

POTENSI ANTIOKSIDAN DAN SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK DAUN MANGROVE *Rhizophora mucronata*, PILANG PROBOLINGGO

Rarasrum Dyah Kasitowati^{a,*}, Ade Yamindago^a, dan Mila Safitri^b

^aProgram Studi Ilmu Kelautan, FPIK, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

^bFakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

*Corresponding author: raraskasitowati@ub.ac.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beserta skrining fitokimia ekstrak daun *R. mucronata*. Daun *R. mucronata* diperoleh dari Pilang, Probolinggo. Ekstraksi daun mangrove menggunakan tiga pelarut dengan polaritas berbeda (Metanol, Etil asetat, dan heksan). Aktivitas antioksidan ditentukan melalui metode *Diphenyl picrylhydrazil* (DPPH) dalam empat konsentrasi yang berbeda (31,25; 62,25; 125; dan 250 ppm). Hasil analisis antioksidan mangrove *R. mucronata* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi (160,42 µg / ml) dibandingkan ekstrak metanol (-117,49 µg / ml) dan ekstrak heksan (327,61 µg / ml). Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengandung 1195 µg / ml flavonoid, 124,44 µg / ml alkaloid dan 576,64 µg / ml tanin. Sedangkan etil dan ekstrak heksan mengandung alkaloid (44,91 µg / ml dan 41,49 µg / ml) dan tanin (84,84 µg / ml dan 67,30 µg / ml).

Kata Kunci: DPPH, fitokimia, mangrove, pelarut organik

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antioxidant activities along with phytochemical screening of *R. mucronata* leaf extracts. *R. mucronata* leaves were collected from Pilang, Probolinggo. The extraction of mangrove leaves used three different solvents with different polarity (Methanol, Ethyl acetate, and Hexane). The antioxidant activities were determined by the Diphenyl picrylhydrazil (DPPH) method in four different concentrations (31,25; 62,25; 125; and 250 ppm). The antioxidant analysis of mangrove *R. mucronata* showed that the ethyl acetate extract had the highest antioxidant activity (160,42 µg/ml) than the methanol (-117,49 µg/ml) and the hexane (327,61 µg/ml) extracts. The phytochemical screening showed that the methanol extract contained 1195 µg/ml of flavonoid, 124,44 µg/ml of alkaloid and 576,64 µg/ml of tannin. Meanwhile the ethyl and the hexane extract contained alkaloid (44,91 µg/ml and 41,49 µg/ml) and tannin (84,84 µg/ml and 67,30 µg/ml).

Keywords: DPPH, mangrove, phytochemical, organic solvent

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif dan menyebabkan penyakit degeneratif pada tubuh. Pada Tahun 2018, kematian yang disebabkan oleh penyakit degeneratif diprediksi akan meningkat hingga 20% [1]. Radikal bebas dapat bersumber dari dalam (sisa metabolisme tubuh) maupun dari luar tubuh (sinar UV, polutan, dll) [2]. Upaya untuk menangkal radikal bebas yaitu menggunakan senyawa antioksidan. Ada dua jenis antioksidan yaitu dari bahan alami dan sintetik. Antioksidan alami diperoleh dari

ekstrak bahan alami, sedangkan yang sintetik berasal dari hasil sintesis kimia.

Rhizophora mucronata merupakan sumber daya hayati yang melimpah di wilayah perairan Pilang, Kota Probolinggo. Mangrove ini umum dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar untuk diolah menjadi bahan makanan seperti kopi dan tepung. *R. mucronata* pada bidang medis berpotensi sebagai obat penyakit beri-beri dan haematoma (kulit batang); hepatitis (kulit batang, bunga, daun, akar); borok (kulit batang) [4]. Eksplorasi kandungan kimia tumbuhan mangrove khususnya pada bagian daun sangat

diperlukan untuk menemukan potensi dan informasi baru bagi masyarakat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan dan kandungan senyawa kimia aktif yang terkandung pada ekstrak daun *R. mucronata* dengan pelarut yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel daun *R. mucronata* diambil dari perairan Pilang, Kota Probolinggo. Daun *R. mucronata* diambil dari pohon dengan kisaran tinggi 3 m. Panjang dan diameter daun yang diambil sebagai sampel berkisar 8,50-16 cm dan 5-10 cm berwarna hijau dengan panjang ganggang daun berkisar antara 2,50-5,50 cm.



