

**EFEKTIVITAS WAKTU MASERASI TERHADAP POTENSI ANTIOKSIDAN  
MENGUNAKAN METODE DPPH DARI EKSTRAK DAUN MANGROVE  
*Sonneratia Caseolaris* DARI PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN  
BLITAR, JAWA TIMUR**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**DANIEL NIKO**

**NIM.155080601111033**



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN  
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**EFEKTIVITAS WAKTU MASERASI TERHADAP POTENSI ANTIOKSIDAN  
MENGUNAKAN METODE DPPH DARI EKSTRAK DAUN MANGROVE  
*Sonneratia caseolaris* DARI PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN  
BLITAR, JAWA TIMUR**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar  
Sarjana Kelautan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

**Oleh:**

**DANIEL NIKO**

**NIM.155080601111033**



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN  
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

SKRIPSI

EFEKTIVITAS WAKTU MASERASI TERHADAP POTENSI ANTIOKSIDAN  
MENGUNAKAN METODE DPPH DARI EKSTRAK DAUN MANGROVE  
*Sonneratia caseolaris* DARI PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN  
BLITAR, JAWA TIMUR

Oleh :

DANIEL NIKO  
NIM.155080601111033

telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 25 Juni 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1



(Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D)  
NIP.19740812 200312 2 001  
Tanggal: 15 JUL 2019

Menyetujui,

Dosen pembimbing 2



(Muhammad Arif Rahman, S.Pi., M.AppSc)  
NIP. 2017038507311001  
Tanggal: 15 JUL 2019

Mengetahui,

Ketua Jurusan Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan dan kelautan



Dr. Ehsan Abu Bakar Sambah, S.PI., MT  
NIP. 19730717 200502 1 004  
Tanggal: 15 JUL 2019

**IDENTITAS TIM PENGUJI**

Judul :Efektivitas Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Dpph Dari Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia caseolaris* Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur

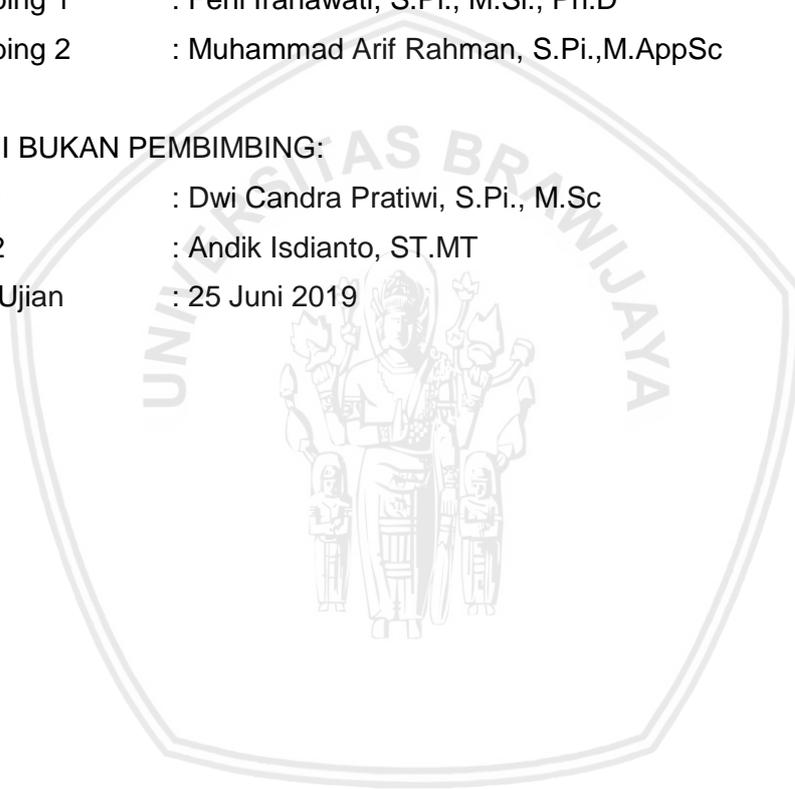
Nama Mahasiswa : Daniel Niko  
NIM : 155080601111033  
Program Studi : Ilmu Kelautan

**PENGUJI PEMBIMBING:**

Pembimbing 1 : Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D  
Pembimbing 2 : Muhammad Arif Rahman, S.Pi.,M.AppSc

**PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:**

Penguji 1 : Dwi Candra Pratiwi, S.Pi., M.Sc  
Penguji 2 : Andik Isdianto, ST.MT  
Tanggal Ujian : 25 Juni 2019



## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu memperlancar dalam penyusunan hasil penelitian skripsi sehingga terselesaikannya laporan ini, diantaranya:

1. Tuhan Yesus atas berkat dan kasihnya sehingga laporan ini telah terselesaikan dengan baik.
2. Kedua orang tua, adikku dan segenap keluarga yang banyak memberi dukungan, doa serta motivasi.
3. Ibu Feni Iranawati S.Pi., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing 1 dan Bapak Muhammad Arif Rahman, S.Pi., M.AppSc. selaku dosen pembimbing 2
4. Tim antioksidan Kimo, Yoan, Dhanar, Irul caza dan Muhamad jhon fadila
5. Teman - teman tim penelitian Mexma 2019
6. Dara Novalia Armytasari yang selalu mendukung dan memberi semangat
7. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Malang, Juni 2019

Penulis

## RINGKASAN

**Daniel Niko.** Efektivitas Waktu Maserasi Terhadap Potensi Antioksidan Menggunakan Metode Dpph Dari Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia caseolaris* Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur (di bawah bimbingan **Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D** dan **Muhammad Arif Rahman, S.Pi., M.AppSc**).

---

Kesehatan merupakan hal yang penting dalam kehidupan manusia. Berbagai penyakit muncul karena banyak senyawa berbahaya yang masuk ke dalam tubuh. Salah satu penyakit yang sering muncul yaitu penyakit degeneratif. Penyakit ini disebabkan karena aktifitas senyawa radikal bebas yang ada serta masuk di dalam tubuh. Untuk mengurangi bahkan menghambat pertumbuhan radikal bebas diperlukan senyawa antioksidan yang bisa ditemukan di berbagai macam tumbuhan salah satunya tumbuhan mangrove *S.caseolaris*. Dalam penelitian sebelumnya yang sudah pernah dilakukan diketahui bahwa mangrove *S.caseolaris* memiliki potensi antioksidan.

Penelitian ini bertujuan melihat seberapa efektif hasil senyawa antioksidan dari waktu maserasi yang berbeda yaitu 24 jam, 48 jam dan 72 jam tanpa remaserasi dan juga untuk melihat konsentrasi yang bagus untuk dilakukan uji antioksidan dari daun *S.caseolaris*. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH digunakan sebagai radikal bebas dan sedangkan sebagai kontrol positif dengan menggunakan asam askorbat. Hasil dari pengujian ini didapatkan nilai *inhibitory concentration* 50% (IC<sub>50</sub>) yang berarti besaran konsentrasi yang diperlukan dari hasil ekstrak daun mangrove *S.caseolaris* yang berasal dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar Jawa Timur untuk menghambat 50 % radikal bebas yang diuji. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Maret 2019.

Hasil yang didapatkan bahwa lama waktu maserasi, konsentrasi serta interaksi antara lama waktu maserasi dengan konsentrasi sangat berpengaruh terhadap hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun *S.caseolaris*. Berdasarkan hasil yang didapatkan lama waktu maserasi yang paling efektif adalah lama waktu maserasi 24 jam dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 9.973 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat dan konsentrasi yang paling berpengaruh yaitu pada konsentrasi 40 ppm.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kasih dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul **“Efektivitas Waktu Maserasi Terhadap Potensi Antioksidan Menggunakan Metode Dpph Dari Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia caseolaris* Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur”**. Penyusun sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka dengan kerendahan hati dan demi kesempurnaan hasil penelitian ini, penyusun mohon kritik dan saran. Penulis berharap semoga penelitian ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada semua pihak dan berguna untuk kemajuan serta perkembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan dan kelautan.

Malang, Januari 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	i
KATA PENGANTAR .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan penelitian .....	4
1.4 Hipotesis .....	4
1.5 Kegunaan .....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Antioksidan .....	6
2.2 Jenis Antioksidan .....	7
2.3 Mangrove <i>S. caseolaris</i> .....	8
2.4 Radikal Bebas .....	10
2.5 Maserasi .....	11
2.6 DPPH .....	13
2.7 Faktor Yang Mempengaruhi Antioksidan Pada Tumbuhan .....	13
3. METODE PENELITIAN .....	15
3.1 Waktu dan Tempat .....	15
3.2 Alat dan Bahan .....	16
3.3 Alur Penelitian .....	17
3.4 Pengambilan Sampel .....	19
3.5 Preparasi Sampel .....	19
3.5 Pengeringan dan Penghalusan Sampel .....	19
3.6 Maserasi .....	20
3.7 Uji Aktivitas Antioksidan .....	21
3.8 Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> .....	27
3.9 Analisa Hasil .....	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	29
4.1 Hasil Ekstraksi Daun <i>S. caseolaris</i> .....	29
4.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan .....	30
4.3.1 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif .....	30
4.3.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif .....	33
4.4 Analisa Pengaruh Perbedaan Perlakuan Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun <i>S. Caseolaris</i> .....	38
5. PENUTUP .....	44
5.1 Kesimpulan .....	44
5.2 Saran .....	44

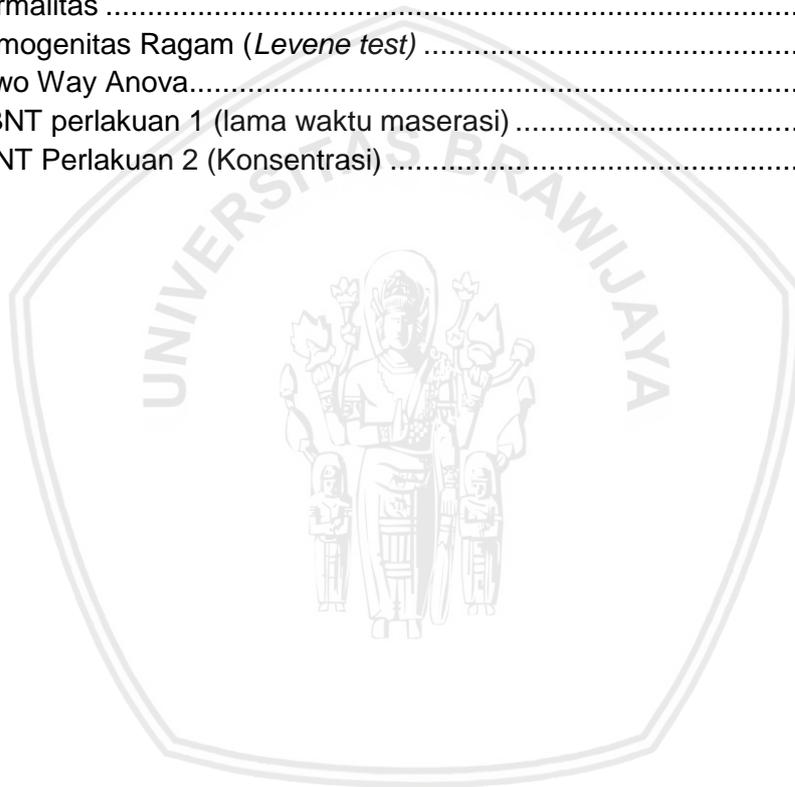


DAFTAR PUSTAKA..... 44  
LAMPIRAN ..... 49



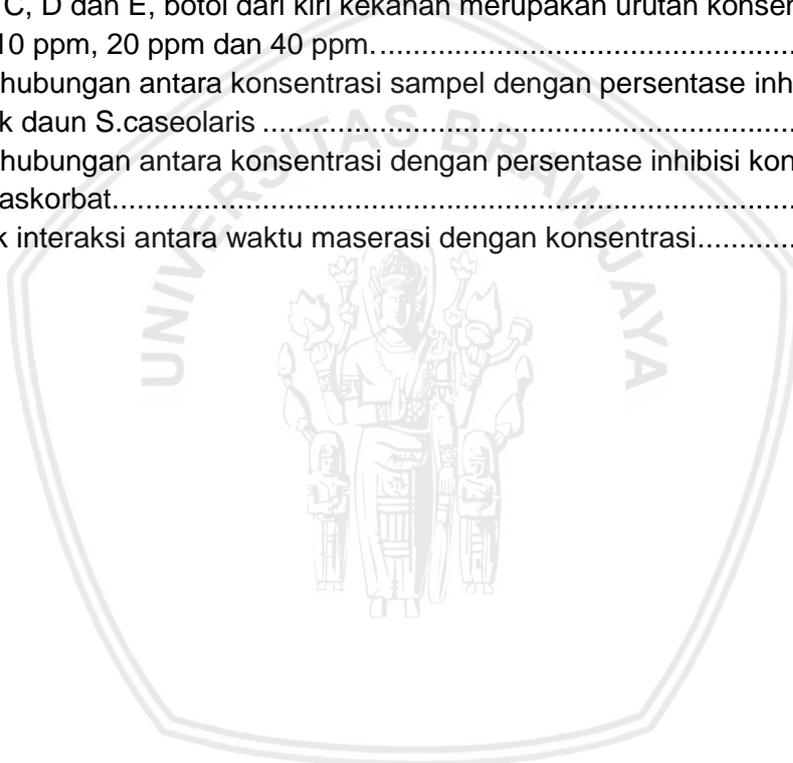
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya .....	16
2. Bahan yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya .....	17
3. Rancangan penelitian .....	25
4. Hasil persentase rendemen ekstrak .....	30
5. Nilai absorbansi, Persentase inhibisi .....	34
6. Persamaan kurva regresi dan nilai $IC_{50}$ .....	37
7. Hubungan nilai $IC_{50}$ dengan intensitas senyawa antioksidan .....	37
8. Uji Normalitas .....	39
9. Uji Homogenitas Ragam ( <i>Levene test</i> ) .....	39
10. Uji Two Way Anova .....	39
11. Uji BNT perlakuan 1 (lama waktu maserasi) .....	41
12. Uji BNT Perlakuan 2 (Konsentrasi) .....	42



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun <i>S.caseolaris</i> .....	8
2. Buah <i>S.caseolaris</i> .....	9
3. Lokasi Pengambilan Sampel.....	15
4. Alur Penelitian.....	18
5. Langkah Uji Aktivitas Antioksidan .....	22
6. Hasil Ekstraksi .....	29
7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan secara kualitatif ( A: Larutan blanko, B: Kontrol positif, C: maserasi 24 jam, D: maserasi 48 jam dan E: maserasi 72 jam). Untuk C, D dan E, botol dari kiri kekanan merupakan urutan konsentrasi 5 ppm ,10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm.....	31
8. Grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi ekstrak daun <i>S.caseolaris</i> .....	35
9. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi kontrol positif asam askorbat.....	36
10. Grafik interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi.....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Persentase Rendeman Ekstrak .....	49
2. Perhitungan DPPH dan Pengenceran Asam Askorbat.....	50
3. Pengenceran Ekstrak Sampel.....	53
4. Nilai Absorbansi Sampel, Persentase Inhibisi, Blanko dan Asam Askorbat..	55
5. Nilai Perhitungan Uji Kuantitatif Antioksidan .....	56
6. Alur Proses Ekstraksi.....	57
7. Hasil Uji HSD.....	58
8. Dokumentasi Penelitian .....	59



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat, menangkap bahkan menghentikan proses pembentukan radikal bebas yang terjadi dari proses reaksi oksidasi didalam tubuh manusia. Werdhasari (2014) menyatakan bahwa radikal bebas dalam tubuh akan memberikan dampak negatif seperti kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif, kanker dan penuaan dini. Oleh karena itu tubuh memerlukan senyawa antioksidan untuk melindungi diri dari serangan radikal bebas.

