



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN DAN KULIT
BATANG *Rhizophora mucronata* DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-
picrylhydrazyl) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA AKTIF
DARI PERAIRAN PILANG, KOTA PROBOLINGGO**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

Oleh:

**MILA SAFITRI RIZFA
NIM. 135080601111076**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2017



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN DAN KULIT
BATANG *Rhizophora mucronata* DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-
picrylhydrazyl) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA AKTIF
DARI PERAIRAN PILANG, KOTA PROBOLINGGO**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

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

Oleh:
MILA SAFITRI RIZFA
NIM. 135080601111076



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2017



SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN DAN KULIT
BATANG *Rhizophora mucronata* DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA KIMIA AKTIF
DARI PERAIRAN PILANG, KOTA PROBOLINGGO

Oleh:
MILA SAFITRI RIZFA,
NIM. 135020601111076

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 15 Juni 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

DEFRI YONA, S.Pi., M.Sc. Stud., D.Sc
NIP. 19781229 200312 2 002
Tanggal: 18 JUL 2017

Menyetujui
Dosen Pembimbing I

FENI IRANAWATI, S.Pi., M.Si., Ph.D
NIP. 19740512 200312 2 001
Tanggal: 18 JUL 2017

Dosen Penguji II

SYARIFAH HIKMAH J.S., S.Pi., M.Sc
NIP. 19840720 201404 2 001
Tanggal: 18 JUL 2017

Dosen Pembimbing II

FARASRUMI DYAH K., S.Kel., M.Sc., M.Si
NIK. 2013048609152001
Tanggal: 18 JUL 2017



Mengetahui,
Ketua Jurusan FSPK

DR. T. DADUK SETYOADI, MP
NIP. 19630608 198703 1 003
Tanggal: 18 JUL 2017



**DAFTAR RIWAYAT HIDUP DOSEN PENGUJI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FPIK – UB**

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Defri Yona, S.Pi., M.Sc.Stud., D.Sc.
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	781229 200312 2 002
5	NIDN	0029127801
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Solok, 29 Desember 1978
7	E-mail	defri.yona@ub.ac.id , yo_nae@yahoo.com
8	Nomor Telepon/HP	0812 5298 8263
9	Alamat Kantor	Jl. Veteran Malang
10	Nomor Telepon/Faks	(0341) 553512/(0341) 557837
11	Lulusan yang telah dihasilkan	S-1=0 orang; S-2= 0 orang; S-3= 0 orang
12	Mata Kuliah yang diampu	- Pencemaran laut
		- Oseanografi
		- Oseanografi Kimia
		- Oseanografi Laut Dalam
		- Akustik Kelautan
		- Akustik Kelautan Lanjutan
		- Instrumentasi Kelautan
		- Perubahan Iklim dan Ekosistem Laut

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	Institut Pertanian Bogor	The University of Newcastle, Australia	Pukyong National University, South Korea
Bidang Ilmu	Ilmu dan Teknologi Kelautan	Marine Science	Oceanography Marine Organic Chemistry
Tahun Masuk-Lulus	1997-2002	2007-208	2010-2014
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi	Struktur komunitas moluska dihubungkan dengan pasang surut pada habitat mangrove Benoa, Bali	Comparison of Fish Assemblage Structure Using Baited Underwater Remote Video Stations (BRUVS) among Three Different Beach Types on the Central Coast Region, New South Wales	Diversity of Cyanobacteria <i>Synechococcus</i> spp. based on DNA analysis and phycoerythrin chromophores in the East Sea,



Nama Pembimbing/ Promotor	1. Ir. Widodo 2. Dr.Ir. Joko Purwanto	Prof. William Gladstone	Korea Prof. Park Mi Ok
------------------------------	--	-------------------------	---------------------------

C. Pengalaman Penelitian dalam 5 tahun terakhir

PENGALAMAN PENELITIAN

Tahun	Judul Penelitian	Posisi Anggota	Sumber Dana
2015	Perubahan Iklim dan perubahan komposisi makanan ikan lemuru (<i>Sardinella lemuru</i>) di Selat Bali dalam hubungannya dengan kandungan omega-3 sebagai pendukung ketahanan pangan	Anggota	PUPT DIKTI- Rp. 90.000.000
2015	Analisa Kimia pada jenis endapan yang berbeda dihubungkan dengan factor hidro-oseanografi di Perairan Pacitan	Ketua	BOPTN-FPIK- Rp. 15.000.000

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 tahun terakhir

PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Tahun	Jenis>Nama Kegiatan	Tempat
2015	Pengabdian Kepada Masyarakat dengan memberikan tinjauan dan rekomendasi terhadap buku rapat kerja kelompok dewan ketahanan pangan Kabupaten Malang "Penguatan Peran dan Fungsi Dewan Ketahanan Pangan untuk Meningkatkan Kemandirian Pangan"	FPIK-UB
2015	Pengabdian Kepada Masyarakat melalui kegiatan sosialisasi Pembacaan Peta Zona Potensi Penangkapan Ikan di Pelabuhan Perikanan Nusantara (PPN) Prigi, Trenggalek, Jawa Timur	PPN Prigi Trenggalek