Gambar 1. Daun *R. mucronata*

Preparasi sampel

Sampel daun *R. mucronata* diambil kemudian dicuci bersih dengan air, lalu dilap dengan tisu hingga kering kemudian dikeringkan secara alami selama 3 hari (hingga berat kering konstan) dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sampel serbuk ditimbang sebanyak 200 g dan diekstraksi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut methanol, etil asetat dan n-heksan yang dilakukan selama 3 x 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kasar.

Uji aktivitas antioksidan

Tahapan uji aktivitas antioksidan dilakukan sebagai berikut [3]:

1. Pembuatan larutan DPPH 0,50 mM

Larutan DPPH disiapkan pada konsentrasi 0,50 mM, yaitu dengan menimbang 23,04 mg DPPH dan dilarutkan dengan 117 ml metanol di dalam tube.

2. Pembuatan larutan stok ekstrak daun *R. mucronata*

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg dari masing-masing ekstrak kasar, kemudian dilarutkan dengan menggunakan metanol. Volume akhir dicukupkan metanol sampai 50 ml dalam beaker glass.

3. Pembuatan larutan stok vitamin C murni

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg vitamin C murni dan dilarutkan dengan metanol hingga mencapai volume 50 ml dalam beaker glass.

4. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

a) Pengukuran serapan blanko DPPH

Larutan DPPH 0,50 mM diambil sebanyak sebanyak 1 ml dan ditambahkan metanol hingga 5 ml dalam *cuvette*. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

b) Pengukuran aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH dengan sampel

Ekstrak mula-mula dibuat pada konsentrasi 1000 ppm, dilanjutkan untuk penentuan konsentrasi larutan uji aktivitas antioksidan pada seri konsentrasi seperempat dan selanjutnya separuh dari konsentrasi larutan induk yaitu sebesar 250; 125; 62,50 dan 31,25 ppm. Masing-masing empat konsentrasi uji tersebut diambil sampel sebanyak 4 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,50 mM. Langkah selanjutnya sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH, semua sampel dibuat triplo (tiga kali pengulangan). Setelah semua sampel telah diinkubasi, ekstrak dianalisa

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

c) Pengukuran aktivitas pengikat radikal bebas DPPH sebagai larutan pembanding

Larutan pembanding dibuat dari vitamin C yang dilarutkan dengan pelarut metanol masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, dan 8 ppm dengan cara mengambil masing-masing 10 µl, 20 µl, 40 µl, dan 80 µl dari larutan stok vitamin C murni 1000 ppm pada tabung reaksi. Vitamin C yang digunakan adalah vitamin C murni. Di mana vitamin C jenis ini merupakan antioksidan yang dapat mencegah oksidasi dan merupakan nutrisi serta vitamin yang larut dalam air dan penting untuk menjaga kesehatan.

Persentase pengikatan radikal bebas dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100$$

Larutan blanko yang digunakan adalah methanol dan DPPH. Potensi antioksidan diukur dari nilai IC_{50} (50% *Inhibitory Concentration*) yang diperoleh melalui persamaan regresi linear. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y, dan akan didapat nilai x sebagai nilai IC_{50} .

Uji fitokimia

Setiap perlakuan uji fitokimia mula-mula menimbang ekstrak kasar daun sebanyak 5 mg gram, kemudian dilarutkan dengan tiga pelarut berbeda (metanol/etil asetat/n-heksan) sebanyak 5 ml di dalam beaker glass [5].