Berbagai sumber radikal bebas berasal dari endogen dan eksogen. Sumber endogen berasal dari proses dalam tubuh sedangkan eksogen dari lingkungan sekitar seperti bahan makanan, polutan, asap rokok yang masuk ke dalam tubuh manusia sehingga dapat mempercepat reaksi oksidasi (Hani dan Milanda, 2014). Jumlah radikal bebas harus diimbangi dengan jumlah antioksidan, maka diperlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh. Antioksidan dari luar bisa didapatkan dari bahan sintetis maupun dari bahan alami. Sumber antioksidan dari bahan alami dapat dimanfaatkan dari berbagai macam tumbuhan, buah-buahan dan biji-bijian.

Dalam jurnal Halidah *et al.* (2008) menjelaskan salah satu tumbuhan yang dapat berpotensi sebagai antioksidan yaitu mangrove. Mangrove adalah salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai bahan kesehatan baik untuk obat-obatan, kosmetik dan lain sebagainya. Mangrove memiliki senyawa antioksidan yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder sehingga berpotensi untuk menghasilkan senyawa antioksidan.

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan yaitu daun mangrove jenis *S. caseolaris* yang berasal dari Pantai Serang Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Hal ini dikarenakan mangrove *S.caseolaris* tumbuh secara alami dan paling dominan di daerah tersebut dan diduga adanya kegiatan manusia di area sampling akan mempengaruhi potensi antioksidan dari sampel, seperti keberadaan tambak dan kegiatan pertanian. Merujuk pada penelitian Arin, (2018) menyebutkan bahwa daun mangrove jenis *S. caseolaris* berpotensi sebagai penghasil senyawa antioksidan yang sangat kuat.

Untuk mendapatkan senyawa antioksidan dalam suatu bahan maka, proses ekstraksi merupakan hal penting yang perlu diperhatikan. Pemilihan metode ekstraksi harus tepat dan efektif untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Damanik *et al.* (2011) menjelaskan bahwa maserasi merupakan proses penarikan komponen kimia atau senyawa - senyawa yang dimiliki oleh suatu sampel dengan cara merendam sampel dengan pelarut dalam waktu tertentu dan suhu ruang sehingga senyawa akan terlarut dalam pelarut. Dalam maserasi faktor waktu sangat menentukan hasil yang didapatkan. Diantika *et al.* (2014), menjelaskan bahwa diperlukan waktu maserasi yang optimal sehingga didapatkan hasil antioksidan yang maksimal. Apabila terlalu lama waktu ekstraksi hingga melebihi waktu batas optimumnya maka hasil ekstraksinya tidak maksimal.

Metode maserasi yang dilakukan pada penelitian kali ini adalah maserasi secara langsung dalam jangka waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Metode maserasi ini berbeda dengan metode maserasi secara umum yang dilakukan yaitu secara remaserasi dengan pengulangan penambahan pelarut dengan volume yang sama terhadap sampel yang sama. Perbedaan cara maserasi pada penelitian ini untuk melihat waktu maserasi yang paling efektif dari hasil senyawa antioksidan yang didapatkan. Oleh karena itu tujuan dari

penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu maserasi yang paling efektif terhadap aktivitas antioksidan daun *S.caseolaris* dan mendapatkan waktu maserasi yang tepat sehingga menghasilkan ekstrak daun *S.caseolaris* dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Puspitasari (2017) melanjutkan proses maserasi dengan evaporasi yaitu pemisahan pelarut dengan senyawa dengan cara menguapkan pelarut dengan suhu yang sudah ditentukan sehingga hanya didapatkan ekstrak yang mengandung senyawa dari tumbuhan yang digunakan.

Nilai potensi antioksidan dapat dilihat dengan mengukur serapan atau absorbansi DPPH yang diujikan dengan sampel yang mengandung antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Songklanakarinn (2004) mengemukakan bahwa DPPH ini berperan sebagai pengganti radikal bebas yang diuji dengan sampel mengandung senyawa antioksidan. DPPH ini merupakan metode pengujian antioksidan yang paling sering digunakan. Setelah dilakukan pengujian dan DPPH mendapatkan transfer atom hydrogen dari senyawa antioksidan maka DPPH ini akan berubah menjadi non radikal dan berubah warna menjadi kuning kemudian dilakukan uji absorbansi untuk mencari nilai serapan persentase inhibisi dan  $IC_{50}$  untuk mengetahui seberapa kuat penghambatan antioksidan terhadap DPPH.

## 1.2 Rumusan Masalah

Mangrove merupakan salah satu tumbuhan yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif. Cara untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun mangrove *S.caseolaris* maka perlu dilakukan ekstraksi. Proses ekstraksi akan sangat berpengaruh terhadap jumlah senyawa bioaktif yang dihasilkan dalam sampel tersebut. Proses ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Diduga lama waktu maserasi akan berpengaruh terhadap potensi

antioksidan dari *S. Caseolaris*. Berdasarkan uraian tersebut diperoleh rumusan masalah berikut:

- Apakah lama waktu maserasi berpengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *S.caseolaris*.
- Apakah konsentrasi ekstrak daun mangrove *Sonneratia caseolaris* berpengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan
- Apakah ada interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi terhadap hasil aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *S.caseolaris*

### 1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian tentang pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan dari daun *Sonneratia caseolaris* ini adalah :

- Mengetahui pengaruh dari lama waktu maserasi terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun *S.caseolaris*.
- Mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak daun mangrove *S.caseolaris* terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan
- Mengetahui interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi

### 1.4 Hipotesis

Uji hipotesis rancangan acak lengkap (RAL) faktorial terhadap aktivitas antioksidan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hipotesis untuk faktor 1:

H0 : Perbedaan waktu maserasi tidak mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S. caseolaris*.

H1 : Perbedaan waktu maserasi mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S.caseolaris*.

## 2. Hipotesis untuk faktor 2

H0 : Konsentrasi tidak mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S.caseolaris*.

H1 : Konsentrasi mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S.caseolaris*.

## 3. Hipotesis untuk faktor 3

H0 : Tidak ada interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi.

H1 : Ada Interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi.

### 1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui potensi dari ekstrak daun mangrove *Sonneratia caseolaris* sebagai pengasil antioksidan.
2. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan *Sonneratia caseolaris* di Pesisir Pantai Serang untuk dapat dimanfaatkan lagi sebagai sumber informasi dalam penelitian berikutnya.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Antioksidan

Antioksidan berkerja dengan melakukan penghambatan proses reaksi oksidasi yang terjadi pada tubuh manusia. Rufino *et al.* (2009) mengatakan secara normal reaksi oksidasi yang terjadi dalam tubuh akan menghasilkan senyawa radikal bebas yang dapat merusak fungsi - fungsi organ. Senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga radikal bebas akan bersifat non radikal (Adawiyah, 2015). Menurut Lung dan Destiani (2015) antioksidan bekerja dengan cara menghambat proses inisiasi dan propagasi yang terjadi pada waktu reaksi oksidasi berlangsung. Antioksidan akan menghambat pembentukan radikal bebas baru yang terjadi pada saat fase inisiasi. Sedangkan pada proses propagasi antioksidan akan menghambat pengaruh radikal bebas sehingga tidak memengaruhi zat lain menjadi bersifat radikal.

Werdhasari (2014), menjelaskan bahwa sebenarnya tubuh secara alami mampu menghasilkan senyawa antioksidan seperti berbagai enzim dan vitamin. Namun dikarenakan jumlahnya yang terbatas maka diperlukan tambahan antioksidan dari luar. Sumber antioksidan dari laur tubuh dibagi menjadi sintesis dan alami. Bahan sintesis berasal dari senyawa - senyawa buatan manusia sedangkan antioksidan alami dapat dimanfaatkan dari berbagai macam tumbuhan, buah-buahan dan sayur sayuran. Antioksidan sintesis apabila sering dikonsumsi akan juga menimbulkan efek negatif terhadap tubuh karena bersifat karsinogenik ketika jumlahnya menumpuk banyak (Wulansari, 2018). Ketakutan akan adanya efek samping yang negatif dalam penggunaan antioksidan sintesis

maka diperlukan antioksidan yang berasal dari bahan alami yang tidak berbahaya bagi kesehatan apabila masuk ke dalam tubuh.

## 2.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan alami banyak ditemukan di berbagai tumbuhan seperti daun, buah, kulit, batang dan biji-bijian. Antioksidan yang dikandung oleh tanaman diperkirakan memiliki kekuatan yang sedang hingga tinggi (Khaira, 2010). Dalam pemanfaatannya antioksidan alami diyakini lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis. Antioksidan alami berasal dari senyawa hasil metabolisme sekunder dari tumbuhan. Dimtrios (2006) dalam penelitiannya mengatakan bahwa tumbuhan menyediakan antioksidan dalam bentuk vitamin c, vitamin e, karoten, fenolik dan phytate. Senyawa ini jumlahnya akan semakin banyak apabila tumbuhan tersebut mengalami metabolisme sekunder yang terus menerus terjadi.

Bahan-bahan yang berasal dari hasil sintesa reaksi kimia pasti memiliki efek yang positif dan juga efek samping terhadap penggunaannya. Antioksidan yang berasal dari sintetis sudah banyak diproduksi sebagai obat, kosmetik maupun berbagai makanan konsumsi. Katrin dan Bendra (2015) menjelaskan apabila jumlah antioksidan sintetis dalam kadar yang banyak dan menumpuk akan memberikan efek samping yang negatif terhadap tubuh karena mempunyai sifat karsinogenik. Contoh dari antioksidan sintetis yaitu *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) dan *Tertbutyl Hydroquinone* (TBHQ).

### 2.3 Mangrove *S.caseolaris*

Zipcodezoo ( 2018), mengklasifikasikan mangrove *S.caseolaris* sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Myrtales

Famili : *Sonneratiaceae*

Genus : *Sonneratia*

Spesies : *S.caseolaris*

Menurut penelitian dari Rahim dan Bakar, (2018) *S.caseolaris* hidup disekitar muara sungai. Mampu tumbuh dengan salinitas yang tinggi maupun rendah. Tumbuh hingga mencapai 20 m dengan diameter batang mencapai sekitar 50 cm. Memiliki daun tunggal berhadapan berbentuk bundar telur terbalik dan memanjang dengan ukuran 3-13 cm x 2-5 cm (Gambar 1). Memiliki siklus reproduksi 4- 5 bulan.Mampu memproduksi buah hingga 2 kg sehari, buahnya memiliki benang sari dan kelopak (Gambar 2). Pohon ini sering ditemukan tumbuh secara alami di alam. Musim berbunga terjadi pada musim kering



Gambar 1. Daun *S.caseolaris*



Gambar 2. Buah *S.caseolaris*  
(Rahim dan Bakar, 2018)

Penelitian yang dilakukan oleh Noor *et al.* (2009) mengidentifikasi bahwa ciri-ciri mangrove jenis *S.caseolaris* berbentuk pohon besar yang memiliki akar berbentuk seperti pensil yang muncul ke atas tanah. Akar jenis ini sebagai bentuk adaptasi untuk mengambil udara, karena kondisi tanah mangrove yang anoksik atau kurangnya kandungan oksigen. Mangrove ini adalah mangrove yang hidup dengan adaptasi tinggi terhadap kondisi salinitas. Daun tunggal, berhadapan, berukuran 5–13 cm, dengan pangkal bentuk biji dan ujung membulat. Memiliki tangkai daunnya yang pendek berwarna kemerahan, Bunga kuntum di ujung ranting dengan kelopak runcing, panjang 3–4,5 cm. Daun mahkota merah, memiliki benang sari yang banyak berwarna putih dan pangkal bunga berwarna kemerahan.

Mangrove jenis *S.caseolaris* sudah banyak digunakan sebagai bahan obat, kosmetik, dan bahan makanan di berbagai daerah di Indonesia. Mulyani *et al.* (2013) mengidentifikasi senyawa fitomikia yang terdapat pada mangrove *S.caseolaris* mengandung berbagai senyawa biokimia seperti fenol, alkaloid, flavonoid, glikosida, dan saponin dan juga vitamin A, B1, B2 dan Vitamin C. Senyawa – senyawa tersebut dihasilkan dari aktivitas metabolisme sekunder dari mangrove *S.caseolaris* untuk mempertahankan hidupnya dari ancaman lingkungan.

## 2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih bahkan sekelompok atom yang tidak berpasangan yang bersifat tidak stabil. Khaira, (2010) mengatakan bahwa atom pada radikal bebas yang tidak berpasangan akan menimbulkan reaksi yang sangat reaktif karena mencari pasangan elektron di jaringan tubuh yang lain, sehingga berbahaya teradap jaringan tubuh apabila tidak segera diinaktivasi karena berakibat merusak terhadap molekul sel lain yang elektronnya diambil oleh radikal bebas. Menurut Masrifah *et al* (2017) akibat dari pengambilan elektron oleh radikal bebas maka menimbulkan rekasi berantai sehingga terbentuk radikal bebas yang semakin banyak. Radikal bebas dapat berfungsi menjadi pengoksidasi maupun pereduksi, sehingga radikal bebas dapat merusak komponen - komponen sel tubuh. Radikal bebas dapat merusak susunan lipid, karbohidrat, dna, asam nukleat dan menimbulkan macam penyakit.

Proses pembentukan radikal bebas bisa berasal dari sumber endogen maupun eksogen. Sumber endogen berasal dari proses reaksi oksidasi yang berlangsung dalam tubuh. Utami dan Orbaiyah (2013) memaparkan beberapa fase yang terjadi pada proses reaksi oksidasi. Pertama fase inisiasi dimana radikal bebas terbentuk pada proses ini dengan dorongan dari reaktif oksigen spesies (ROS). Fase kedua yaitu propagasi dimana terjadi proses senyawa radikal akan “menulari” senyawa non-radikal untuk membentuk radikal baru. Pada tahap terminasi terjadi penggabungan radikal-radikal bebas membentuk produk non radikal yang stabil. Dalam keadaan normal menurut Suryadinata (2018) radikal bebas juga memiliki peran positif untuk perkembangan sel dan membantu sel darah putih untuk membunuh kuman dan bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Maka dari itu radikal bebas berperan dalam sistem imun tubuh.

Herdiningtyas (2014), mengatakan apabila terjadi ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan antioksidan maka dapat menyebabkan stress oksidatif akan mengganggu sistem kerja imun. Pengaruh dari eksogen juga berperan dalam pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Berbagai macam hal seperti bahan makanan, polutan, asap rokok insektisida dan lain sebagainya dapat menambah produksi radikal bebas dalam tubuh. Maka dari itu untuk mengimbangi radikal bebas yang semakin meningkat diperlukan antioksidan yang juga harus banyak jumlahnya.

## 2.5 Maserasi

Pemilihan metode ekstraksi harus disesuaikan dengan tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Menurut Mukhriani (2014), ada berbagai macam metode ekstraksi contohnya maserasi, *ultrasound - Assisted Solvent Extraction*, perkolasi, *soxhlet refluks* dan destilasi uap. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara perendaman suatu bahan yang sudah dikeringkan berbentuk simplisia dalam suatu pelarut dengan diinkubasi pada suhu ruang.