KARYA ILMIAH

Tahun	Judul	Penerbit/Jurnal
2014	Distribution of <i>Synechococcus</i> and its phycoerythrin pigment in relation to the environmental factors in the East Sea, Korea	Ocean Science Journal (2014) 49 (4) 367-382
2015	Pola distribusi musiman <i>Synechococcus spp.</i> di Laut Timur, Korea	Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan V Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya



E. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 tahun terakhir

Tahun	Nama Pertemuan Ilmiah/ Seminar	Tempat
2013	Autumn Meeting of the Korean Society of Oceanography in Hanyang University-Seoul South Korea	Seoul-South Korea

F. Karya Buku dalam 5 tahun terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1				

G. Perolehan HKI dalam 5/10 tahun terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1				

H. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/ Rekayasa Sosial lainnya 5 tahun terakhir

No	Judul/Tema/Rekayasa Sosial lainnya yang diterapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat
1				
2				
3				
dst				

I. Penghargaan dalam 10 tahun terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1			
2			
3			
dst			

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak- sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Defri Yona, S.Pi., M.Sc.Stud., D.Sc.
NIP. 19781229 200312 2 002



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Syarifah Hikmah Julinda Sari, S.Pi, M.Sc
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Tenaga Pengajar
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	19840720 201404 2 001
5	NIDN	0020078403
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Pekanbaru, 20 Juli 1984
7	E-mail	syarifahsari@ub.ac.id
8	Nomor Telepon/HP	081215536200
9	Alamat Kantor	Jl. Veteran Malang
10	Nomor Telepon/Faks	(0341) 553512/(0341) 557837
11	Lulusan yang telah dihasilkan	S-1= >3 orang; S-2= 0 orang; S-3= 0 orang
12	Mata Kuliah yang diampu	- Pencemaran laut
		- Bioteknologi Kelautan
		- Oseanografi Kimia
		- Mikrobiologi Laut
		- Statistika
		- Biologi Laut Tropis Botani

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	Institut Pertanian Bogor	Asian Institute of Technology	-
Bidang Ilmu	Ilmu dan Teknologi Kelautan	Environmental Engineering and Management	-
Tahun Masuk-Lulus	2002-2007	2008-2010	-
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi	Kemampuan Degradasi hidrokarbon minyak bumi di sedimen oleh	Detection of copper (II) ion in aqueous environment employing Pyrazolidine Luminol (PL)	-
Nama Pembimbing/Promotor	3. Prof. Harpasis S. Sanusi 4. Dr.Ir. Andreas Dwi Santosa, M.Sc	1. Dr. Preeda Prarkpi	-



			an 2. SrungSmanm oo, PhD
--	--	--	--------------------------------

C. PengalamanPenelitiandalam 5 tahunterakhir
(BukanSripsi, TesismaupunDisertasi)

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (JutaRp)
1	2013	Respon makro fauna bentik (<i>Mytilus sp.</i>) terhadap logam berat sebagai salah satu sumber anthropogenik stres di Perairan Sidoarjo, Jawa Timur	PUPT-DIKTI	50
2	April - Juli 2013	Kajian Populasi Kerang Hijau (<i>Perna Viridis L.</i>) Dan Keterkaitannya Dengan Kualitas Lingkungan Di Wilayah Pesisir Tuban, Desa Jenu, Kabupaten Tuban	DPP SPP Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UB	3.2
3	2014	Pendugaan Agen Spesies Mangrove Pada Teknologi Fitoremediasi Sebagai Inhibitor Pencemaran Logam Berat Di Muara Sungai Porong, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur	Penelitian Hibah Bersaing - DIPA Universitas Brawijaya	50
4	2015	Pendekatan Filogeni dan Variabilitas Lingkungan sebagai Penduga Unit Manajemen Perikanan Tuna Sirip Biru (<i>Blue Fin Tuna/ Thunnus maccoyi</i>) di Perairan Selatan Jawa	PUPT - DIKTI	96

