan kepolaran meningkat bertujuan agar setiap pelarut dapat melarutkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya [16]. Hasil dari KCV diperoleh sebanyak 16 fraksi yang selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dianalisis menggunakan KLT selanjutnya digabung sehingga menghasilkan 8 fraksi utama (no 7,8,9,10,11,12,13, dan 14). Bercak dengan nilai R_f yang sama pada plat KLT maka digabungkan dan didapatkan 3 hasil fraksi yaitu fraksi non polar (no 7 dan 8), fraksi semi polar (no 9-11), dan fraksi polar (no 12-14). Pada hasil fraksi no 1-6 tidak muncul bercak pada KLT kemungkinan karena masih menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran rendah sehingga belum ada senyawa yang tertarik pada fraksi no 1-6. Pada

fraksi no 15 dan 16 tidak muncul bercak pada KLT karena pada no 15 dan 16 memakai pelarut etanol yang digunakan untuk membilas KCV sehingga

hasil pada no 15 dan 16 merupakan hasil minor dari semua fraksinasi. Hasil fraksinasi daun mangrove kacangan dapat dilihat gambar 1.



Gambar 1. Hasil Fraksinasi dengan Metode KCV dilihat dari Sinar UV 254 nm



Gambar 2. Hasil Ekstrak dan fraksinasi (a. Ekstrak etanol, b. fraksi polar, c. Fraksi semi polar, dan d. Fraksi non polar)

Persentase rendemen hasil maserasi dapat dilihat pada ekstrak etanol dan ketiga fraksi menghasilkan rendemen berbeda, karena perbedaan polaritas pelarut dalam menyari jenis senyawa yang terkandung pada daun mangrove kacangan. Rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol, karena terdapat banyak senyawa yang tersari oleh ekstrak etanol terutama senyawa-senyawa polar, semi polar dan non polar. Sedang, hasil rendemen ketiga fraksi didapatkan sangat rendah. Hasil penelitian tersebut dapat diprediksikan bahwa komponen metabolit sekunder terbanyak dari daun mangrove kacangan terdapat pada ekstrak etanol. Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak etanol dan ketiga fraksi (polar, semi polar, dan non polar) bisa dilihat tabel 1. Sedangkan warna ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada gambar 2.

Tabel 1. Hasil % Rendemen Ekstrak Etanol dan Tiga Fraksi Daun Mangrove Kacangan (*Rhizophora apiculata*)

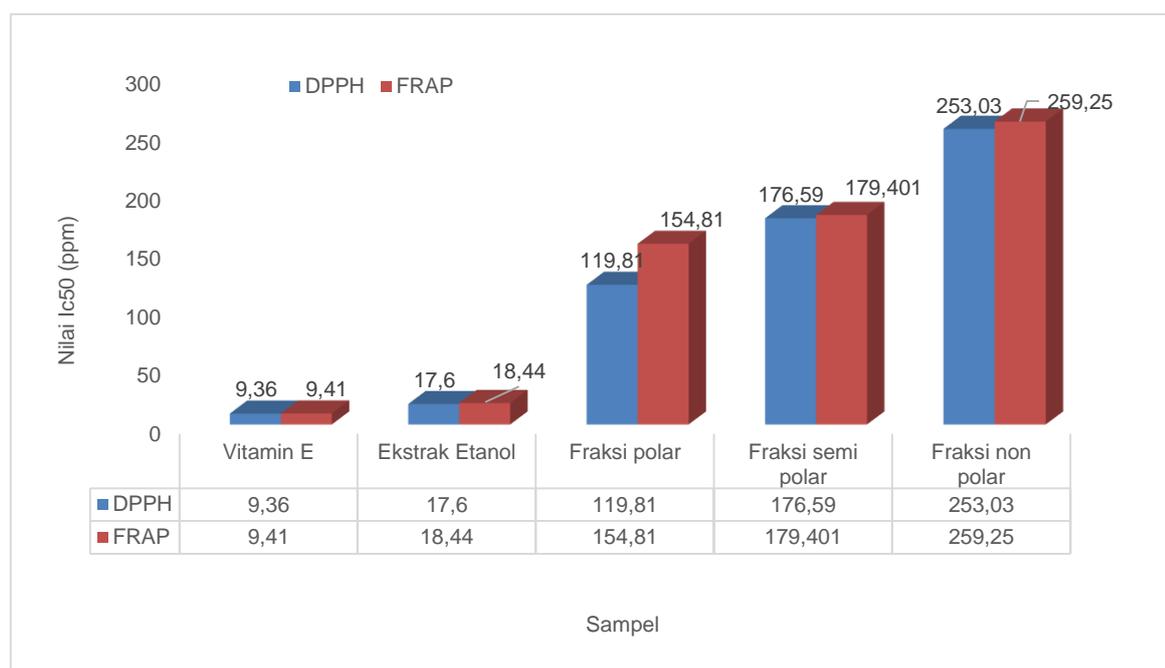
| Sampel | Randemen (%) | Warna |
|-------------------|--------------|----------------------------|
| Ekstrak etanol | 10,70 | Coklat gelap sedikit hijau |
| Fraksi polar | 0,083 | Hijau kecoklatan |
| Fraksi semi polar | 0,076 | Hijau kecoklatan |
| Fraksi non polar | 0,102 | Coklat sedikit kuning |