Pratiwi (2009) menjelaskan bahwa metode maserasi memiliki keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi yang lain yaitu menghasilkan ekstrak yang banyak serta menghindarkan perubahan kimia terhadap senyawa - senyawa tertentu oleh faktor pemanasan, tetapi kelemahannya maserasi membutuhkan waktu yang relatif lama. Wijaya *et a.* (2018), menyatakan maserasi termasuk ekstraksi cara dingin yang dilakukan di dalam suhu ruang dan aman digunakan untuk bahan yang tahan atau tidak tahan terhadap pemanasan.

Penerapannya dalam melakukan pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Fauzana, (2010) terhadap suatu sampel, metode maserasi ada beberapa cara yaitu dengan remaserasi, dan maserasi secara langsung dalam

rentang waktu tertentu. Maserasi dilakukan dengan cara bahan direndam dengan pelarut secara langsung sesuai dengan lama waktu yang telah ditentukan, kemudian disaring diambil filtratnya dan pelarutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga tidak terdapat pelarut yang menetes. Remaserasi yang dilakukan oleh Ningsih *et al.* (2015) dengan cara merendam sampel dengan pelarut kemudian disaring dan hasil residu atau ampasnya dilakukan perendaman lagi dengan pelarut sebanyak volume yang pertama kemudian disaring kembali filtratnya dan hasil filtrate dari penyaringan pertama dan berikutnya digabung menjadi satu, lalu dievaporasi untuk memisahkan pelarut dengan senyawanya.

Menurut Zulharmitta *et al.* (2010), dalam proses maserasi ada berbagai hal yang sangat berpengaruh yaitu pelarut, waktu dan tempat maserasi. Proses maserasi secara umum menggunakan prinsip *like dissolved like* yang berarti senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar dan senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah metanol, dimana metanol merupakan pelarut polar.

Dalam proses maserasi waktu juga sangat berperan penting dan akan mempengaruhi hasil uji antioksidan. Waktu maserasi yang optimal akan memberikan hasil antioksidan dan senyawa yang maksimal. Semakin lama waktu maserasi belum tentu akan menghasilkan potensi antioksidan yang besar begitu pula dengan waktu maserasi yang terlalu singkat. Apabila waktu maserasi terlalu singkat maka komponen kimia yang diinginkan tidak akan keluar secara maksimal, dan apabila waktu maserasi terlalu lama maka pelarut akan mencapai titik jenuh sehingga hasil ekstraksi tidak maksimal (Yulianingtyas dan Kusmartono, 2016).

## 2.6 DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen. Metode DPPH ini digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan dalam suatu ekstrak bahan. DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) merupakan metode yang sering digunakan karena hasil yang didapatkan akurat, cepat, praktis, reliabel dan hanya memerlukan sedikit sampel. Adawiyah *et al.* (2015) menjelaskan bahwa DPPH dapat bertindak sebagai senyawa radikal bebas untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan suatu bahan. Penentuan nilai aktivitas antioksidan dengan DPPH diukur dengan mengukur serapan atau absorbansi dpph pada panjang gelombang 517 nm. Paraeng *et al.* (2016) mengatakan apabila nilai absorbansi dari DPPH semakin menurun maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dari sampel yang diuji.

Hasanah (2017) menggunakan senyawa DPPH sebagai pengganti radikal bebas untuk uji antioksidan. Larutan DPPH yang stabil memiliki warna ungu. Ketika dilakukan pengujian dengan ditambahkan suatu senyawa antioksidan dalam DPPH maka DPPH akan direduksi oleh antioksidan sehingga menjadi stabil, dan warnanya berubah dari ungu menjadi kuning. Salamah dan Widyasari, (2015) mengukur nilai hambatan dari antioksidan terhadap DPPH ini dilakukan dengan mencampurkan larutan sampel yang sudah dilarutkan dalam pelarut etanol dan di inkubasikan dengan suhu 37°C selama 30 menit, dibaca pada panjang gelombang 517 nm dengan spektrofotometer sehingga didapatkan nilai absorbansi dari DPPH untuk menghitung persen inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>.

## 2.7 Faktor Yang Mempengaruhi Antioksidan Pada Tumbuhan

Potensi senyawa antioksidan yang terdapat didalam tumbuhan dipengaruhi oleh beragam senyawa yang diproduksi oleh tumbuhan itu sendiri. Tumbuhan dapat memproduksi senyawa metabolit primer dan metabolit

sekunder. Metabolit primer merupakan metabolisme yang dihasilkan untuk menopang kehidupannya, sedangkan metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh tumbuhan dalam rangka mempertahankan diri dari ancaman. Golongan senyawa metabolit sekunder inilah yang akan mempengaruhi ada tidaknya potensi senyawa antioksidan dalam tumbuhan (Saifuddin, 2014).

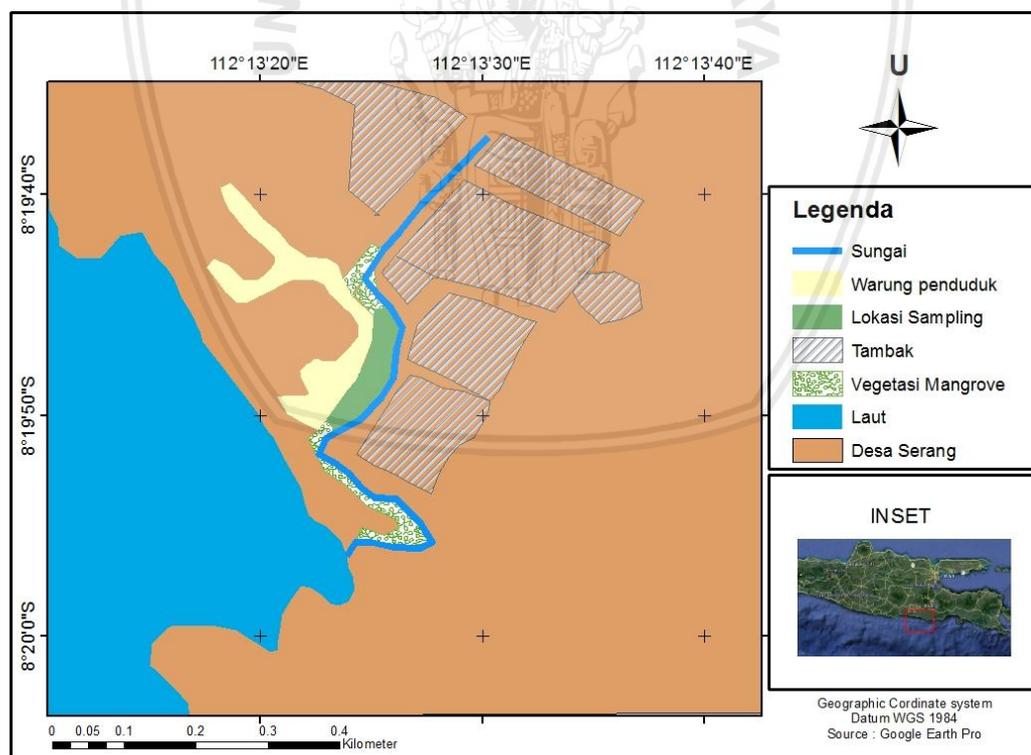
Ada berbagai hal yang berpengaruh terhadap kandungan senyawa antioksidan dalam suatu tumbuhan. Senyawa-senyawa fitokimia yang terkandung didalam tumbuhan memiliki peranan penting dalam menentukan kadar antioksidan. Pada penelitian Sunarni (2005) mengatakan ada yang mempengaruhi aktivitas antioksidan seperti kandungan lipid, suhu, tekanan oksigen, konsentrasi antioksidan dan komponen kimia yang terkandung dalam suatu sampel.

Dalam melakukan penelitian yang mengkaji tentang antioksidan ada hal yang akan mempengaruhi hasilnya yaitu proses pengujian antioksidan. Proses tersebut meliputi proses pengeringan, pembentukan simplisia dan proses ekstraksi yang dilakukan. Sampel harus benar – benar kering untuk menghambat aktivitas organisme yang akan menyebabkan kerusakan sampel. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin memperluas daerah penarikan komponen kimia sehingga banyak senyawa yang terekstrak dari sampel sehingga hasilnya optimal. Pemilihan metode dalam proses ekstraksi akan mempengaruhi hasil yang didapatkan, maka dari itu harus menggunakan metode ekstraksi yang tepat. Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi harus benar. Sayuti (2017) menjelaskan untuk senyawa non polar harus menggunakan pelarut non polar begitu pula sebaliknya. Waktu ekstraksi juga memiliki pengaruh dalam menghasilkan senyawa antioksidan dalam suatu sampel

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Maret 2019. Pengambilan sampel daun mangrove dilaksanakan pada tanggal 14 Januari 2019 di Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 3. Proses preparasi sampel dilakukan di Rumah Kaca Materia Medika Kota Batu Jawa Timur. Proses pengujian aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium UPT Perikanan Air Tawar Sumber Pasir Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.



Gambar 3. Lokasi Pengambilan Sampel

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian ini disajikan pada

Tabel 1 dan 2 adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Alat yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya

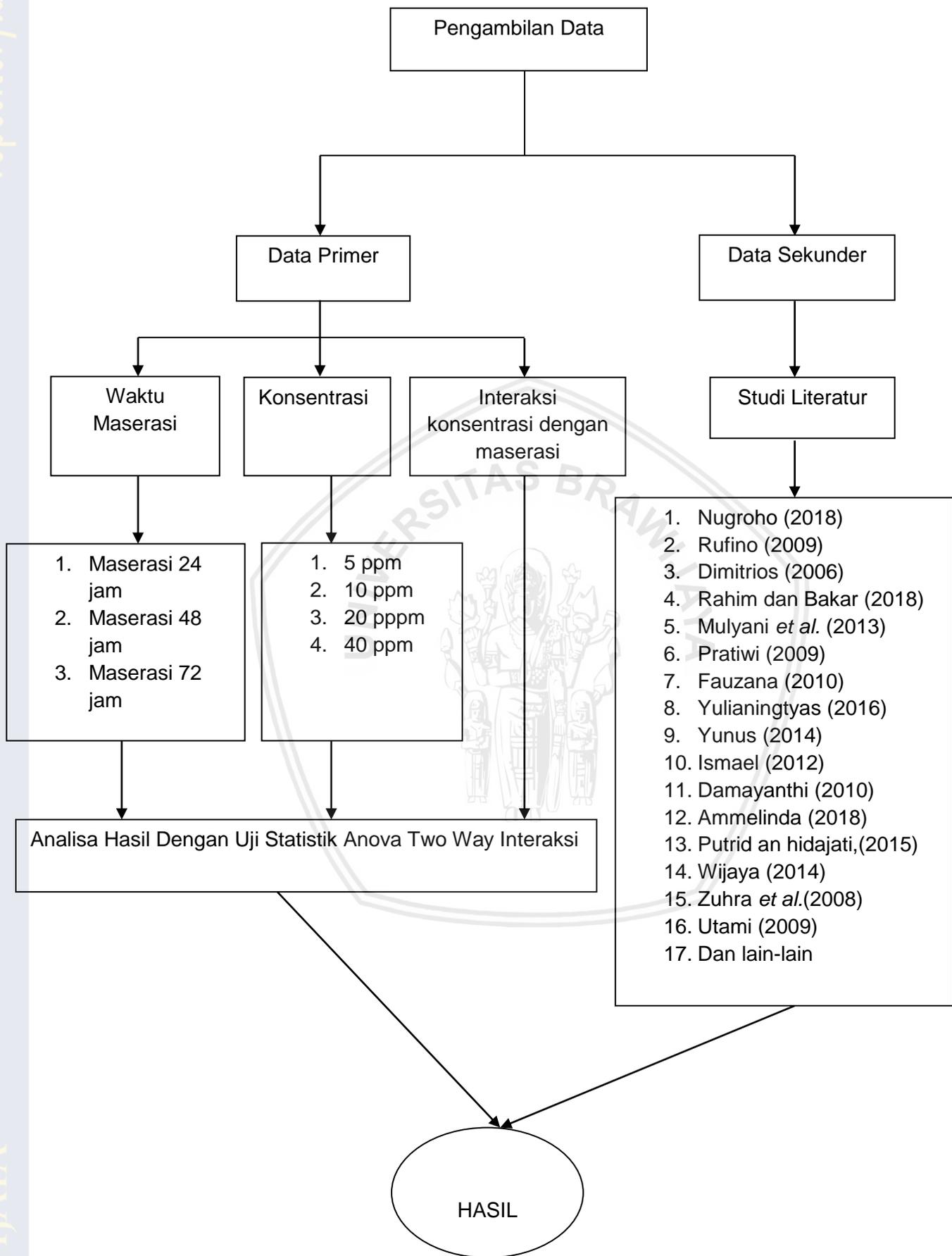
No	Alat	Fungsi
1.	Alat Tulis	Mencatat hasil penelitian
2.	Mesin Penghalus	Menghaluskan sampel
3.	Ayakan	Mengayak hasil penghalusan
4.	Plastik Sampel	Wadah sampel
5.	Toples Gelap	Wadah maserasi
6.	Corong	Memudahkan saat penyaringan
7.	Timbangan Digital Radwag AS220/X	Menimbang sampel secara mekanik
8.	Gelas Ukur 500 ml	Mengukur pelarut untuk maserasi
9.	Gelas Ukur 100 ml	Mengukur pelarut untuk maserasi
10.	Gunting	Membuka wadah plastik maserasi
11.	Lemari Pendingin	Tempat penyimpanan hasil ekstraksi
12.	Vacum Rotary Evaporator Merk IKA	Mengevaporasi sampel
13.	Spatula	Mengaduk larutan
14.	Botol Vial 15 ml	Wadah sampel pada pengujian antioksidan
15.	Mikropipet Dragon Lab	Memindahkan larutan dalam skala mikro
16.	Cuvet	Wadah larutan yang akan diukur didalam spektrofotometer
17.	Spektrofotometer dengan merk Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer	Mengukur absorbansi sampel berdasar panjang gelombang
18.	Jam	Menghitung lama perlakuan
19.	Timbangan Analitik Scout Pro	Menimbang bahan dan sampel dalam skala mg
20.	Kamera	Dokumentasi hasil penelitian

Tabel 2. Bahan yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1.	Bubuk daun <i>S.caseolaris</i>	Sebagai sampel uji
2.	Metanol PA	Sebagai pelarut
3.	Asam askorbat	Sebagai Kontrol Positif
4.	Bubuk DPPH	Bahan Uji Antioksidan
5.	Aquades	Sebagai pengatur suhu waterbath pada rotary evaporator
6.	Kertas Saring Whatman No.42	Menyaring Filtrat Hasil Maserasi
7.	Aluminium foil	Menutup botol/ toples agar sampel tidak terpapar cahaya matahari
8.	Kertas label	Penanda botol uji
9.	Tisu	Mengeringkan dan membersihkan peralatan

### 3.3 Alur Penelitian

Tahapan - tahapan dari penelitian mengenai pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan daun *S.caseolaris* ini adalah pengambilan data primer yang dilakukan dengan pegujian antioksidan secara langsung dari sampel dan data sekunder yaitu dari beberapa penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya. Alur dari penelitian ini disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Alur Penelitian



### 3.4 Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel harus benar - benar diperhatikan sesuai dengan tujuan penelitian. Dalam pengambilan sampel jangan sampai ada sampel yang berbeda dengan kriteria yang sudah ditentukan. Kriteria sampel daun yang diambil yaitu daun yang berasal dari mangrove *S.caseolaris* yang masuk kategori pohon dengan berdiameter > 10 cm. Daun yang diambil berwarna hijau tua dengan ukuran panjang berkisar 5 - 13 cm dan diameter daun 5 cm. Identifikasi mangrove *S.caseolaris* dilakukan berdasarkan buku panduan pengenalan mangrove di Indonesia oleh Noor *et al.* (2009).