D. PengalamanPengabdianKepadaMasyarakatdalam 5 tahunterakhir

Tahun	Jenis/Nama Kegiatan	Tempat
2012	Aplikasi Alat Pengumpul Kerang Hijau (<i>Perna Viridis,L.</i>) Di Perairan Tuban, Jawa Timur	Desa Jenu, Kab. Tuban
2013	Penentuan zona mitigasi dan analisa dampak tsunami di wilayah pesisir Sendang Biru Malang Selatan	Sedang Biru
2014	Desain dan teknik pemasangan alat pengumpul kerang hijau (<i>pernaviridis L.</i>) sebagai upaya peningkatan kesejahteraan masyarakat sekitar	Tuban



	mangrove center tuban	
--	-----------------------	--

E. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam 5 tahun terakhir

Tahun	Judul	Penerbit/Jurnal
2011	Biodegradation Capability on Crude Oil Hydrocarbon Contaminated Sediment by using <i>Klebsiella</i> sp. ICBB 7866	Proceedings of 3rd International Conferences and Workshops on Basic and Applied Sciences 2011 ISBN : 928-979-19096-1-7
2011	A Simple Detection of Hg(II) down to ppm Level Employinh Rhodamine Hydrazine Impregnated in Solid-Phase Membrane.	<i>J. Chem. Chem. Eng.</i> 5 : 383-392
2013	Study on Heavy Metals Concentrations (Hg and Zn) in The Estuary of Porong River, Sidoarjo, East Java	<i>Proceeding of Indian Ocean & Pacific Conference, Bali, 18-22 Juni 2013.</i>
2014	Concentration of Heavy Metals (Hg and Pb) and their Inter-relation with Physico-Chemical Parameters in the Coastal Waters of Probolinggo East Java.	<i>Proceeding of The 6th Indonesia-Japan Joint Scientific Symposium, Jogjakarta, 29-30 Oktober 2014</i>
2014	Study of Water Quality in Coastal Waters of Mangrove Center Tuban for Application of Green Mussel (<i>Ferna viridis</i> L.) Collecting Gear.	<i>Research Journal of Life Science, 1(2):137-145</i>
2014	Heavy Metals Distribution in The Coastal Water, Sediment and Benthic Fauna! Of Porong Water Sidoarjo East Java, Indonesia.	<i>Proceeding of The 4th International Fisheries Symposium, Surabaya, 30-31 October 2014</i>
2015	Bioconcentration of Heavy Metals Pb and Cu in Mangrove Trees from Sarinah Island Mangrove Ecosystem, Estuary of Porong River, Sidoarjo, East Java.	<i>Proceeding of The 5th Annual Basis Science International Conference, Malang, 11-12 February 2015</i>

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 tahun terakhir



Tahun	Nama Pertemuan Ilmiah/ Seminar	Tempat
2010	Seminar Antarbangsa ke 3 Ekologi, Habitat Manusia dan Perubahan Lingkungan	Pekanbaru
2011	3rd International Conferences and Workshops on "Basic and Applied Sciences"	Surabaya
2013	<i>Proceeding of Indian Ocean & Pacific Conference,</i>	Bali
2014	<i>The 6th Indonesia-Japan Joint Scientific Symposium,</i>	Jogjakarta
2015	<i>The 5th Annual Basis Science International Conference</i>	Malang

G. Karya Bukudalam 5 tahun terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Revitalisasi Pusat Penelitian Lingkungan Hidup Merajut Jejaring Mewujudkan Universitas Riset ISBN 978-979-792-268-9	2011	144	UR Press
3	Applied Statistics for Marine Science (Training Modules)	2012	43	Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UB
5	Modul Teknologi Tepat Guna (TTG): Teknologi Fitoremediasi di Perairan Porong Jawa Timur	2014	25	LPPM UB
2	Ekosistem Mangrove sebagai inhibitor pencemaran logam berat	2015	55	LPPM UB

H. Perolehan HKI dalam 5-10 tahun terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1				
2				
3				
dst				

I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/ Rekayasa Sosial lainnya 5 tahun terakhir

No	Judul/Tema/Rekayasa Sosial lainnya yang diterapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat
1				
2				
3				
dst				



J. Penghargaan dalam 10 tahun terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	
2	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	
3	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya	
dst			

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan proposal penelitian unggulan perguruan tinggi.

Malang, 08 Juli 2015

Syarifah Hikmah Julinda Sari, S.Pi, M.Sc



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 26 Mei 2017

Mahasiswa

Mila Safitri Rizfa

NIM. 135080601111076

UCAPAN TERIMAKASIH

Laporan skripsi mengenai Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang *Rhizophora mucronata* dengan Metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Aktif dari Perairan Pilang, Kota Probolinggo tidak dapat terselesaikan tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat sehat dan iman sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian dan penyusunan laporan skripsi ini.
2. Ibu Feni Iranawati S.Pi, M.Si., Ph.D dan Ibu Rarasrum Dyah Kasitowati S.Kel., M.Sc., M.Si selaku pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan, serta nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan laporan skripsi ini.
3. Kedua orang tua, yaitu Bapak Rizaliansyah dan Ibu Fahria yang telah memberikan semangat, materi, serta doa dan dukungannya selama penelitian hingga penyusunan laporan skripsi.
4. Tim skripsi antioksidan (Fadil, Aji, Ibam, Tanti dan Puspa) yang selalu sabar dan memberikan semangat kepada penulis.
5. Sahabat baik dari keluarga KTGT CCC dan TAKEN yang tidak tersebut namanya selaku orang-orang yang menemani semasa susah dan senang.
6. Teman-teman Ilmu Kelautan 2013 atas segala bentuk bantuan dan dukungan kepada penulis.