Perlakuan uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan metode kualitatif dengan tes perubahan warna dan kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

a) Uji Senyawa Alkaloid

Larutan sampel ditambahkan sebanyak 1 ml pereaksi dragendrof, amati

perubahannya. Bila terbentuk warna jingga sampai merah coklat menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Jika didapat hasil positif maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif.

b) Uji senyawa flavonoid

Larutan sampel yang telah disiapkan ditambahkan sebanyak 1 ml HCl pekat, kemudian ditambahkan 0,20 gram bubuk Mg. Bila terbentuk warna kuning, jingga atau merah tua (magenta) menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Jika didapat hasil positif maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif.

c) Uji senyawa saponin

Larutan sampel yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam botol vial, ditambahkan 1 ml air panas, kemudian dikocok selama 15 menit, lalu ditambahkan 1 ml HCl 2N. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih putih stabil.

d) Uji senyawa tanin

Larutan sampel yang telah disiapkan ditambahkan sebanyak 1 ml larutan $FeCl_3$ 1%, kemudian amati perubahannya. Bila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman mengindikasikan adanya senyawa tanin. Jika didapat hasil positif maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 2. Hasil Ekstrak Daun *R. mucronata*

Hasil ekstraksi pada sampel dengan menggunakan pelarut akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berfungsi untuk mengetahui nilai komponen senyawa kimia aktif yang terkandung di dalam sampel. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat sampel yang digunakan) dikalikan 100% [6]. ekstrak kasar methanol memiliki nilai rendemen

35,30% (70,66 g), ekstrak kasar etil asetat 13,60% (13,62 g), dan ekstrak kasar n-heksan 1,2% (1,20 g) (Gambar 2).

Uji fitokimia

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun *R. mucronata*

No	Senyawa Kimia Aktif	Daun		Karakteristik
		Kualitatif	Kuantitatif (ppm)	
1	Alkaloid	Ada	123,77	Terbentuk warna jingga sampai merah coklat
2	Flavonoid	Ada	1195,00	Terbentuk warna kuning, jingga atau merah
3	Saponin	Tidak ada	-	Terbentuknya busa
4	Tanin	Ada	576,70	Terbentuk warna hijau atau biru kehitaman

*pengenceran 1:8

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

No	Senyawa Kimia Aktif	Daun		Karakteristik
		Kualitatif	Kuantitatif (ppm)	
1	Alkaloid	Ada	44,91	Terbentuk warna jingga sampai merah coklat
2	Flavonoid	Tidak ada	-	Terbentuk warna kuning, jingga atau merah
3	Saponin	Tidak ada	-	Terbentuknya busa
4	Tanin	Ada	84,84	Terbentuk warna hijau atau biru kehitaman

Hasil uji fitokimia terhadap senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun *R. mucronata* menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Berikut tabel hasil uji fitokimia disajikan pada (Tabel 1, 2 dan 3).

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimi Ekstrak N-heksan Daun *R. mucronata*

No	Senyawa Kimia Aktif	Daun		Karakteristik
		Kualitatif	Kuantitatif (ppm)	
1	Alkaloid	Ada	41,49	Terbentuk warna jingga sampai merah coklat
2	Flavonoid	Tidak ada	-	Terbentuk warna kuning, jingga atau merah
3	Saponin	Tidak ada	-	Terbentuknya busa
4	Tanin	Ada	67,30	Terbentuk warna hijau atau biru kehitaman

Berdasarkan penelitian ini hasil uji fitokimia kandungan senyawa ekstrak daun dari tiga pelarut berbeda mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin dengan kandungan senyawa terbanyak terdapat pada ekstrak metanol daun.

Uji aktivitas antioksidan

Adanya aktivitas antioksidan ditandai dengan berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning, dengan warna awal larutan DPPH adalah ungu gelap. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *R. mucronata* menunjukkan perubahan warna kuning pada konsentrasi 62,50; 125; dan 250 ppm. Pada ekstrak etil asetat perubahan warna kuning terjadi pada konsentrasi 250 ppm, sedangkan pada ekstrak n-heksan hanya terja-

Tabel 4. Nilai IC₅₀ dan Klasifikasi Sifat Antioksidan

Ekstrak Daun <i>R. mucronata</i>					
Pelarut	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)	Sifat Antioksidan
Metanol	31,25	0,415	49,57	-117,49	Tidak terdefinisi
	62,5	0,092	88,85		
	125	0,077	90,68		
	250	0,081	90,19		
Etil asetat	31,25	0,977	-18,77	160,42	Lemah
	62,5	0,842	-2,35		
	125	0,404	50,91		
	250	0,112	86,38		
N-heksan	31,25	1,014	-31,46	327,61	Sangat Lemah
	62,5	0,930	-31,25		
	125	0,626	-16,21		
	250	0,563	30,20		
Blanko		0,822			