### 3.5 Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel adalah proses penanganan awal yang penting dan harus dilakukan dengan metode yang benar karena dapat mempengaruhi hasil yang didapatkannya. Langkah awal preparasi sampel yaitu penimbangan berat basah sampel. Sampel kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan epifit, kotoran dan garam yang menempel pada daun *S.caseolaris*. Proses preparasi meliputi pencucian sampel, pengeringan, dan penghalusan sampel menjadi ukuran simplisia bubuk untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi.

### 3.5 Pengeringan dan Penghalusan Sampel

Sampel daun mangrove *S.caseolaris* yang sudah dicuci dan dibersihkan kemudian dilakukan pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam daun agar sampel tidak rusak dan busuk. Pada penelitian ini metode pengeringan dilakukan dengan diangin - anginkan pada suhu ruang. Dilihat dengan penelitian yang sudah dilakukan Nugroho (2018), bahwa pengeringan angin-angin menghasilkan potensi antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan menggunakan oven. Pengeringan dalam

penelitian ini dilakukan di Rumah Kaca Materia Medika Kota Batu selama 7 hari.

Apabila didalam sampel yang akan dilakukan ekstraksi masih terdapat kandungan air maka akan menyebabkan tumbuhnya mikroorganisme sehingga data menyebabkan sampel menjadi busuk (Riansyah *et al.* 2013). Selain itu kandungan air yang terdapat didalam sampel memiliki titik didih yang lebih tinggi jika dibandingkan titik didih dari pelarut organik yang digunakan pada saat dilakukannya proses evaporasi akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Setelah itu sampel dihaluskan dengan mesin penghalus untuk mendapatkan ukuran simplisia yang kecil (bubuk). Dalam penelitian yang dilakukan Yunus (2014), penghalusan sampel bertujuan agar proses ekstraksi berjalan secara maksimal dikarenakan semakin kecil ukuran partikel maka akan menghasilkan luas permukaan antara sampel dan pelarut, sehingga akan semakin besar kemampuan larutan ekstraksi dalam mengekstraksi senyawa aktif yang ada didalam daun *S. caseolaris*

### **3.6 Maserasi**

Maserasi merupakan metode yang digunakan untuk menarik komponen - komponen senyawa yang terdapat pada suatu bahan. Metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Metode maserasi yang digunakan dalam penelitian ini berbeda dengan metode maserasi yang biasanya dilakukan untuk uji antioksidan dengan metode remaserasi yaitu dengan pengulangan pemberian pelarut dengan volume yang sama pada sampel yang sama dalam rentang waktu tertentu. Untuk penelitian ini digunakan metode maserasi secara langsung tanpa adanya pengulangan pemberian pelarut dengan diinkubasi selama rentang lama waktu yang sudah ditentukan. Maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut metanol dengan perbandingan sampel berbanding pelarut 1:3, yaitu 200 gram sampel kedalam pelarut metanol

sebanyak 600 ml diinkubasi dalam suhu ruang 25°C dan diinkubasi dalam rentang waktu yang sudah ditentukan yaitu 24 jam, 48 jam dan 72 jam (Sayuti dan Yenrina, 2015).

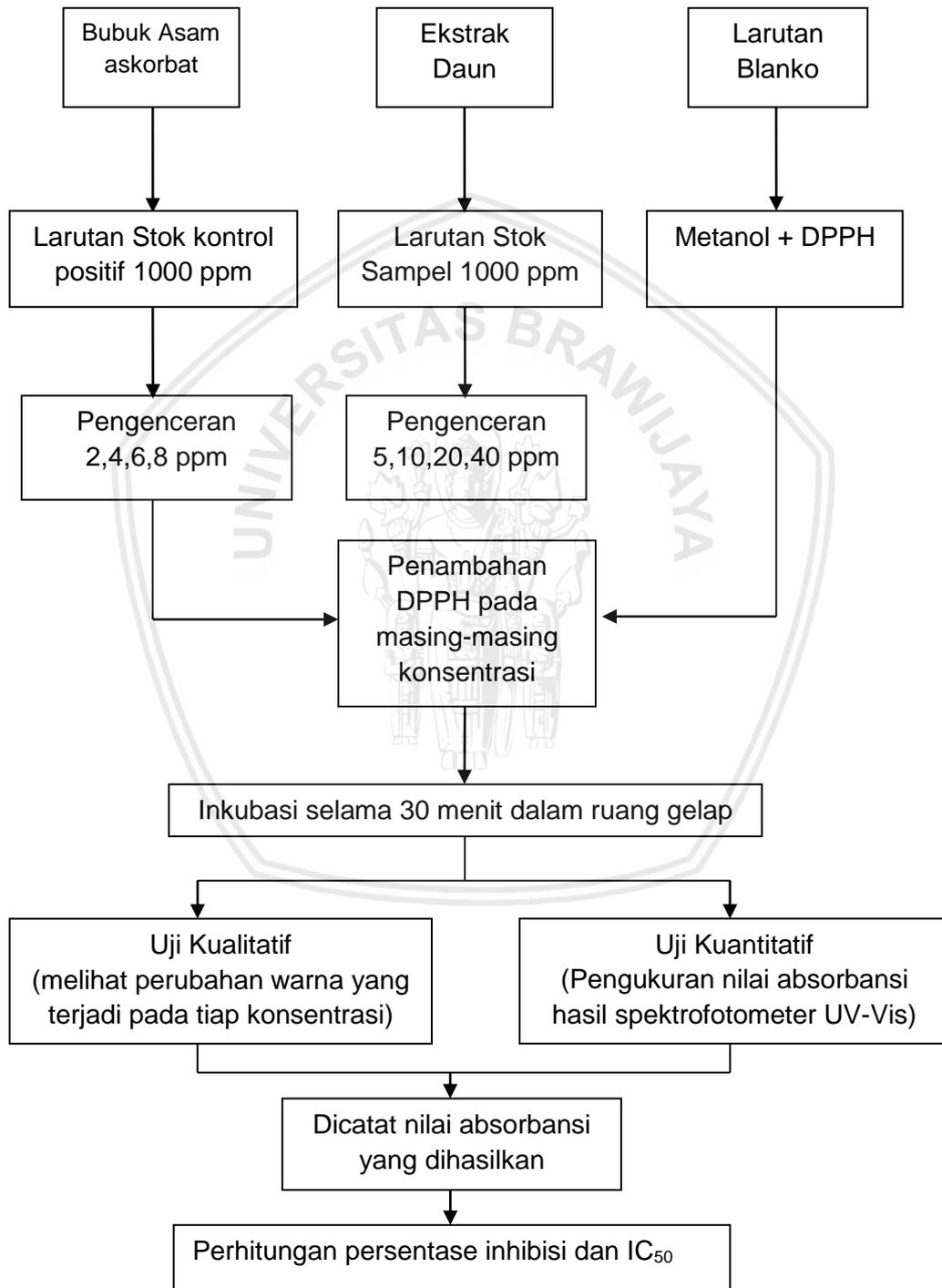
Sampel yang dimaserasi merupakan simplisia daun mangrove *S. caseolaris* yang sama tetapi dibagi menjadi tiga perlakuan yaitu perlakuan A, perlakuan B dan perlakuan C. Masing - masing perlakuan dilakukan maserasi dengan rentang waktu yang sudah ditentukan. Perlakuan A (dimaserasi selama 24 jam), perlakuan B (dimaserasi selama 48 jam), dan perlakuan C (dimaserasi selama 72 jam). Setelah proses maserasi selesai sesuai waktu masing-masing, kemudian hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan residu.

Filtrat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi untuk memisahkan senyawa dengan pelarutnya dengan mesin *rotary evaporator* dengan suhu 40°C. Pemilihan suhu ini disesuaikan dengan senyawa yang akan digunakan untuk antioksidan. Jangan sampai suhu evaporasi melebihi batas maksimal suhu senyawa antoksidan karena akan merusak senyawa tersebut. Hasil ekstrak daun mangrove *S.caseolaris* dimasukkan kedalam botol vial dan disimpan dalam lemari pendingin. Bagan alur proses ekstraksi dapat dilihat pada Lampiran 6.

### 3.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH, metode DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diuji. Pengujian antioksidan menggunakan DPPH dibagi secara kualitatif dan secara kuantitatif. Secara kualitatif prinsipnya melihat pemudaran warna yang terjadi pada DPPH yang semula berwarna ungu ketika diberi larutan ekstrak sampel yang mengandung antioksidan maka larutan tersebut akan berubah menjadi kuning. Pengujian secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan pengukuran nilai absorbansi dari spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, perhitungan

persentase inhibisi dan perhitungan nilai  $IC_{50}$ . Ismail *et al.* (2012) menggunakan panjang gelombang 517 nm ini dikarenakan 517 nm merupakan panjang gelombang maksimal untuk pengukuran serapan DPPH. Alur dari proses pengujian antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 5



Gambar 5. Langkah Uji Aktivitas Antioksidan

Prosedur kerja dari uji aktivitas antioksidan dijelaskan dibawah ini:

1. Pembuatan Larutan Stok DPPH 0.5 mM

Larutan stok DPPH 0.5 mM dibuat dengan tujuan untuk menguji senyawa antioksidan dalam sampel mangrove *S.caseolaris*. Semakin tinggi konsentrasi DPPH yang digunakan akan melihat seberapa kuat antioksidan melakukan penghambatan terhadap DPPH. Disamping hasil tersebut merujuk dari penelitian Kasitowati *et al.* (2017) menggunakan konsentrasi DPPH sebesar 0.5 mM sebagai konsentrasi uji antioksidan dari daun mangrove.

Pembuatan larutan stok DPPH ini dengan cara melarutkan 9.85 mg kristal DPPH ke dalam 50 ml pelarut methanol pa. Larutan stok DPPH yang sudah dibuat dimasukkan ke dalam botol kaca gelap tidak boleh terkena sinar matahari dan disimpan dalam suhu ruang.

2. Pembuatan Larutan Stok Sampel Ekstrak Daun *S. caseolaris*

Larutan stok pada sampel dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok ini dibuat untuk memudahkan pengenceran sehingga tidak melakukan proses pembuatan konsentrasi yang berulang-ulang. Pembuatan larutan stok ini dengan perbandingan 1 : 1. Cara pembuatannya yaitu mencampurkan 10 mg sampel kedalam 10 ml pelarut metanol pa. Larutan stok yang dibuat ini sebagai bahan digunakan sebagai pengenceran.

3. Pembuatan Larutan Stok Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah asam askorbat yang sudah diketahui memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat. Alasan menggunakan kontrol positif dari bahan yang memiliki senyawa antioksidan yang sangat kuat agar dapat membedakan mana hasil yang memiliki aktivitas antioksidan dan mana yang tidak dengan membandingkannya dari kontrol positif. Kuntorini *et al.* (2011), menyebutkan bahwa penggunaan asam askorbat sebagai kontrol positif karena memiliki kandungan antioksidan yang tinggi dan sangat kuat.

Larutan stok untuk kontrol positif ini menggunakan asam askorbat yang diencerkan dengan pelarut metanol pa dengan perbandingan 1:1. Cara pembuatannya yaitu dengan menambahkan 10 mg asam askorbat ke dalam 10 ml methanol pa.

#### 4. Pengenceran

Pengenceran sampel dari ekstrak daun mangrove dibuat sebanyak 4 konsentrasi yaitu konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm. Pembuatan konsentrasi ini merujuk pada penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Nugroho (2018) yang menggunakan konsentrasi tersebut untuk melihat potensi antioksidan dari daun *S.caseolaris*. Cara yang dilakukan yaitu dengan melarutkan ekstrak sampel dari larutan stok 1000 ppm dengan metanol hingga mencapai 3 ml. Untuk pembuatan konsentrasi 5 ppm yaitu dengan mengambil 15  $\mu$ l dari larutan stok sampel ditambahkan 2985  $\mu$ l metanol pa. Untuk konsentrasi 10 ppm yaitu dengan mengambil 30  $\mu$ l dari larutan stok sampel ditambahkan 1970  $\mu$ l metanol pa. Untuk konsentrasi 20 ppm yaitu dengan mengambil 60  $\mu$ l dari larutan stok sampel ditambahkan 2940  $\mu$ l metanol pa. Untuk konsentrasi 40 ppm yaitu dengan mengambil 120  $\mu$ l dari larutan stok sampel ditambahkan 2880  $\mu$ l metanol pa.

Pengenceran untuk kontrol positif dari asam askorbat dibuat dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm. Konsentrasi yang digunakan ini dilandasi dengan uji pendahuluan yang telah dilakukan. Dari konsentrasi ini didapatkan nilai  $IC_{50}$  yang sangat kuat.

Pengenceran ini dilakukan dengan melarutkan asam askorbat dari larutan stok 1000 ppm kontrol positif yang sudah dibuat dengan pelarut metanol pa hingga mencapai 3 ml. Untuk konsentrasi 2 ppm yaitu dengan mengambil 6  $\mu$ l dari larutan stok kontrol positif ditambahkan 2994  $\mu$ l metanol pa. Untuk konsentrasi 4 ppm yaitu dengan mengambil 12  $\mu$ l dari larutan stok asam

askorbat ditambahkan 2988  $\mu$ l metanol pa. Untuk konsentrasi 6 ppm yaitu dengan mengambil 18  $\mu$ l dari larutan stok kontrol positif ditambahkan 2982  $\mu$ l metanol pa, konsentrasi 8 ppm yaitu dengan mengambil 24  $\mu$ l dari larutan stok kontrol positif ditambahkan 2976  $\mu$ l metanol pa. Tabel rancangan penelitian uji aktivitas antoksidan daun *S.caseolaris* terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rancangan penelitian

Faktor 1 (Waktu maserasi dalam jam)	Faktor 2 (Konsentrasi ekstrak sampel dalam ppm)	Nilai Absorbansi		
		Ulangan		
		1	2	3
A	5	A,5,1	A,5,2	A,5,3
	10	A,10,1	A,10,2	A,10,3
	20	A,20,1	A,20,2	A,20,3
	40	A,40,1	A,40,2	A,40,3
B	5	B,5,1	B,5,2	B,5,3
	10	B,10,1	B,10,2	B,10,3
	20	B,20,1	B,20,2	B,20,3
	40	B,40,1	B,40,2	B,40,3
C	5	C,5,1	C,5,2	C,5,3
	10	C,10,1	C,10,2	C,10,3
	20	C,20,1	C,20,2	C,20,3
	40	C,40,1	C,40,2	C,40,3

Keterangan :

- A : Waktu maserasi 1 x 24 jam
- B : Waktu maserasi 2 x 24 jam
- C : Waktu maserasi 3 x 24 jam

#### 5. Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Tahapan dari pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Langkah langkah dalam pengujian aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran absorbansi larutan blanko, mengukur absorbansi dari ekstrak daun dan pengukuran absorbansi dari kontrol positif yaitu asam askorbat, secara detail dapat dijelaskan sebagai berikut:

#### A. Pengukuran Absorbansi Larutan Blanko

Untuk melihat berapa nilai absorbansi larutan blanko yang dihasilkan dari pengujian di spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Larutan blanko digunakan sebagai kontrol negatif sehingga nilai absorbansi yang didapatkan digunakan sebagai nilai pengurang dan pembagi untuk mencari nilai persentase inhibisi. Langkah pertama dengan dibuat larutan blanko yang dibutuhkan untuk dilakukan spektrofotometer. Pembuatan larutan blanko ini dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan DPPH dengan konsentrasi 0.5 mM dengan mikropipet kemudian dilarutkan dengan metanol pada hingga bervolume 4 ml di dalam botol vial sebanyak tiga kali pengulangan. Larutan blanko diinkubasi selama 30 menit didalam ruang gelap. Untuk mendapatkan nilai absorbansi dari larutan blanko maka dilakukan pengukuran di spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran nilai absorbansi blanko ini harus dilakukan karena akan digunakan untuk mencari nilai persentase inhibisi antioksidan.