RINGKASAN

MILA SAFITRI RIZFA. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang *Rhizophora mucronata* dengan Metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Aktif dari Perairan Pilang, Kota Probolinggo (di bawah bimbingan **FENI IRANAWATI** dan **RARASRUM DYAH KASITOWATI**).

Rhizophora mucronata merupakan mangrove yang memiliki kelimpahan tinggi dan peranan penting di kawasan hutan mangrove Kelurahan Pilang, Probolinggo. Mangrove ini memiliki manfaat sebagai obat tradisional dan kandungan senyawa dari tumbuhan ini salah satunya dapat digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis golongan senyawa kimia aktif dan aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* dengan metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). Pengujian yang digunakan meliputi uji kualitatif dan kuantitatif fitokimia dan uji aktivitas antioksidan. Pengujian ini menggunakan konsentrasi larutan stok 1000 ppm dengan pengenceran 31,25; 62,5; 125, dan 250 ppm.

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* golongan senyawa yang ditemukan meliputi alkaloid, flavonoid dan tanin. Hasil uji kuantitatif fitokimia kandungan senyawa ekstrak metanol daun lebih besar dibandingkan dengan kulit batang, didominasi oleh senyawa flavonoid, sedangkan kandungan senyawa yang mendominasi ekstrak metanol kulit batang yaitu alkaloid dan tanin.

Aktivitas antioksidan diindikasikan dengan perubahan warna larutan uji dari ungu menjadi kuning. Hasil kualitatif uji antioksidan ekstrak daun menunjukkan perubahan warna menjadi kuning pada konsentrasi 62,5; 125, 250 ppm, sedangkan pada konsentrasi 31,25 ppm hanya terjadi pemudaran warna ungu. Ekstrak kulit batang menunjukkan perubahan warna menjadi jingga muda pada semua konsentrasi. Uji kuantitatif aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} , didapatkan nilai tidak terdefinisi pada ekstrak daun yang diduga karena konsentrasi yang digunakan terlalu besar, sedangkan dengan konsentrasi yang sama pada ekstrak kulit batang menunjukkan aktivitas sangat lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 735,439 ppm. Hasil uji kuantitatif kontrol vitamin C menunjukkan aktivitas sangat kuat dengan nilai 4,419 ppm. Berdasarkan hasil penelitian ini diduga masih terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* meskipun tergolong tidak terdefinisi dan sangat lemah dikarenakan pada kedua ekstrak mengandung senyawa golongan fenolik sederhana yang berfungsi sebagai antioksidan seperti flavonoid dan tanin.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT penulis ucapkan, karena atas limpahan rahmat dan anugerah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang *Rhizophora mucronata* dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Aktif dari Perairan Piang, Kota Probolinggo". Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi bab pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan pembahasan, serta penutup.

Penulis sangat menyadari masih banyak kekurangan yang terdapat dalam penyusunan laporan ini, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 2 Mei 2017

Mahasiswa

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Rhizophora mucronata</i>	5
2.2 Senyawa Kimia Aktif	6
2.3 Ekstraksi	7
2.4 Uji Fitokimia	7
2.4.1 Alkaloid	7
2.4.2 Flavonoid	8
2.4.3 Saponin	8
2.4.4 Tanin	9
2.5 Antioksidan	10
2.6 Jenis Antioksidan	10
2.6.1 Antioksidan Sintetik	10
2.6.2 Antioksidan Alami	11
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan	11
BAB III. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Alur Penelitian	16
3.4 Prosedur Kerja	16
3.4.1 Pengambilan Sampel di Lapangan	16
3.4.2 Perlakuan Sampel	19
3.4.3 Ekstraksi Sampel	19
3.4.4 Uji Fitokimia	22
3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan	24
3.5 Analisis Data	26
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Pengukuran Parameter Perairan Habitat <i>R. mucronata</i>	28
4.2 Hasil Ekstraksi Daun dan Kulit Batang <i>R. mucronata</i>	28
4.3 Hasil Uji Golongan Senyawa Kimia Aktif	30
4.3.1 Alkaloid	31
4.3.2 Flavonoid	33
4.3.3 Saponin	36
4.3.4 Tanin	37
4.4 Hasil Uji Antioksidan	40
BAB V. PENUTUP	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi ilmiah <i>R. mucronata</i>	6
Tabel 2. Daftar alat penelitian.....	13
Tabel 3. Daftar bahan penelitian.....	15
Tabel 4. Sifat Antioksidan berdasarkan Nilai IC ₅₀	26
Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Parameter Perairan.....	28
Tabel 6. Hasil Uji Fitokimia Ekstak Metanol Daun & Kulit Batang <i>R. mucronata</i>	31
Tabel 7. Hasil Perhitungan Nilai inhibisi dan IC ₅₀ ekstrak metanol daun dan kulit batang <i>R. mucronata</i>	42
Tabel 8. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan IC ₅₀ kontrol positif Vitamin C.....	42
Tabel 9. Hasil klasifikasi sifat antioksidan.....	43