-di pemudaran warna ungu pada semua konsentrasi. Pada kontrol positif vitamin C terjadi perubahan warna kuning pada semua konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm

Perhitungan nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun diperoleh dari persamaan regresi yaitu -117,498 µg/ml; ekstrak etil asetat yaitu 160,417 µg/ml; ekstrak n-heksan 327,611 µg/ml. Ekstrak etil asetat dan n-heksan *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih lemah dibanding dengan kontrol positif vitamin C dengan nilai IC₅₀ 4,419 µg/ml.

Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan n-heksan memiliki sifat antioksidan yang sangat lemah, sedangkan ekstrak methanol tidak terdefinisi (Tabel 4). Berbeda dengan hasil penelitian yang menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak methanol daun *R. mucronata* sebesar 4,90 ppm dengan sifat antioksidan yang sangat kuat [6]. Hal tersebut diduga terjadi karena beberapa hal seperti metode dan jenis pelarut. Penggunaan metode dan pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi hasil ekstraksi [7]. Selain itu, perbandingan jumlah ekstrak kasar dan larutan DPPH yang digunakan juga akan mempengaruhi hasil uji antioksidan. Kondisi alam asal sampel juga akan berpengaruh

terhadap aktivitas biologis yang dimiliki sampel. Sampel yang berasal dari daerah ekstrem biasanya akan menghasilkan metabolit sekunder yang lebih banyak sehingga diduga akan memiliki aktivitas biologis yang lebih bagus.

Walaupun tidak terdefinisi dan tergolong sangat lemah, tetapi ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksan daun *R. mucronata* memiliki potensi sebagai antioksidan karena di dalamnya terdapat beberapa senyawa antioksidan. Telah diketahui bahwa senyawa fenol seperti tanin pada tumbuhan mengandung sifat antioksidan [8].

KESIMPULAN

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat dan n-heksan *R. mucronata* menunjukkan aktivitas antioksidan namun tergolong lemah dan sangat lemah pada konsentrasi IC₅₀ sebesar 160,417 ppm dan 327,611 ppm.

Ekstrak daun *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Hasil pengujian fitokimia secara kuantitatif mengandung sejumlah senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin dari yang terbesar sampai terkecil secara berturut-turut yaitu ekstrak

metanol sebesar 1895,47 ppm, etil asetat sebesar 129,75 ppm dan n-heksan sebesar 108,79 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. Tristantini, A. Ismawati, B. T. Pradana, J. G. Jonathan. "Penguujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L*)". Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. 2016.
- [2] O. I. Aruoma. "Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease". *JAOCs* **75** (2): 199-212. 1998.
- [3] I. J. Putri, Fauziyah, dan Elfita. "Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Asal Pesisir Banyuasin Sumatera Selatan Dengan Metode DPPH". *Maspari J.* **5** (1): 16-21. 2013.
- [4] H. Purnobasuki, H. "Tinjauan Perspektif Hutan Mangrove". Univ. Airlangga Press: Surabaya. 2005.
- [5] Sapri, R. Pebrianti, dan M. Faizal. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tumbuhan Singgah Perempuan (Loranthus sp) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)". Prosiding Seminar Nasional Kimia : 203-210. Akademi Farmasi dan BPOM Samarinda. 2013.
- [6] W. T. Wahyuni, L. K. Darusman, dan N. K. Surya. "Potency of Rhizopora spp. Extracts as Antioxidant and Inhibitor of Acetylcholinesterase". *Procedia Chemistry* **16**: 681-686. 2015.
- [7] P. Moteriyah, A. Dalsaniya, S. Chanda. "Antioxidant and Antimicrobial Activity of a Mangrove Plants *Avicennia marina* (Forsk.)". *J. Coastal Life Medecine* **3** (9): 713-717. 2015.
- [8] E. Suryanto dan F. Wehantouw. "Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis* F.)". *Chemistry Program* **2** (1) : 1-7. 2009.