#### B. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Ekstrak Sampel terhadap radikal bebas DPPH

Untuk melihat nilai absorbansi dari sampel uji ekstrak daun maka tiap konsentrasi sampel yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0.5 mM. Pengujian ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan agar hasil yang didapatkan lebih akurat (Purwanto *et al.* 2017). Larutan yang sudah dibuat kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit untuk menunggu reaksi yang terjadi antara antioksidan dalam sampel dengan DPPH. Untuk melihat potensi antioksidan secara kualitatif bisa diamati perubahan warna yang terjadi pada larutan yang dibuat apabila terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning maka diindikasikan adanya reduksi DPPH dari senyawa antioksidan pada sampel (Muharni *et al.* 2013). Cara untuk

mendapatkan nilai absorbansi dari sampel ekstrak daun ini maka dilakukan pengukuran di spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

### C. Pengukuran pengikatan kontrol positif Terhadap radikal bebas DPPH

Selanjutnya dalam membuat larutan kontrol positif maka pada masing-masing konsentrasi ditambahkan larutan DPPH 0.5 mM sebanyak 1 ml. Setelah dibuat larutannya kemudian diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm untuk membandingkan dengan hasil absorbansi sampel yang didapatkan.

### 3.8 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Untuk mengetahui seberapa besar potensi antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH maka harus menghitung nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari kurva regresi linier antara persentase inhibisi dengan konsentrasi. Persentase inhibisi didapatkan dari nilai absorbansi sampel dan nilai absorbansi didapatkan dari hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer. Damayanthi *et al.* (2010) menyatakan bahwa persentase inhibisi dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\%inhibisi = \frac{(abs\ blanko - abs\ sampel)}{absorbansi\ blanko} \times 100\%$$

Dari persentase inhibisi yang didapatkan kemudian dibuat kurva regresi linier untuk mencari nilai (*Inhibitory Concentration*) IC<sub>50</sub> dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier yaitu  $y = ax \pm b$ , y adalah persentase inhibisi, a adalah gradient, x adalah konsentrasi dan b adalah konstanta. Untuk mengetahui berapa nilai konsentrasi x yang dibutuhkan untuk melakukan hambatan 50% maka nilai variable y disubstitusi menjadi 50. Nilai IC<sub>50</sub> yang didapatkan kemudian dianalisa apabila semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> nya maka semakin kuat antioksidannya.

### 3.9 Analisa Hasil

Analisa statistika yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Uji Two Way ANOVA (Analysis of Variance)*. Anova merupakan salah satu metode uji yang termasuk dalam RALF (Rancangan acak lengkap factorial). Menggunakan Anova Two Way karena dalam penelitian ini bertujuan untuk mencari pengaruh dari beberapa perlakuan dan mencari interaksi yang terjadi antar perlakuan. Berdasarkan rumusan masalah dan kerangka pemikiran, maka hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Hipotesis untuk faktor 1:

H0 : Perbedaan waktu maserasi tidak mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S. caseolaris*.

H1 : Perbedaan waktu maserasi mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S. caseolaris*

2. Hipotesis untuk faktor 2

H0 : Konsentrasi tidak mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S. caseolaris*.

H1 : Konsentrasi mempengaruhi hasil aktivitas antioksidan dari daun *S. caseolaris*

3. Hipotesis untuk faktor 3

H0 : Tidak ada interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi

H1 : Ada Interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi

Jika pada hasil pengujian menggunakan analisa statistika *Two Way ANOVA (Analysis of Variance)* terdapat pengaruh yang signifikan maka akan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Ekstraksi Daun *S.caseolaris*

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Ekstraksi dilakukan untuk menarik komponen-komponen senyawa yang terkandung didalam daun mangrove *S.caseolaris*. Hasil yang didapat dari ekstraksi daun *S.caseolaris* dengan perlakuan waktu maserasi yang berbeda-beda didapatkan hasil ekstrak yang berbentuk pasta. Hasil ekstrak daun mangrove *S.caseolaris* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil Ekstraksi

Hasil ekstraksi yang didapatkan kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui bobotnya. Perhitungan bobot hasil ekstraksi berfungsi untuk menghitung hasil persentase rendemen dari tiap-tiap sampel. Menurut Dewitasari *et al.* (2017), rendemen merupakan perbandingan dari berat hasil ekstrak yang didapatkan yang dibandingkan dengan berat awal dikalikan 100%. Apabila nilai hasil rendemen semakin besar maka semakin tinggi hasil ekstrak yang didapatkan. Nilai persentase rendemen dari tiap perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil persentase rendemen ekstrak

Perlakuan	Berat Hasil Ekstrak (gram)	Persentase Rendeman (%)
A	6.28	3.14
B	5.47	2.74
C	7.35	3.68

Hasil yang didapatkan pada Tabel 4 tidak sesuai dengan pernyataan Ammelinda *et al.* (2018), bahwa waktu maserasi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal, sedangkan apabila waktu maserasi terlalu singkat maka dapat mengakibatkan tidak semua senyawa terlarut didalam suatu pelarut. Apabila waktu maserasi terlalu lama maka mengakibatkan jenuh antara sampel dan pelarut.

#### 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

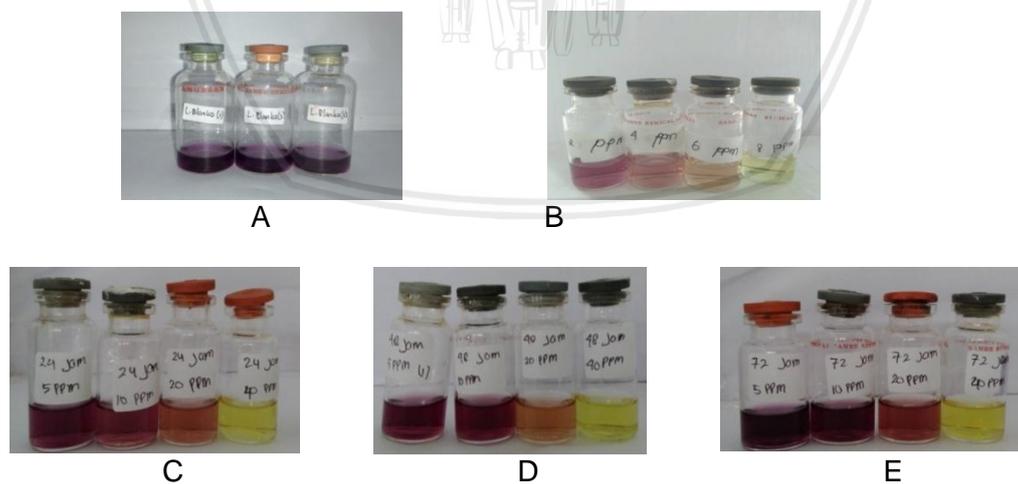
Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak daun mangrove *S.caseolaris* ini dapat dilihat secara kualitatif dan secara kuantitatif. Secara kualitatif dapat diamati dari perubahan warna yang terjadi pada setiap sampel uji. Secara kuantitatif dapat dilihat dari nilai absorbansi sampel uji, nilai inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub> pada tiap perlakuan.

##### 4.3.1 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif

Kandungan senyawa antioksidan dalam suatu ekstrak sampel secara kualitatif diamati dengan dengan terjadinya perubahan warna sampel uji dari setiap konsentrasi yang sudah ditentukan (5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm) setelah dilakukan pengujian dengan metode DPPH. Songklanakarini (2004) menjelaskan bahwa sampel yang mengandung senyawa antioksidan yang kuat warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan warna dari yang semula ungu pekat menjadi ungu muda hingga kuning disebabkan karena senyawa

antioxidan akan berikatan dengan senyawa DPPH sehingga terjadi transfer atom hidrogen menyebabkan terjadinya peluruhan warna ungu menjadi kuning.

Dalam penelitian ini didapatkan hasil uji kualitatif dari tiga perlakuan yang berbeda dengan tiga kali pengulangan pada setiap konsentrasi uji. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian kali ini adalah vitamin C atau asam askorbat dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif karena asam askorbat merupakan senyawa yang memiliki sifat reduksi yang kuat terhadap radikal bebas. Purwaningsih, (2012) menggunakan asam askorbat sebagai pembanding atau kontrol positif pada uji antioksidan terhadap DPPH diakarenakan asam askorbat atau vitamin c memiliki sifat antioksidan yang kuat sehingga mampu melakukan penghambatan pada radikal bebas DPPH. Untuk kontrol negatif atau larutan blanko dibuat dengan menambahkan 1 ml 0.05 mM larutan DPPH kedalam 3 ml metanol dengan waktu inkubasi selama 30 menit. Dapat dilihat dari Gambar 7 hasil uji kualitatif antioksidan pada tiap perlakuan.



Gambar 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan secara kualitatif ( A: Larutan blanko, B: Kontrol positif, C: maserasi 24 jam, D: maserasi 48 jam dan E: maserasi 72 jam). Untuk C,D dan E, botol dari kiri kekanan merupakan urutan konsentrasi 5 ppm ,10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm.

Hasil uji kontrol positif (Gambar 7 B) yaitu asam askorbat dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm sebanyak 3 ml, setelah ditambahkan 1 ml DPPH 0,5 mM warna ungu yang dimiliki akan pudar dan menjadi kekuningan seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Perubahan warna tersebut menandakan bahwa asam askorbat berpotensi memiliki senyawa antioksidan.

Pada semua perlakuan waktu maserasi 24 jam, 48 jam maupun 72 jam (Gambar 7 C,D,E) dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi uji maka warnanya berubah menjadi ungu muda hingga kekuningan. Perubahan warna yang terjadi tersebut menandakan bahwa semakin besar senyawa antioksidan yang terkandung didalamnya. Wijaya *et al.* (2014) menyebutkan bahwa semakin besar konsentrasi uji maka semakin kuat warna kuning yang dihasilkan oleh sampel sehingga diindikasikan semakin tinggi potensi aktivitas antioksidannya.

Menurut Wijaya *et al.* (2014), pudarnya atau semakin berkurangnya warna dari larutan DPPH yang semula berwarna ungu pekat menandakan terjadinya reaksi antara atom hydrogen yang dihasilkan oleh sampel terhadap molekul DPPH sehingga membentuk senyawa *1-difenil-2-pikrilhidrazin* yang berwarna kuning. Perubahan warna DPPH menjadi stabil yaitu warna kuning disebabkan karena senyawa antioksidan mendonorkan satu elektronnya pada DPPH sehingga menyebabkan pengurangan radikal bebas pada DPPH. Sastrawan *et al.* (2013), menyatakan bahwa penghambatan antioksidan terhadap radikal bebas terjadi ketika adanya donor atom hidrogen terhadap satu elektron yang tidak berpasangan yang dimiliki oleh radikal DPPH, sehingga membentuk non radikal DPPH.

#### 4.3.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif

Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  yang merupakan nilai ukuran aktivitas antioksidan pada setiap konsentrasi uji yang dilakukan yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm setelah ditambahkan dengan DPPH 0.05 mM dan dilakukan inkubasi dalam waktu 30 menit didalam keadaan tanpa cahaya matahari untuk menghindarkan kerusakan pada sampel. Pengujian secara kuantitatif dengan melihat nilai absorbansi sampel uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Nilai absorbansi pada tiap perlakuan disajikan pada lampiran 4. Hasil absorbansi yang didapatkan akan digunakan untuk mencari nilai persentase inhibisi dan  $IC_{50}$  dari setiap perlakuan. Nilai absorbansi yang diukur pertama adalah kontrol positif dari 3 ml larutan asam askorbat dengan konsentrasi 2 ppm, 4ppm, 6 ppm, dan 8 ppm yang sudah ditambahkan DPPH 0.05 mM sebanyak 1 ml. Uji absorbansi berikutnya adalah larutan blanko yaitu 3 ml metanol ditambahkan 1 ml DPPH 0.05 mM dengan tiga kali pengulangan, sehingga didapatkan nilai rata-rata absorbansi larutan blanko yaitu 1.478. Dari nilai rata-rata blanko yang didapatkan digunakan untuk menghitung nilai persentase inhibisi masing-masing konsentrasi sampel. Hasil dari pengujian secara kuantitatif uji antioksidan ekstrak daun *S.caseolaris* terhadap DPPH disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai absorbansi dan persentase inhibisi

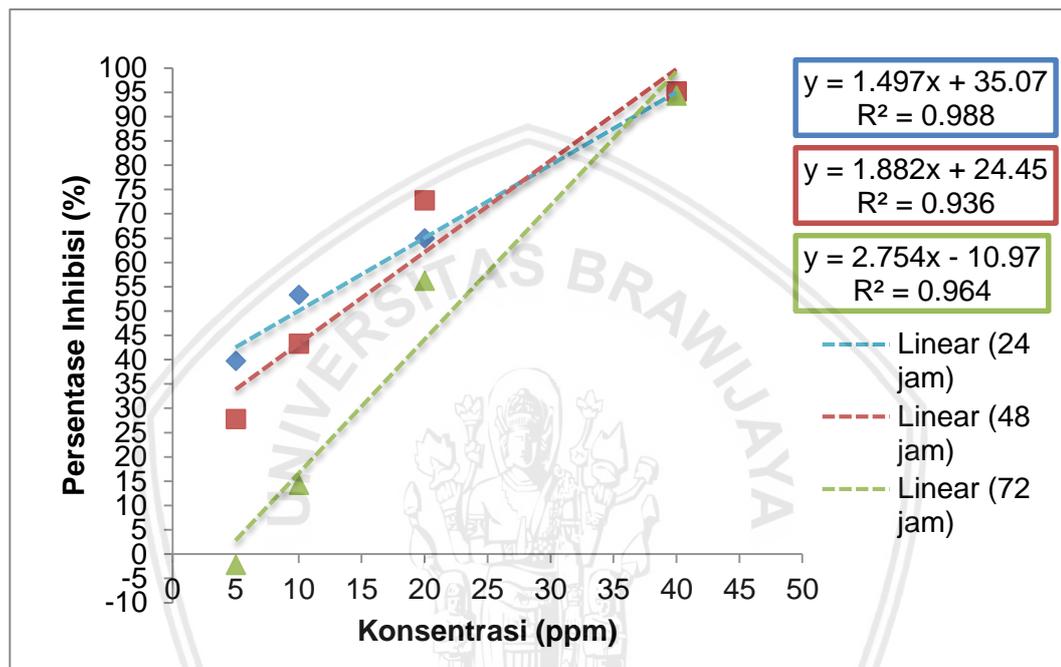
Perlakuan 1	Perlakuan 2 (Konsentrasi) (ppm)	Rata-Rata Absorbansi (A)	Persentase Inhibisi (%)
A	5	0.890	39.779
	10	0.690	53.332
	20	0.518	64.967
	40	0.081	94.541
B	5	1.067	27.792
	10	0.838	43.270
	20	0.402	72.773
	40	0.071	95.195
C	5	1.510	-2.188
	10	1.266	14.302
	20	0.646	56.260
	40	0.084	94.338
Kontrol Positif	2	0.662	55.222
	4	0.429	70.968
	6	0.373	74.758
	8	0.036	97.586