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Flavonoid.....	8
Gambar 2. Struktur Tanin.....	9
Gambar 3. Mekanisme DPPH Akseptor.....	12
Gambar 4. Alur Penelitian.....	16
Gambar 5. Daun dan kulit batang <i>R. mucronata</i>	17
Gambar 6. Proses preparasi dan ekstraksi sampel.....	21
Gambar 7. Hasil ekstrak (a) kulit batang (b) daun <i>R. mucronata</i>	29
Gambar 8. Reaksi uji dragendrof.....	32
Gambar 9. Hasil uji alkaloid.....	32
Gambar 10. Reaksi pembentukan garam flavilium.....	34
Gambar 11. Hasil uji flavonoid.....	34
Gambar 12. Reaksi uji saponin.....	36
Gambar 13. Hasil uji saponin.....	37
Gambar 14. Reaksi lain dan $FeCl_3$	38
Gambar 15. Hasil uji tanin.....	39
Gambar 16. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif.....	41
Gambar 17. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun dan kulit batang <i>R. mucronata</i>	44
Gambar 18. Grafik aktivitas antioksidan vitamin C.....	44



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Pengambilan Sampel di Lapangan.....	55
Lampiran 2. Preparasi Sampel.....	56
Lampiran 3. Proses Ekstraksi dan Maserasi.....	57
Lampiran 4. Uji Fitokimia.....	58
Lampiran 5. Proses Uji Antioksidan.....	59
Lampiran 6. Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	60
Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi dan DPPH.....	61
Lampiran 8. Perhitungan Nilai Inhibisi.....	64
Lampiran 9. Perhitungan Nilai IC ₅₀	65
Lampiran 10. Tabel ANOVA Persamaan Regresi Linier.....	66
Lampiran 11. Kurva Standar dan Perhitungan Kuantitatif Uji Fitokimia.....	67



RINGKASAN

MILA SAFITRI RIZFA. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Batang *Rhizophora mucronata* dengan Metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Aktif dari Perairan Pilang, Kota Probolinggo (di bawah bimbingan **FENI IRANAWATI** dan **RARASRUM DYAH KASITOWATI**).

Rhizophora mucronata merupakan mangrove yang memiliki kelimpahan tinggi dan peranan penting di kawasan hutan mangrove Kelurahan Pilang, Probolinggo. Mangrove ini memiliki manfaat sebagai obat tradisional dan kandungan senyawa dari tumbuhan ini salah satunya dapat digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis golongan senyawa kimia aktif dan aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* dengan metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). Pengujian yang digunakan meliputi uji kualitatif dan kuantitatif fitokimia dan uji aktivitas antioksidan. Pengujian ini menggunakan konsentrasi larutan stok 1000 ppm dengan pengenceran 31,25; 62,5; 125; dan 250 ppm.

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* golongan senyawa yang ditemukan meliputi alkaloid, flavonoid dan tanin. Hasil uji kuantitatif fitokimia kandungan senyawa ekstrak metanol daun lebih besar dibandingkan dengan kulit batang, didominasi oleh senyawa flavonoid, sedangkan kandungan senyawa yang mendominasi ekstrak metanol kulit batang yaitu alkaloid dan tanin.

Aktivitas antioksidan diindikasikan dengan perubahan warna larutan uji dari ungu menjadi kuning. Hasil kualitatif uji antioksidan ekstrak daun menunjukkan perubahan warna menjadi kuning pada konsentrasi 62,5; 125; 250 ppm, sedangkan pada konsentrasi 31,25 ppm hanya terjadi pemudaran warna ungu. Ekstrak kulit batang menunjukkan perubahan warna menjadi jingga muda pada semua konsentrasi. Uji kuantitatif aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC₅₀, didapatkan nilai tidak terdefinisi pada ekstrak daun yang diduga karena konsentrasi yang digunakan terlalu besar, sedangkan dengan konsentrasi yang sama pada ekstrak kulit batang menunjukkan aktivitas sangat lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 735,439 ppm. Hasil uji kuantitatif kontrol vitamin C menunjukkan aktivitas sangat kuat dengan nilai 4,419 ppm. Berdasarkan hasil penelitian ini diduga masih terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* meskipun tergolong tidak terdefinisi dan sangat lemah dikarenakan pada kedua ekstrak mengandung senyawa golongan fenolik sederhana yang berfungsi sebagai antioksidan seperti flavonoid dan tanin.