Uji skrining fitokimia menggunakan berbagai macam pereaksi semprot untuk mengetahui kandungan secara kualitatif isi kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol dan tiga fraksi daun mangrove kacangan [17]. Uji yang dilakukan meliputi uji flavonoid, tanin, alkaloid dan triterpenoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh [18] ekstrak etanol daun mangrove kacangan (*R. Apiculata*) mengandung senyawa

tanin, flavonoid, dan terpenoid. Hasil uji fitokimia pada tabel 2 menunjukkan bahwa komponen flavonoid dan tanin terdapat pada ekstrak etanol dan tiga fraksi (polar, semi polar dan non polar). Komponen senyawa tanin hanya terdapat pada ekstrak etanol. Hasil uji fitokimia pada tabel 2 sejalan jika dibandingkan dengan data fitokimia yang telah dilakukan [18].

Tabel 2. Hasil Pengamatan Uji Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol dan Tiga Fraksi Daun *Rhizophora apiculata*

| Sampel | Hasil skrining fitokimia | | | |
|-------------------|--------------------------|-------|----------|-----------|
| | Flavonoid | Tanin | Alkaloid | Terpenoid |
| Ekstrak etanol | + | + | - | + |
| Fraksi polar | + | + | - | - |
| Fraksi semi polar | + | + | - | - |
| Fraksi non polar | + | + | - | - |



Gambar 3. Hasil nilai IC₅₀ (ppm) Ekstrak Etanol dan Tiga Fraksi Daun Mangrove Kacangan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan tiga fraksi daun mangrove kacangan menggunakan metode DPPH dan FRAP. Pegujian aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi, nilai IC₅₀ dapat ditetapkan dengan menggunakan persamaan regresi linier $Y = bx + a$. Prinsip kerja metode DPPH adalah berdasarkan kemampuan DPPH untuk menerima atom hidrogen yang didonorkan oleh antioksidan. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning seiring penambahan antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan. Penelitian antioksidan dengan panjang gelombang 516,1 nm menggunakan etanol absolut dan kontrol positif vitamin E. DPPH mudah larut dalam pelarut polar, seperti air, metanol,

dan etanol. Pemilihan etanol dalam penelitian ini karena etanol lebih baik kelarutannya pada DPPH, meskipun metanol memiliki polaritas lebih tinggi. Hal ini berdasarkan penelitian [19] menyatakan bahwa, etanol lebih presisi dan dapat menghasilkan persen inhibisi lebih tinggi dari metanol, dibuktikan dari perhitungan IC₅₀ antioksidan vitamin E terhadap radikal DPPH pada pelarut etanol dan metanol adalah 29,33 µg/mL dan 40,30 µg/mL. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH memiliki nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol, fraksi polar, fraksi semi polar, dan fraksi semi polar sebesar 17,60; 119,81; 176,59; dan 253,03 ppm. Hasil yang diperoleh cukup bagus jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh [9] yang meneliti aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol kulit batang mangrove kacangan (*Rhizophora apiculata*) yang dilakukan dengan metode DPPH dengan hasil IC₅₀

ekstrak metanol, etil asetat dan nheksan sebesar 3,31; 137,00 dan 166,67 ppm.