Catatan : A = Waktu Maserasi 1 X 24 Jam  
 B = Waktu Maserasi 2 X 24 Jam  
 C = Waktu Maserasi 3 X 24 Jam

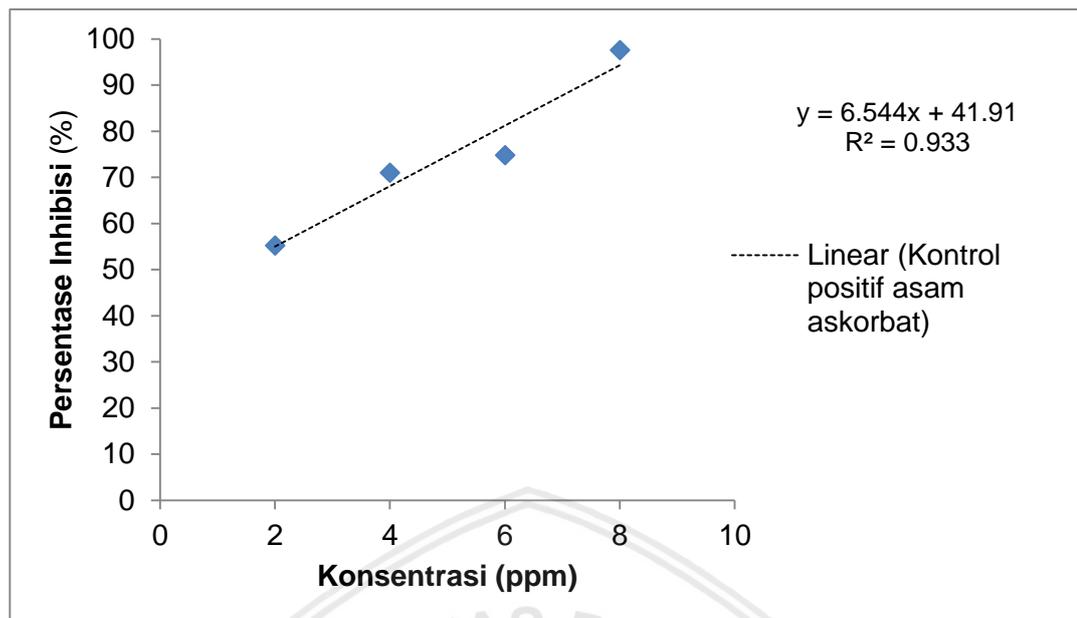
Tabel 5 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka nilai absorbansinya semakin kecil sehingga nilai persentase inhibisi yang didapatkan semakin besar. Konsentrasi dengan nilai persentase inhibisi dikatakan memiliki hubungan yang berbanding lurus, sedangkan nilai absorbansi berbanding terbalik dengan nilai persentase inhibisi. Selanjutnya dibuat kurva regresi linier untuk menghubungkan nilai persentase inhibisi dengan setiap konsentrasi (Zuhra *et al.* 2008).

Konsentrasi ekstrak sampel (ppm) sebagai absis atau sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai ordinatnya atau sumbu Y. Hasil persamaan regresi dari kurva tersebut dimasukkan perhitungan untuk mencari hubungan antar variable atau  $R^2$  dan juga digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  yakni konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk penghambatan 50 % radikal bebas DPPH.

Grafik regresi linier hubungan antara konsentrasi ekstrak daun *S.caseolaris* terhadap persentase inhibisinya pada perlakuan A, perlakuan B, dan perlakuan C dapat dilihat pada Gambar 8 serta grafik hubungan antara konsentrasi asam askorbat terhadap persentase inhibisinya dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 8. Grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi ekstrak daun *S.caseolaris*



Gambar 9. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi kontrol positif asam askorbat

Dari Gambar 8 grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi didapatkan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) pada ekstrak daun *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu maserasi 24 jam ( $r = 0.967$ ), 48 jam ( $r = 0.993$ ), 72 jam ( $r = 0.981$ ) dan Gambar 9 kontrol positif ( $r = 0.965$ ). Menurut Usrina (2017), apabila nilai koefisien korelasi mendekati 1 maka tingkat hubungan antar variabel tergolong sangat kuat sehingga disimpulkan persentase inhibisi memiliki sifat korelasi yang sangat kuat terhadap konsentrasi ekstrak daun *S.caseolaris*.

Nilai persamaan regresi  $y = ax \pm b$  yang didapatkan kemudian digunakan untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  dicari untuk mengetahui berapa besar konsentrasi yang dibutuhkan untuk penghambatan 50% radikal bebas. Nilai  $IC_{50}$  dicari dengan cara menggunakan persamaan regresi  $y = ax \pm b$ , dengan mengganti nilai  $y$  menjadi 50, sehingga didapatkan nilai  $x$  sebagai nilai  $IC_{50}$ . Nilai hasil  $IC_{50}$  yang didapatkan dari rumus persamaan regresi linier disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Persamaan kurva regresi dan nilai IC<sub>50</sub>

	Waktu maserasi 24 jam	Waktu maserasi 48 jam	Waktu maserasi 72 jam	Kontrol positif
Nilai Kurva Regresi	Y=1.497x + 35.07	Y= 1.882x + 24.45	Y=2.754x - 10.97	y=6.544x + 41.91
Linier Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)	9.973	13.576	22.138	1.236

Hasil menunjukkan bahwa urutan nilai IC<sub>50</sub> dari yang terkecil hingga yang tertinggi berturut - turut adalah dari perlakuan A, B dan C (A = 9.973 ppm, B = 13.576 ppm, C = 22.138 ppm). Nilai IC<sub>50</sub> dari kontrol positif yaitu 1.236 ppm. Nilai IC<sub>50</sub> memiliki hubungan yang terbalik dengan keberadaan potensi senyawa antioksidan dalam suatu sampel. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka semakin besar potensi antioksidannya.

Putri dan Hidajati (2015), mengklasifikasikan intensitas senyawa antioksidan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hubungan nilai IC<sub>50</sub> dengan intensitas senyawa antioksidan

Intensitas Antioksidan	Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50 - 100
Sedang	100 - 250
Lemah	250 - 500

Berdasarkan Tabel 6, dapat disimpulkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> yang didapatkan dari tiga perlakuan A, B, C serta kontrol positif asam askorbat memiliki intensitas senyawa antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC<sub>50</sub> nya < 50 ppm.

Waktu ekstraksi akan sangat berpengaruh terhadap senyawa yang dihasilkan. Waktu ekstraksi yang optimal akan menghasilkan senyawa yang

maksimal. Apabila waktu ekstraksi terlalu singkat maka dapat menyebabkan tidak maksimalnya senyawa yang terekstrak tetapi apabila terlalu lama akan menyebabkan jumlah pelarut dalam zat terlarut menjadi jenuh sehingga hasil ekstraksi akan semakin kecil. Studi yang dilakukan Amellinda *et al.* (2018), menunjukkan bahwa waktu maserasi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal dan nilai  $IC_{50}$  semakin kecil sehingga kandungan antioksidannya semakin besar. Utami (2009) melaporkan apabila waktu ekstraksi yang dilakukan terlalu lama maka dapat menyebabkan senyawa fitokimia yang terekstrak menjadi rusak sehingga mempengaruhi hasil yang didapatkan.

#### **4.4 Analisa Pengaruh Perbedaan Perlakuan Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun *S. Caseolaris***

Metode yang digunakan untuk menganalisa hasil kuantitatif dari uji aktivitas antioksidan yaitu dengan menggunakan rancangan acak lengkap faktorial (RAL). RAL faktorial ini merupakan metode analisa yang digunakan untuk menganalisa antar perlakuan serta interaksi antar perlakuan yang diberikan.

Analisa hasil menggunakan uji *Anova two way*, memiliki syarat data yang harus terdistribusi normal dan homogenitas ragam antar kelompok harus homogen sehingga diperlukan uji normalitas dan uji homogenitas ragam (Purwanti *et al.* 2016). Uji normalitas *two way* ini menggunakan *Shapiro-wilk* dikarenakan jumlah data kurang dari 50. Hasil uji normalitas *Shapiro-wilk* disajikan pada Tabel 8 dan hasil uji homogenitas atau uji *levene test* disajikan pada Tabel 9.

Tabel 8. Uji Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.
Standardized Residual for Hasil Aktivitas Antioksidan	0.955	36	<b>0.154</b>

Tabel 9. Uji Homogenitas Ragam (Levene test)

F	df1	df2	Sig.
2.092	11	24	<b>0.063</b>

Berdasarkan Tabel 8 pada kolom *Shapiro-wilk* nilai signifikansi diperoleh 0.154. Apabila nilai sig > 0.05 dapat disimpulkan bahwa populasi data tersebut sudah terdistribusi normal sehingga asumsi normalitas data sudah terpenuhi maka sudah memenuhi syarat untuk dilakukan uji *Two Way Anova*. Suatu data dikatakan terdistribusi normal apabila nilai Sig > 0.05 sedangkan jika nilai sig < 0,05 maka dapat dikatakan data tidak terdistribusi normal (Maulida *et al.* 2016). Tabel 8 menunjukkan bahwa varian keempat konsentrasi tersebut memiliki nilai Sig. 0.063. Apabila nilai sig > 0,05 maka homogenitas ragam terpenuhi.

Data yang sudah terdistribusi normal dan homogenitas terpenuhi selanjutnya dilakukan uji anova two way untuk melihat apakah ada perbedaan signifikan antar variabel atau tidak. Hasil uji two way anova dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji Two Way Anova

<i>Tests of Between-Subjects Effects</i>					
<i>Dependent Variable : Hasil Aktivitas Antioksidan</i>					
Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	33539.710 <sup>a</sup>	11	3049.065	752.561	0.000
Intercept	107046.583	1	107046.583	2.642E4	0.000
Waktu Maserasi	3523.090	2	1761.545	434.779	<b>0.000</b>
Konsentrasi	27861.634	3	9287.211	2.292E3	<b>0.000</b>

*Tests of Between-Subjects Effects*

*Dependent Variable : Hasil Aktivitas Antioksidan*

<i>Source</i>	<i>Type III Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
Waktu Maserasi * Konsentrasi	2154.986	6	359.164	88.648	<b>0.000</b>
<i>Error</i>	97.238	24	4.052		
Total	140683.531	36			
<i>Corrected Total</i>	33636.948	35			

Berdasarkan Tabel 10 dapat disimpulkan bahwa waktu maserasi, konsentrasi dan interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap hasil aktivitas antioksidan ( $\text{Sig} < 0.05$ ). Hasil uji ANOVA two way dapat dilihat dari nilai signifikansi data yang didapatkan. Apabila nilai signifikansi  $> 0.05$  disimpulkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar variable dan apabila nilai signifikansi  $< 0.05$  maka ada perbedaan yang signifikan antar variable (Rivai *et al.* 2013).

Untuk melihat perbedaan signifikannya masing-masing perlakuan maka harus dilakukan uji lanjutan yaitu uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT atau yang bisa disebut dengan uji LSD (*Least Significance Different*) merupakan suatu metode statistika yang diperkenalkan oleh Fisher sebagai acuan untuk menentukan apakah rata-rata dua/lebih perlakuan berbeda secara statistik atau tidak (Nainggolan, 2009). Uji BNT dilakukan untuk mengetahui lama waktu maserasi mana yang berbeda secara signifikan yang disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Uji BNT perlakuan 1 (lama waktu maserasi)

Multiple Comparisons						
Hasil Aktivitas Antioksidan BNT						
(I) Maserasi (Jam)	(J) Maserasi (Jam)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
24	48	3.3972*	.82174	<b>0.000</b>	1.7012	5.0932
	72	22.4767*	.82174	<b>0.000</b>	20.7807	24.1727
48	24	-3.3972*	.82174	<b>0.000</b>	-5.0932	-1.7012
	72	19.0795*	.82174	<b>0.000</b>	17.3835	20.7755
72	24	-22.4767*	.82174	<b>0.000</b>	-24.1727	-20.7807
	48	-19.0795*	.82174	<b>0.000</b>	-20.7755	-17.3835

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

Dari Hasil uji BNT pada Tabel 11 dan hasil uji HSD (Lampiran 7) menunjukkan bahwa semua perlakuan 1 yaitu lama waktu maserasi baik pada 24 jam, 48 jam dan 72 jam berbeda secara signifikan terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan (Sig = 0.000). Berdasarkan nilai *mean difference* waktu maserasi yang memiliki pengaruh tertinggi adalah waktu maserasi 24 jam. Lama waktu maserasi memiliki pengaruh terhadap hasil aktivitas antioksidan dari daun *S.caseolaris*. Setiap zat terlarut dan pelarut memiliki waktu optimal dalam menghasilkan ekstrak suatu senyawa. Semakin singkat dan terlalu lama waktu ekstraksi maka akan menyebabkan hasil ekstraksinya tidak maksimal.

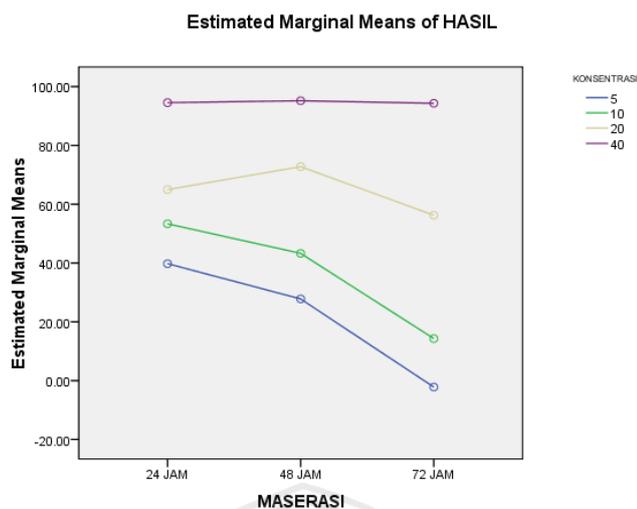
Faktor konsentrasi juga memiliki perbedaan yang signifikan (sig = 0.000) sehingga dilakukan uji BNT yang disajikan dalam Tabel 12.