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif atau penyakit tidak menular (PTM) merupakan penyebab utama kematian secara global. Berdasarkan data WHO pada tahun 2008 terdapat 57 juta kematian di dunia, dimana sebanyak 36 juta atau hampir dua pertiganya disebabkan oleh penyakit degeneratif (Sembodo, 2015). Contoh penyakit degeneratif yang sering dijumpai ialah penyakit jantung dan kanker.

Penyakit degeneratif dalam tubuh manusia biasanya diawali dengan reaksi oksidasi yang berlebihan. Reaksi ini membuat radikal bebas yang sangat aktif terbentuk dan dapat merusak struktur serta fungsi sel (Riadini, 2015).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, bersifat sangat reaktif dan tidak stabil sehingga cenderung bereaksi dengan molekul lainnya seperti lipid, protein maupun DNA hingga mencapai kestabilan (Trisnantini *et al.*, 2016). Sumber radikal bebas dapat berasal dari sisa hasil metabolisme tubuh dan dari luar tubuh seperti makanan, sinar UV, polutan dan asap rokok (Fitriana *et al.*, 2015).

Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif sel. Tubuh memiliki enzim antioksidan alami yang bekerja mengatasi radikal bebas. Namun bila jumlah radikal bebas yang terbentuk sangat banyak sehingga melampaui kemampuan antioksidan untuk mengatasinya yang menyebabkan ketidakseimbangan, keadaan itulah yang disebut dengan stres oksidatif (Febrinda *et al.*, 2012).

Antioksidan ialah molekul yang dapat menghambat radikal bebas. Ada dua jenis antioksidan yaitu dari bahan sintetis atau alami (Putri *et al.*, 2013).

Antioksidan sintetis yang dibuat dari bahan kimia dianggap kurang aman untuk dikonsumsi dan dapat meningkatkan sifat karsinogennya apabila dikonsumsi



melebihi dosis yang ditetapkan, oleh karena itu antioksidan dengan bahan alami mengalami peningkatan dan dipandang lebih aman karena diperoleh dari ekstrak bahan alami.

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang sangat besar. Salah satunya adalah potensi kelautan dan pesisirnya yaitu tumbuhan mangrove sebagai sumber antioksidan alami. Menurut Amin (2008), sebenarnya antioksidan alami telah lama digunakan secara turun-temurun, namun belum banyak diteliti aktivitas dan kandungan kimia aktifnya. Senyawa kimia aktif yang dihasilkan dari metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid dan lainnya terkandung di dalam bahan tanaman tertentu tidak terkecuali pada mangrove. Senyawa tertentu tersebut dapat menangkal stres oksidatif di tubuh manusia (Febrinda et al. 2012).

Salah satu bakau yang ditemukan di perairan Kelurahan Pilang Probolinggo, Jawa Timur adalah *Rhizophora mucronata*. Menurut Purnobasuki (2005) spesies jenis ini ditemukan sangat melimpah di Pulau Jawa. Wilayah Probolinggo sekitar tahun 2015 mengalami hujan abu dari erupsi gunung Bromo. Peristiwa ini merupakan faktor pembeda dengan wilayah lain yang diduga dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder tumbuhan, tidak terkecuali pada mangrove. Didukung oleh pernyataan Nofiani (2008) bahwa organisme yang kekurangan sistem imun akan menghasilkan metabolit sekunder yang banyak dan bermacam-macam, sehingga dengan meningkatnya hasil metabolit sekunder diduga juga akan menghasilkan senyawa kimia aktif yang berfungsi sebagai antioksidan.

Pemanfaatan mangrove *R. mucronata* di wilayah Pilang populer diolah masyarakat menjadi bahan makanan seperti kopi dan tepung. Eksplorasi kandungan kimia tumbuhan mangrove sangat diperlukan untuk menemukan potensi dan informasi baru bagi masyarakat. Setiap bagian tumbuhan seperti buah, bunga, daun, kulit batang maupun akar diduga memiliki kandungan kimia



aktif yang berfungsi sebagai aktivitas antioksidan. Pengambilan sampel hanya pada bagian daun dan kulit batang berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan peneliti-peneliti sebelumnya, dimana jika ingin menggunakan sampel buah dan bunga hanya didapat dalam setahun sekali, sementara jika menggunakan sampel akar ditakutkan jika sampel akar mati sehingga spesies ini berkurang kelimpahannya. Banerjee *et al.* (2008) telah melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan pada beberapa mangrove di Sundarbans, India. Salah satu spesies yang diuji yaitu *R. mucronata*, di mana sampel diambil dari bagian daun, buah dan kulit batang. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa ekstrak daun, kulit batang dan buah memiliki nilai aktivitas antioksidan yang berbeda.