Prinsip kerja metode FRAP dapat menentukan kandungan total antioksidan dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan mereduksi ion Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} -TPTZ sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogkan dengan kemampuan mereduksi dari sampel tersebut semakin banyak konsentrasi Fe^{3+} -TPTZ yang direduksi oleh sampel menjadi Fe^{2+} -TPTZ, maka aktivitas antioksidan dari sampel juga semakin besar [20]. Metode FRAP memiliki hasil IC_{50} pada ekstrak etanol, fraksi polar, fraksi semi polar, dan fraksi polar sebesar 18,44; 154,81; 179,40; dan 259,25 ppm.

Dapat dilihat dari gambar 3 hasil IC_{50} menggunakan metode DPPH dan FRAP yang didapat ekstrak etanol tumbuhan mangrove kacang memiliki aktivitas antioksidan kuat yang dilihat dari nilai $IC_{50} < 50$ ppm sedangkan fraksi non polar, semi polar dan polar memiliki aktivitas antioksidan yang sedang sampai lemah. Bahriul [21] menyatakan bahwa nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm mempunyai aktivitas antioksidan tergolong kuat, 50-100 ppm sedang, 150-200 ppm lemah dan lebih dari 200 ppm sangat lemah.

Uji normalitas menurut Shapiro-Wilk data yang didapatkan signifikan, ini menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen. Data dapat dilakukan dengan uji *T-test* dan uji ANOVA (one way anova). Data aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan FRAP dianalisis secara statistik ANOVA satu arah dengan metode Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan bermakna antara vitamin E (kontrol positif) dengan ekstrak etanol dan fraksi polar, semi polar, dan non polar.

Tabel 3. Hasil uji ANOVA metode Tukey HSD

| Sampel | Sig. (DPPH) | Sig. (FRAP) |
|--------------------------|-------------|-------------|
| Vitamin E Ekstrak etanol | 0,899 | 0,295 |
| Polar | 0,000 | 0,000 |
| Semi polar | 0,000 | 0,000 |
| Non polar | 0,000 | 0,000 |

Hasil pengolahan data secara statistik pada tabel 3 menunjukkan bahwa pada aktivitas antioksidan metode DPPH tidak terdapat perbedaan nilai yang signifikan antara vitamin E dengan ekstrak etanol tetapi menunjukkan adanya perbedaan nilai yang signifikan antara vitamin E dengan fraksi polar, semi polar dan non polar. Pada aktivitas antioksidan metode FRAP tidak terdapat perbedaan nilai yang signifikan antara vitamin E dengan ekstrak etanol

tetapi menunjukkan adanya perbedaan nilai yang signifikan antara vitamin E dengan fraksi polar, semi polar dan non polar. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangrove memiliki potensi sebagai antioksidan.

Nilai IC_{50} metode DPPH dan FRAP selanjutnya diuji statistik yang menggunakan *paired T-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan nilai IC_{50} metode DPPH dan FRAP. Hasil uji *paired* menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,063 ($p > 0,05$) yang artinya tidak ada perbedaan yang signifikan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan metode DPPH dan FRAP. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan [22] terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Curcubitaceae* yang membandingkan jenis *Cucumis saliva*, *Cucurbita moschata*, dan *Sechium edule*.

Nilai IC_{50} metode DPPH dan FRAP selanjutnya diuji statistik yang menggunakan *paired T-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan nilai IC_{50} metode DPPH dan FRAP. Hasil uji *paired T-test* menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,063 ($p < 0,05$) yang artinya tidak ada perbedaan yang signifikan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan metode DPPH dan FRAP. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan [22] terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Curcubitaceae* yang membandingkan jenis *Cucumis saliva*, *Cucurbita moschata*, dan *Sechium edule*.

■ Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) lebih potensial dibandingkan dengan ketiga fraksi (polar, semi polar dan non polar).
2. Tidak ada perbedaan yang signifikan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan metode DPPH dan FRAP.

■ Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Rektor dan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah mensupport penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Haryoto dan Priyanto, 2018, *Potensi Buah Salak Sebagai Suplemen Obat dan Pangan*, Muhammadiyah University Press, Pp.107
- [2] Saha M. R, Hasan S. M. R, Akter R, Hossain M.M, Alam M. S, Alam M. A, Mazumder M. E. H., 2008, In Vitro free Radical Scavenging Activity of Methanol Extract of the Leaves of *Mimosa pudica* Linn. *Bangladesh Journal of Veteriner Medicine* 6(2):197-200
- [3] Prasad N. P. Yang, B. Dong, X. Jiang G. Zhang, H. Xie H. Jiang Y., 2009, Flavonoid Contents and Antioxidant Activities from *Cinnamomum* sp. *Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 627-632.
- [4] World Health Organization, 2018, Epidemiology and Prevention of Cardiovascular in Elderly, terdapat di://www.who.int/cardiovascular_diseases/guidelines/PocketGL.ENGLISH.AFRDE.rev1.pdf, [diakses pada 12 maret 2018].
- [5] Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. dan Taniguchi, H., 2002, Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agricultur and Food Chemistry*, 50(7), 2161-2168.
- [6] Abidin, N. A. Z. Halim N. A. H. and Ropisah, 2013, Basic Study of Chemical Constituents in *R. apiculata* Species, *The Open Conference Proceedings Journal*, 4(Suppl-2, M7) 27-28. Faculty of Applied Science, Universiti Teknologi MARA Negeri Sembilan, Ka. Malaysia
- [7] Babuselvam, M., K. Kathiresan, S. Ravikumar, M. Uthiraselvam, dan E. Rajabudeen., 2012, Scientific Evaluation of Aqueous Extracts of Fresh and Dried Leaves from *Rhizophora apiculata* Lamk (Rhizophoraceae) in Rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6 (11): 814-817
- [8] Dimitrios B., 2006, Sources of natural phenolic antioxidants, *Trends in Food Science and Technology*, 17: 505-512
- [9] Abdullah, 2011, Potensi Bakau *Rhizophora apiculata* Sebagai Inhibitor Tirosinase dan Antioksidan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [10] Rahim A, Rocca E, Steinmetz J, Kassim M, Ibrahim M, Osman H., 2008, Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts, *Journal of Food Chemistry* 107: 200-207.
- [11] Setha B., F.F., Gasperczs A.P.S., Idris S., Rahman dan Mailoa M.N., 2013, Potential of Seaweed *Padina* Sp. as a Source of Antioxidant, *International Journal of Scientific and Technology Research.*, 3(6), pp. 221-224.
- [12] Venkata Kothagorla RR., Raghana R., 2013, Molecular characterization and its antioxidant activity of a newly isolated *Streptomyces coelicoflavus* BC 01 from mangrove soil. *Journal of Young Pharmacists*, 121-126.
- [13] Kumar S., Sandhir R., Ojha S., 2014, Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves, *BMC Research Notes*, 7(560), pp. 1-9.
- [14] Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*, Yogyakarta: Deepublish.
- [15] Rajashree K.V., Kavita M.S., Rasika T.C., Swati D. and Deshpande N.R., 2012, Preliminary Phytochemical Analysis of *Polyalthia longifolia* Seeds, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (1), 450-451.
- [16] Maro, JP, Alimuddin, A. H., dan Harlia, 2015, Aktivitas Antioksidan Hasil Kromatografi Vakum Cair Fraksi Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaurea hookeri*), *JKK*, 4 (4):35- 40, ISSN 2303-1077.
- [17] Harbone JB., 2006, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terjemahan K. Padmawina Edisi II. Bandung: ITB Press.
- [18] Wahyuni, Wulan Tri, Darusman Latifah K., dan Surya Nurzakiah Kahfi, 2015, Potency of *Rhizophora* spp. Extract as Antioxidant and Inhibitor of Acetylcholinesterase, *Procedia Chemistry*, Indonesia.
- [19] Marinova G. and Batchvarov V., 2011, Evaluation of the Methods of Determination of Free Radical Scavenging by DPPH, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17 (1), 11-24.
- [20] Halvorsen, B. L., K. Holte., M. C. W. Myhrstad., 2002, A systematic Screening of total antioxidant in Dietaeay Plants, *J. Nutrition*, 135: 461 - 471.
- [21] Bahriul P., Rahman N, Diah AWM., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil, *Jurnal Akademia Kimi.*, 3(3): 143-149.
- [22] Darmawati A., 2014, Kajian Antioksidan Ekstrak Daun Lima Spesies Dari Famili Cucurbitaceae Dengan Metode FRAP dan DPPH, ITB.