Tabel 12. Uji BNT Perlakuan 2 (Konsentrasi)

<i>Multiple Comparisons</i>						
Hasil Aktivitas Antioksidan BNT						
(I) Konsentrasi (ppm)	(J) Konsentrasi (ppm)	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	<i>Sig.</i>	<i>95% Confidence Interval</i>	
					<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
5	10	-15.1738*	0.94887	<b>0.000</b>	-17.1321	-13.2154
	20	-42.8722*	0.94887	<b>0.000</b>	-44.8306	-40.9139
	40	-72.8971*	0.94887	<b>0.000</b>	-74.8555	-70.9388
10	5	15.1738*	0.94887	<b>0.000</b>	13.2154	17.1321
	20	-27.6985*	0.94887	<b>0.000</b>	-29.6568	-25.7401
	40	-57.7234*	0.94887	<b>0.000</b>	-59.6817	-55.7650
20	5	42.8722*	0.94887	<b>0.000</b>	40.9139	44.8306
	10	27.6985*	0.94887	<b>0.000</b>	25.7401	29.6568
	40	-30.0249*	0.94887	<b>0.000</b>	-31.9833	-28.0665
40	5	72.8971*	0.94887	<b>0.000</b>	70.9388	74.8555
	10	57.7234*	0.94887	<b>0.000</b>	55.7650	59.6817
	20	30.0249*	0.94887	<b>0.000</b>	28.0665	31.9833

\*. *The mean difference is significant at the .05 level.*

Dari Hasil uji BNT pada Tabel 12 dan hasil uji HSD (Lampiran 7) menunjukkan bahwa semua konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm pada sampel daun *S. caseolaris* berbeda secara signifikan terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan. Adanya perbedaan secara signifikan ditunjukkan dari nilai sig dari tiap perlakuan adalah  $< 0.05$ . Berdasarkan nilai *mean difference* yang merupakan nilai persen inhibisi, maka konsentrasi yang memiliki pengaruh tertinggi terhadap hasil aktivitas antioksidan daun *S. caseolaris* adalah konsentrasi 40 ppm. Semakin tinggi konsentrasi uji maka akan semakin bagus hasil aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *S. caseolaris*. Interaksi antar perlakuan (waktu maserasi dan konsentrasi) yang berbeda disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi

Dari Gambar 10 dapat disimpulkan bahwa faktor yang paling berpengaruh yaitu konsentrasi 40 ppm dan perlakuan lama waktu maserasi 24 jam yang memiliki potensi antioksidan yang paling tinggi. Masrifah et al. (2017) menyatakan bahwa lama waktu ekstraksi dan konsentrasi memiliki pengaruh terhadap hasil antioksidan. Semakin tinggi konsentrasi maka persentase penghambatan terhadap radikal bebas juga semakin tinggi sehingga potensi aktivitas antioksidan akan semakin meningkat, sedangkan waktu ekstraksi akan memberikan hasil yang maksimal ketika waktu maserasi yang dilakukan secara optimal.

## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian efektifitas lama waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak daun mangrove *S.caseolaris* dari pesisir pantai Serang kabupaten Blitar adalah sebagai berikut :

1. Perlakuan lama waktu maserasi berpengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan. Perlakuan lama waktu maserasi 24 jam memberikan hasil aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lama waktu maserasi 48 jam dan 72 jam.
2. Perlakuan konsentrasi berpengaruh terhadap hasil aktivitas antioksidan daun *S.caseolaris*. Konsentrasi 40 ppm merupakan konsentrasi yang paling besar aktivitas antioksidannya dibandingkan dengan 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm.
3. Ada interaksi antara waktu maserasi dengan konsentrasi, waktu maserasi 24 jam dengan konsentrasi 40 memiliki interaksi yang paling tinggi antioksidannya dibandingkan dengan yang lainnya.

### 5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya mungkin bisa melanjutkan dengan menghasilkan suatu produk dari daun mangrove yang kaya akan antioksidan sehingga bermanfaat bagi masyarakat sekitar. Tetap menjaga kawasan mangrove dengan pemanfaatan yang bertanggung jawab.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, Sukandar, D., Muawannah, A., 2015. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *J. Kimia Val. J. Penelitian Dan Pengembangan Ilmu Kimia*. 2 (1), 130–136.
- Amellinda, E., Widarta, I.W.R., Darmayanti, L.P.T., 2018. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). *J. Ilmu Dan Teknol. Pangan*. 4 (7), 165–174.
- Damanik, Desta Donna Putri ., Surbakti, Nurhayati., Hasibuan, Rosdanelli. 211. Ekstraksi Katekin Dari Daun Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb) Dengan Metode Maserasi. *J. Teknik Kimia Usu*. 3 (2), 10-14.
- Damayanthi, E., Kustiyah, L., Khalid, M., Farizal, H., 2010. Aktivitas Antioksidan Bekatul Lebih Tinggi Daripada Jus Tomat Dan Penurunan Aktivitas Antioksidan Serum Setelah Intervensi Minuman Kaya Antioksidan. *J. Nutrition Food*. 3 (5), 201–210.
- Dewitasari, W.F., Rumiyanthi, L., Rakhmawati, I., 2017. Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun Sansevieria Sp. *J. Penelitian Pertanian Terapan*, 3 (17), 197–202.
- Diantika, F., Sutan, S., Yulianingsih, R., 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (*Theobroma Cacao*). *J. Teknologi Pertanian*. 3 (15), 159–164.
- Dimitrios, B., 2006. Sources Of Natural Phenolic Antioxidants. *Trend Food J. Science Technology*. 17 , 505–512.
- Fauzana, Dianita Laila., 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi Dan Reperkolasi Terhadap Rendemen Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.). Fakultas teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Halidah, Safruddin, Anwar, C., 2008. Potensi Dan Ragam Pemanfaatan Mangrove Untuk Pengelolaannya Di Sinjai Timur, Sulawesi Selatan (Mangrove Potencies And Various Utilization For Forest Management In East Sinjai, South Sulawesi). *J. Penelitian Dan Konservasi Alam*. 1(5), 67–78.
- Hani, Rani Cyinthia., Milanda, Tiana. Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia. *J. Farmaka*. 14 (1), 184 -190.
- Hardiningtyas, Safrina Dyah., Purwaningsih, Sri., Handharyani, Ekowati., 2014. Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *JPHPI*. 17 (1) : 80 – 91.
- Hasanah, Mauzitul., Maharani, Bella., Munarsih, Ensiwi., 2017. Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Pereaksi Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)., *IJPST*. 4 (2), 42 – 49

- Ismail, J., Runtuwene, M., R., Fatimah, F., 2012. Penentuan Total Fenolik Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Biji Dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca Vestitaria Giseke*). *J. Ilmu Sains*, 12 (12), 201 -209.
- Kasitowati, Rarasrum Dyah., Yamindago, Ade., Safitri, Mila., 2017. Potensi Antioksidan Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora Mucronata*, Pilang Probolinggo. *J. Fisheries And Marine Science*. 1 (1), 72-77
- Katrin., Bendra, Atika., 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharm Sci Res*. 2(1), 21 – 31.
- Khairan, Kuntum. 2010. Menangkal radikal Bebas dengan Antioksidan. *J. Sainstek*. 2(2), 183 – 187.
- Kuntorini, E.M., Astuti, M.D., Milina, N., 2011. Struktur Anatomi Dan Kerapatan Sel Sekresi Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb) Asal Kecamatan Pengaron Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. *Bioscientiae*. 1 (8), 28–37.
- Lung, Jackie Kang Sing., Destiani, Dika Pramita. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka Suplemen*. 15 (1), 53 – 62.
- Manalu, Ruth Dwi Elsa., Salamah, Ella., Retiaty, Fifi., Kurniawati, Fifi., 2013. Kandungan Zat Gizi Makro Dan Vitamin Produk Buah Pedada (*Sonneratia Caseolaris*) (Macronutrient And Vitamin Contents Of Pedada's Fruit Products). *Penelitian Gizi dan Makanan*. 36 (2):135-140.
- Masrifah., Rahman, Nurdin., Abram, Paulus Hengky., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Kulit Labu Air (*Lagenaria Siceraria* (Molina) Standl.). *J. Akademi Kimia*. 6(2): 98-106.
- Maulida, F.P., Hairrudin, Sakinah, Elly N., 2016. Aktivitas Hepatoprotektor Cuka Apel "A" Terhadap Kadar Sgot Dan Sgpt Serum Tikus Wistar Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik (Hepatoprotector Activities Of "A" Apple Vinegar To Sgot And Sgpt Serum In Wistar Rats Induced By Toxic Dose Of Paracetamol). *E-J. Pustaka Kesehatan*. 4 (3), 603–607.
- Muharni, Elfita, Amanda, 2013. Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon Dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia Xanthochymus*). Prosiding. Semirata Fmipa Univ. Lampung.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kesehatan*. 7(2), 361 -367
- Mulyani, Yeni., Bachtiar, Eri., A, Kurnia Untung M., 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan mas (*Cyprinus caprio*). *J. Akuatika*. 4(1), 1 – 9.
- Nainggolan, Bonifasius, M., H., 2009. Perbandingan Uji Tukey (Uji Beda Nyata Jujur (Bnj)) Dengan Uji Fisher (Uji Beda Nyata Terkecil (Bnt)) Dalam Uji Lanjut Data Rancangan Percobaan. *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara*. Edisi 7., 17- 11.



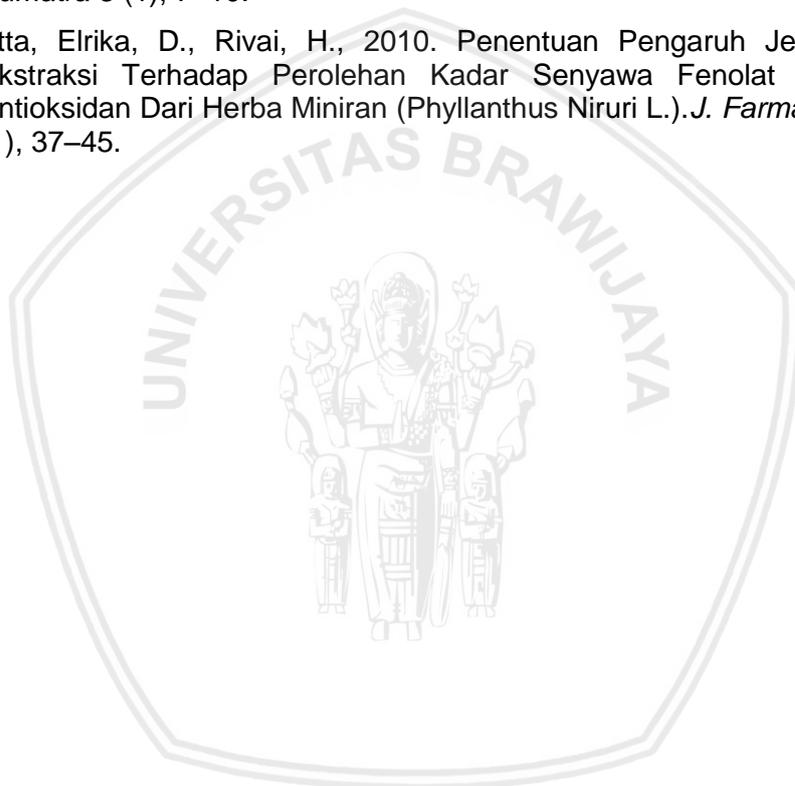
- Ningsih ,Gati., Utami, Shela Ratri., Nugrahan., Ratri Ariatmi., 2015. Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur.*KONVERSI*. 4 (1) , 8 -16.
- Noor, R., Y., M, K., Suryadiputra, 2009. Panduan Pengenalan Mangrove Di Indonesia.Phka/Wi-Ip, Bogor.
- Nugroho, Anzar Zaki., 2018. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Bioaktif Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Dan Kulit Batang *Sonneratia Caseolaris* Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar Jawa Timur. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.Skripsi
- Pratiwi, I., 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha Indica* Terhadap Bakteri *Salmonella Choleraesuis* Dan *Salmonella Thypimurium*.*Skripsi jurusan Biologi Fmipa Uns Surakarta*.
- Purwaningsih, Sri., 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*Cerithidea obtusa*).*J.Ilm Kelautan*. 17 (1),39-48.
- Purwanti, R.D., Dona Dinda, P., Rinaldi, A., 2016. Pengaruh Pembelajaran Berbatuan Geogebra Terhadap Pemahaman Konsep Matematis Ditinjau Dari Gaya Kognitif.*J. Pendidikan Matematika*. 1 (7), 115–122.
- Purwanto, D., Bahri, S., Ridhay, A., 2017.*Antioxidant Activity Test Of Purnajiwa (Kopsia Arborea Blume.) Fruit Extract With Various Solvents. J. Kovalen*. 3(1), 24-32.
- Puspitasari, Anita Dwi., Prayogo, Lean syam. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura*).*J.Ilmiah Cendekia Eksakta*. 1(2) ,1-8.
- Putri, A.A.S., Hidajati, N., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus Moluccensis*). *Unesa J. Chemistry*. 4 (1), 1–6.
- Rahim, A.C., Bakar, M.F.A., 2018. Pidada—*Sonneratia Caseolaris*. Acad. Press 327–332.
- Riansyah, Angga., Supriadi, Agus., Nopianti, Rodiana., 2013. Pengaruh Perbedaan Suhu Dan Waktu Pengeringan Terhadap Karakteristik Ikan Asin Sepat Siam (*Trichogaster Pectoralis*) Dengan Menggunakan Oven.*J.Fistech*.2(1),53 -68
- Rivai, H., Widiya, E., Rusdi, 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total Dan Daya Antioksidan Dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*). *J. Sains Dan Technology Farmacy*. 18 (1), 35–42.
- Rufino, M.S.M., Fernandes, F.A.N., Alves, R.E., Brito, E.S. De, 2009. Free Radical-Scavenging Behaviour Of Some North-East Brazilian Fruits In A Dpph System. *J. Food Chemistry*. 114, 693–695.
- Saifuddin, A., 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder, 1. Deepublish, Jalan Elang 6, No 3, Drono, Sardonoarjo, Ngaglik, Sleman.