Potensi mangrove *R. mucronata* sebagai tumbuhan obat sangat besar namun kajian ilmiah mengenai khasiatnya masih sangat sedikit, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mempelajari aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*) untuk mendapatkan hasil aktivitas antioksidan dengan konsentrasi yang berbeda dari peneliti-peneliti sebelumnya dengan penentuan konsentrasi mengacu pada klasifikasi sifat antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ dan jenis golongan senyawa kimia aktif yang terkandung pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* dengan metode uji fitokimia.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah utama kesehatan masyarakat sekarang disebabkan oleh penyakit degeneratif karena reaksi yang berlebihan pada tubuh oleh radikal bebas. Ekstrak dari tumbuhan mangrove telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk keperluan obat-obatan alamiah. Diduga ekstrak tumbuhan mangrove juga memiliki aktivitas antioksidan yang cukup besar yang berasal dari



kandungan senyawa kimia aktif. Umumnya untuk mengetahui kandungan senyawa kimia aktif pada tumbuhan dilakukan dengan uji fitokimia secara kualitatif (tes warna) dan belum adanya penelitian sebelumnya mengenai uji kandungan senyawa kimia aktif secara kuantitatif, oleh karena itu rumusan masalah penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Golongan senyawa kimia aktif apa saja dan bagaimana kandungannya pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata*?
2. Apakah ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan?

1.3 Tujuan

Penelitian dari uji aktivitas antioksidan dan identifikasi senyawa kimia pada daun *R. mucronata* ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui jenis dan kandungan golongan senyawa kimia aktif yang terdapat pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata*.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* dengan metode DPPH.

1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui kandungan golongan senyawa kimia aktif dan kemampuan antioksidan pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata*.
2. Memberikan informasi tentang pemanfaatan *R. mucronata* sehingga dapat dijadikan referensi peneliti selanjutnya.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Rhizophora mucronata*

Kawasan mangrove di Indonesia merupakan hutan mangrove terbesar di dunia. Sebagian diantaranya terletak di pulau Jawa dengan presentase 1,2% atau sekitar 50.000 ha. Mangrove banyak tumbuh di daerah tropis yang distribusinya dibagi menjadi kelompok timur dan barat berdasarkan garis bujur. Secara kuantitatif kelompok timur lebih kaya dibandingkan kelompok barat. Salah satu yang termasuk wilayah timur yaitu pulau Jawa yang terletak pada garis bujur 105° Timur – 120° Timur. Hutan mangrove Indonesia merupakan ekosistem yang produktif dan mempunyai potensi tinggi untuk digunakan secara berkelanjutan. Perikanan dan hasil hutan merupakan potensi yang dapat digali secara ekonomis. Potensi *R. mucronata* dalam bidang medis memiliki khasiat sebagai obat penyakit beri-beri, haematoma (kulit batang); hepatitis (kulit batang, bunga, daun, akar); borok (kulit batang) (Purnobasuki, 2005).

Mangrove spesies *R. mucronata* ini hidup di zona terluar pesisir pantai yaitu daerah yang dilalui pasang surut dengan substrat lumpur, berpasir, maupun berbatu karang. Mangrove jenis ini memiliki ketinggian mencapai 27 m, jarang melebihi 30 m, memiliki akar tunjang dan akar udara yang tumbuh dari percabangan bagian bawah (Wetlands, 2017).

Menurut Zipcodezoo (2017) *R. mucronata* termasuk dalam famili *Rhizophoraceae*. Mangrove jeris ini yang hidup di tepi sungai memiliki ketinggian 20- 25 m, sedangkan di tepi pantai dengan ketinggian 10 - 15 m. Pohon tertinggi biasanya terletak dekat dengan perairan dan terpendek terletak jauh lebih ke dalam arah daratan. Daun mangrove ini berbentuk elips dengan ukuran 8,5-16 x 5-10 cm. Bunga mangrove ini berwarna kuning pucat hingga hijau, terdiri dari 4 kelopak 6-8 mm dan 8 benang sari, tak berangkai. Buahnya berwarna hijau



kecoklatan berukuran 5-7 x 2,5-3,5 cm dengan silindris, hipokotil 30-60 cm.

Adapun taksonominya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Ilmiah *R. mucronata*

Klasifikasi Ilmiah <i>R. mucronata</i>	
Kingdom	Plantae
Order	Malpighiales
Famili	Rhizophoraceae
Genus	<i>Rhizophora</i>
Spesies	<i>R. mucronata</i>
Binomial name	
<i>Rhizophora mucronata</i> Lam.	