- Salamah, N., Widyasari, E., 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *J. Pharmacia*. 5 No.1, 25–34.
- Sayuti, K., Yenrina, R., 2015. Antioksidan,, Alami Dan Sintetik. Andalas University Press, Jl. Situjuh No. 1, Padang 25129,.
- Sayuti, M., 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (Isis Hippuris). *J. Technoloy Science Eng.* 166–174.
- Shah, M.A., Bosco, S.J.D., Mir, S.A., 2014. Plant Extracts As Natural Antioxidants In Meat And Meat Products.
- Singh, P., Kesharwani, R.K., Keservani, R.K., 2017. Antioxidants And Vitamins: Roles In Cellular Function And Metabolism, In: Sustained Energy For Enhanced Human Functions And Activity. Pp. 385–407.
- Soenardjo, N., Supriyanti, E., 2017. Analisis Kadar Tanin Dalam Buah Mangrove *Avicennia Marina* Dengan Perebusan Dan Lama Perendaman Air Yang Berbeda. *J. Kelautan Tropis.* 20(2), 90–95.
- Songklanakarini, 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) For Estimating Antioxidant Activity. *J Science Technology* 26(2), 211–219.
- Sunarni, T., 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *J. Farmasi Indonesia.* 18(3), 53–61.
- Suryadinata, Rivan Virlando. 2018. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). 317 – 324.
- Usrina, Nura., Anggraeni, Renny., Isya, M., 2017. Analisa Karakteristik Tarikan Pergerakan Pengunjung Kedai Kopi Di Kota Banda Aceh Berdasarkan Tata Guna Lahan *J. Teknik Sipil Universitas Syah Kuala.* 1 (2), 431-440.
- Umayah, S., Gunawan, H., Isda, M.N., 2016. Tingkat Kerusakan Ekosistem Mangrove Di Desa Teluk Belitung Kecamatan Merbau Kabupaten Kepulauan Meranti. *J. Riau Biol.* 1(4), 24–30.
- Utami. 2009. Potensi daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Teknik Pertanian.* 2(1) : 58-64
- Utami, Inta Resty., Orbayinah, Salmah., 2013. Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa* L. terhadap Kadar Kolesterol Total Perokok Aktif. *Mutiara Medika.* 3.(3): 167-172.
- Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *J. Biotek Medisiana Indonesia.* 3.(2), 59–68.
- Wijaya, D.P., Paendong, J.E., Abidjulu, J., 2014. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Daun Nasi ( *Phrynium Capitatum* Dengan Metode Dpph 1,1 Difenil 2 Pikrilhidrazil. *J. Mipa Unsrat Online.* 3(1), 11–15.
- Wulansari, Anisa Nur., 2018. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai antioksidan Alami : Review. *J. Farmaka.* 16(2), 419 -428



- Yulianingtyas, Aning., Kusmartono, Bambang., 2016. Optimasi Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flaonoid Daun Blimbing Wuluh *Averhoa Belimbi*. *J. Teknik Kimia*.10 (2), 58-64.
- Yunus, R., Alimuddin, A.H., Ardiningsih, P., 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jkk* 3 (3), 19–24.
- Zipcodezoo, 2018. *Sonneratia Caseolaris*. Url [Http://Zipcodezoo.Com/Index.Php/Sonneratia\\_Caseolaris](http://Zipcodezoo.Com/Index.Php/Sonneratia_Caseolaris). Diakses pada 10 Desember 2018.
- Zuhra, C.F., Tarigan, J., Sihotang, H., 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus Androgunus* (L) Merr.). *J. Biol. Sumatra* 3 (1), 7–10.
- Zulharmitta, Erika, D., Rivai, H., 2010. Penentuan Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat Dan Daya Antioksidan Dari Herba Miniran (*Phyllanthus Niruri* L.). *J. Farmasi Higea*. 2 (1), 37–45.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Perhitungan Persentase Rendeman Ekstrak

a. Rumus

$$\frac{\text{Berat hasil ekstraksi}}{\text{Beratawal}} \times 100 \%$$

b. Persentase hasil ekstraksi waktu maserasi 24 jam

$$\frac{6.28}{200} \times 100 \% = 3.14 \%$$

c. Persentase Hasil Ekstraksi waktu maserasi 48 jam

$$\frac{5.47}{200} \times 100 \% = 2.74 \%$$

d. Persentase Hasil Ekstraksi Waktu Maserasi 72 jam

$$\frac{7.35}{200} \times 100 \% = 3.68 \%$$



Lampiran 2. Perhitungan DPPH dan Pengenceran kontrol positif dari asam askorbat

- a. Perhitungan pembuatan DPPH 0.05 mM sebanyak 50 ml (Mr DPPH = 394 gr/mol)

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Bobot}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{Volume}}$$

$$0.05 \text{ mM} = \frac{\text{Bobot DPPH}}{394} \times \frac{1000}{50}$$

$$\text{Bobot DPPH} = \frac{0.5 \times 394 \times 50}{1000}$$

$$\text{Bobot DPPH} = 9.85 \text{ mg}$$

Jadi, larutan DPPH dengan konsentrasi 0.05mM dibuat dengan cara melarutkan 9.85 mg DPPH kedalam 50 ml pelarut metanol.

- b. Larutan Standar kontrol positif konsentrasi 1000 ppm sebanyak 10 ml sebagai kontrol positif

- Larutan stok 1000 ppm =  $\frac{1000}{1 \text{ liter}} \times \frac{1 \text{ liter}}{1000} \times 10 \text{ ml}$   
= 10 mg

Jadi, larutan Standar kontrol positif konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan cara melarutkan 10 mg asam askorbat kedalam 10 ml pelarut metanol

- c. Larutan konsentrasi uji kontrol positif sebanyak 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm

- Larutan kontrol positif konsentrasi 2 ppm =

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M1 \times 1000 \text{ ppm} = 2 \times 3 \text{ ml}$$

$$M1 = \frac{3 \times 2}{1000}$$

$$M1 = 0.006 \text{ ml}$$

Jadi, larutan kontrol positif dengan konsentrasi 2 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.006 ml dari larutan standar kontrol

positif 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml.

- Larutan kontrol positif konsentrasi 4 ppm =

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M1 \times 1000 \text{ ppm} = 4 \times 3 \text{ ml}$$

$$M1 = \frac{4 \times 3}{1000}$$

$$M1 = 0.012 \text{ ml}$$

Jadi, larutan kontrol positif 4 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.012 ml dari larutan standar kontrol positif 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml.

- Larutan kontrol positif konsentrasi 6 ppm =

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M1 \times 1000 \text{ ppm} = 6 \times 3 \text{ ml}$$

$$M1 = \frac{6 \times 3}{1000}$$

$$M1 = 0.018 \text{ ml}$$

Jadi, larutan kontrol positif konsentrasi 6 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.018 ml dari larutan standar kontrol positif 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml.

- Larutan kontrol positif konsentrasi 8 ppm =

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M1 \times 1000 \text{ ppm} = 8 \times 3 \text{ ml}$$

$$M1 = \frac{8 \times 3}{1000}$$

$$M1 = 0.024 \text{ ml}$$

Jadi, larutan kontrol positif 6 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.024 ml dari larutan standar kontrol positif 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml.



## Lampiran 3. Pengenceran Ekstrak Sampel

- Larutan Stok Ekstrak Sampel 1000 ppm =

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok ekstrak sampel 1000 ppm} &= \frac{1000}{1 \text{ liter}} \times \frac{1 \text{ liter}}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, larutan Stok ekstrak 1000 ppm dibuat dengan cara melarutkan 10 mg sampel kedalam 10 ml pelarut metanol.

- Larutan ekstrak 5 ppm =

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ M_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 5 \times 3 \text{ ml} \\ M_1 &= \frac{5 \times 3}{1000}\end{aligned}$$

$$M_1 = 0.015 \text{ ml}$$

Jadi, larutan ekstrak 5 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.015 ml dari larutan stok sampel 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml.

- Larutan ekstrak 10 ppm =

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ M_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \times 3 \text{ ml} \\ M_1 &= \frac{10 \times 3}{1000}\end{aligned}$$

$$M_1 = 0.03 \text{ ml}$$

Jadi, larutan ekstrak 10 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.030 ml dari larutan stok sampel 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml.

- Larutan ekstrak 20 ppm =

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M1 \times 1000 \text{ ppm} = 20 \times 3 \text{ ml}$$

$$M1 = \frac{20 \times 3}{1000}$$

$$M1 = 0.06 \text{ ml}$$

Jadi, larutan ekstrak sampel 20 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.060 ml dari larutan stok sampel 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml

- Larutan ekstrak 40 ppm =

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M1 \times 1000 \text{ ppm} = 40 \times 3 \text{ ml}$$

$$M1 = \frac{40 \times 3}{1000}$$

$$M1 = 0.12 \text{ ml}$$

Jadi, larutan ekstrak sampel 40 ppm dibuat dengan cara mengambil 0.120 ml dari larutan stok sampel 1000 ppm kemudian ditambahkan metanol hingga volume mencapai 3 ml

Lampiran 4. Nilai Absorbansi Sampel, Persentase Inhibisi, Blanko dan Kontrol positif

Rumus persentase inhibisi :

$$\%inhibisi = \frac{(\text{Rata - rata blanko}) - (\text{rata - rata absorbansi})}{\text{rata - rata blanko}} \times 100$$

• Nilai absorbansi sampel

Perlakuan 1 Waktu maserasi (jam)	Perlakuan 2 Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi (A)			Rata-rata	%Inhibisi (%)
		Pengulangan				
		1	2	3		
24	5	0.904	0.888	0.878	0.890	39.779
	10	0.708	0.676	0.685	0.690	53.332
	20	0.534	0.502	0.517	0.518	64.967
	40	0.074	0.080	0.088	0.081	94.541
48	5	1.019	1.055	1.127	1.067	27.792
	10	0.885	0.836	0.794	0.838	43.270
	20	0.358	0.401	0.448	0.402	72.773
	40	0.068	0.071	0.074	0.071	95.195
72	5	1.535	1.477	1.518	1.510	-2.188
	10	1.270	1.294	1.235	1.266	14.302
	20	0.675	0.613	0.651	0.646	56.260
	40	0.085	0.084	0.082	0.084	94.338

• Nilai absorbansi Blanko

Blanko	Nilai Absorbansi (A)
1	1.520
2	1.501
3	1.412
Rata-rata	1.478

• Nilai Absorbansi Kontrol Positif Asam Askorbat

Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi (A)		
	Pengulangan		
	1	2	3
2	0.676	0.775	0.534
4	0.475	0.480	0.326
6	0.640	0.313	0.166
8	0.035	0.035	0.037

Lampiran 5. Nilai Perhitungan Uji Kuantitatif Antioksidan

- Hasil Persamaan regresi Linier dan Nilai IC 50

	Ekstrak daun <i>S.caseolaris</i> waktu maserasi 24 jam	Ekstrak daun <i>S.caseolaris</i> waktu maserasi 48 jam	Ekstrak daun <i>S.caseolaris</i> waktu maserasi 72 jam
Nilai Kurva Regresi Linier	$Y=1.497x + 35.07$	$Y= 1.882x + 24.45$	$Y=2.754x - 10.97$
Nilai IC 50	9.973	13.576	22.138

- Nilai IC<sub>50</sub> waktu maserasi 24 jam

$$y = 1.497x + 35.07$$

$$50 = 1.497x + 35.07$$

$$\frac{50 - 35.07}{1.497} = X$$

$$x = 9.973$$

- Nilai IC<sub>50</sub> waktu maserasi 48 jam

$$y = 1.882x + 24.45$$

$$50 = 1.882x + 24.45$$

$$\frac{50 - 24.45}{1.882} = X$$

$$x = 13.576$$

- Nilai IC<sub>50</sub> waktu maserasi 72 jam

$$y = 2.754x - 10.97$$

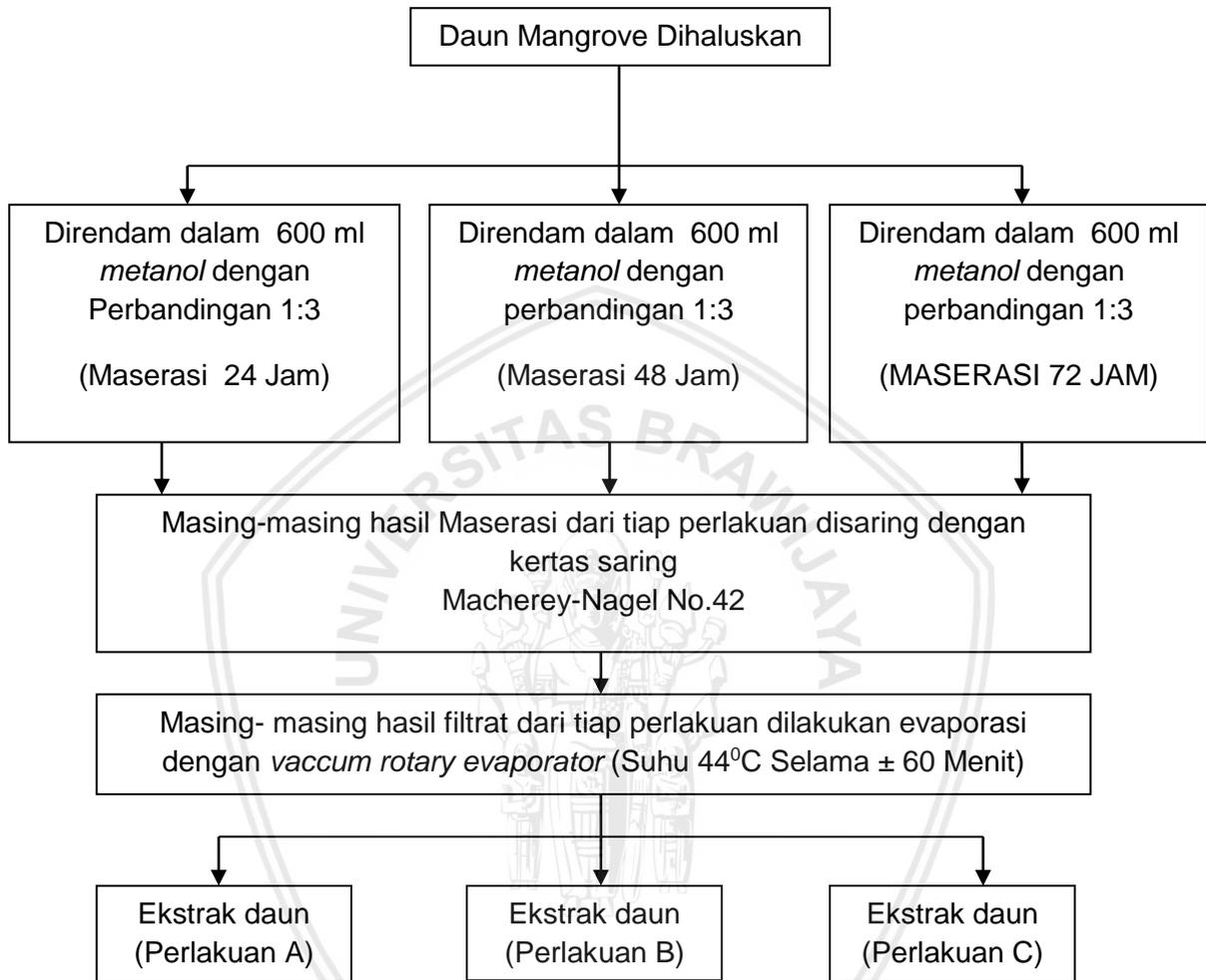
$$50 = 2.754x - 10.97$$

$$\frac{50 + 10.97}{2.754} = X$$

$$x = 22.138$$



Lampiran 6. Alur Proses Ekstraksi



Lampiran 7. Hasil Uji HSD

a. Hasil uji HSD dari perlakuan lama waktu maserasi

Tukey HSD

Maserasi (Jam)	N	Subset		
		1	2	3
72	12	40.6779		
48	12		59.7574	
24	12			63.1546
Sig.		1.000	1.000	1.000

b. Hasil Uji HSD perlakuan konsentrasi

Tukey HSD

Konsentrasi (ppm)	N	Subset			
		1	2	3	4
5	9	21.7942			
10	9		36.9679		
20	9			64.6664	
40	9				94.6913
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000



Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian



Lokasi pengambilan Sampel



Pencucian sampel



Proses penghalusan sampel



Proses Pengambilan Sampel



Proses pengeringan sampel



Sampel yang dihaluskan



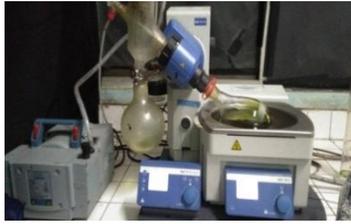
Daun *S. caseolaris*



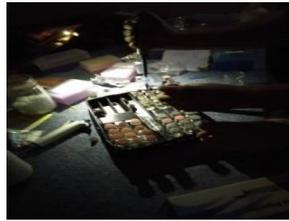
Pengeringan sampel



Penyaringan hasil maserasi



Proses evaporasi



Proses pengujian antioksidan dengan DPPH



Hasil uji perlakuan maserasi 24 jam



Hasil uji antikosidan maserasi 48 jam



Hasil uji antioksidan maserasi 72 jam



Larutan stok sampel 1000 ppm