2.2 Senyawa Kimia Aktif

Senyawa kimia aktif merupakan hasil dari metabolit sekunder makhluk hidup baik hewan maupun tumbuhan. Senyawa ini akan diproduksi dalam jumlah banyak jika makhluk hidup tersebut hidup dalam kondisi tertekan. Pengujian komponen kimia aktif dapat dilakukan dengan metode fitokimia. Pada metode fitokimia untuk mendapatkan senyawa kimia aktif menggunakan tiga macam jenis pelarut yaitu pelarut polar, semi-polar dan non polar. Metanol merupakan pelarut polar sehingga banyak sekali komponen aktif suatu bahan yang dapat diekstrak olehnya. Menurut Jacob *et al.* (2011) sifat pelarut polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuertener, komponen fenolik, karatenoid, tanin, asam amino, gula dan glikosida.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi ialah salah satu cara untuk memperoleh senyawa antioksidan. Proses ekstraksi suatu bahan tumbuhan memiliki berbagai faktor yang dapat



mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi, diantaranya seperti jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi (Senja et al., 2014)

Maserasi adalah salah satu cara ekstraksi. Maserasi adalah proses penyaliran dengan cara merendam serbuk dalam air atau pelarut organik hingga meresap berfungsi untuk melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang terkandung di dalamnya akan terlarut (Daud et al., 2011).

2.4 Uji Fitokimia

Menurut A'yun dan Laily (2015) penentuan kandungan kimia pada daun tumbuhan dapat dilakukan melalui uji fitokimia yang berfungsi untuk mengetahui golongan senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan lain sebagainya.

2.4.1 Alkaloid

Salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan yaitu senyawa alkaloid. Biasanya senyawa ini terdapat pada bagian daun, biji, ranting dan kulit batang. Dalam bidang kesehatan senyawa ini memiliki efek seperti antimikroba, pemacu sistem saraf, mengurangi rasa sakit, menaikkan tekanan darah, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Aksara et al., 2013).

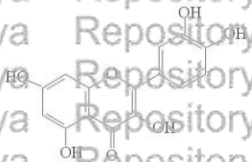
Senyawa alkaloid merupakan senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, dan mempunyai aktivitas farmakologis. Biasanya tak berwarna, seringkali bersifat optis aktif, dan umumnya berbentuk kristal pada suhu kamar. Alkaloid dapat diidentifikasi dengan reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih dan reagen dragendorff yang akan membentuk endapan merah bata (Tjandra et al., 2013).



2.4.2 Flavonoid

Flavonoid ialah salah satu golongan fenolik alam terbesar yang terkandung pada tumbuhan. Pada umumnya, konfigurasi struktur flavonoid terdiri dari $C_5-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid dapat diidentifikasi dengan sedikit bubuk magnesium dan HCl pekat yang akan membentuk larutan berwarna merah-kuning atau jingga (Tjandra *et al.*, 2013).

Flavonoid ialah salah satu golongan fenol alam yang terbesar, karena senyawa ini terdapat dalam semua tumbuhan hijau (Rorong *et al.*, 2012). Flavonoid dapat larut dalam air dan pelarut polar. Senyawa ini banyak terkandung dalam tumbuhan mangrove, karena mangrove merupakan tanaman sejati ditandai dengan daun, akar, batang sejati. Flavonoid yang ditemukan pada mangrove berperan sebagai antioksidan dengan menghambat peroksidasi dari lipid dan berpotensi menginaktivkan oksigen triplet, selain itu senyawa ini juga berfungsi sebagai antibakteri (Ningrum *et al.*, 2013). Berikut struktur senyawa flavonoid tersaji pada Gambar 1.



(Sumber : Rorong *et al.*, 2012)

Gambar 1. Struktur Flavonoid

2.4.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa-senyawa penting dalam proses penyembuhan luka, karena dapat memacu pembentukan kolagen, yaitu struktur protein yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Selain itu beberapa sumber diketahui bahwa saponin dapat berfungsi sebagai antikanker dan anti-



inflamasi. Saponin larut dalam air, sedikit larut atau tidak sama sekali dalam etanol dan metanol pekat yang dingin (Mendrofa *et al.*, 2015).

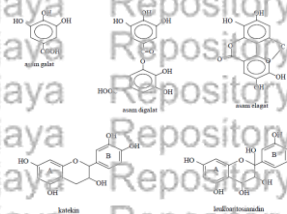
Tumbuhan biasanya mengandung senyawa saponin dalam bentuk senyawa alkaloid stereroid, glikosida steroid, atau triterpena. Saponin bersifat seperti sabun, yang apabila dikocok di dalam air dapat menimbulkan busa, sehingga saponin dapat diidentifikasi dengan mengocoknya. Apabila saat penambahan 1 tetes HCl pekat busa yang terjadi tidak hilang selama 15 menit maka saponin dinyatakan positif (Tjandra *et al.*, 2013).

2.4.4 Tanin

Tanin ialah senyawa organik yang terdiri atas campuran senyawa polifenol kompleks, dibangun dari unsur C, H, dan O serta sering membentuk molekul besar dengan bobot molekul lebih besar dari 2000. Dalam pengertian sehari-hari, tanin bukan merupakan senyawa murni melainkan campuran senyawa yang terekstraksi oleh pelarut polar dan semipolar (Suseno *et al.*, 2014).

Senyawa tanin dibagi menjadi dua golongan senyawa, dimana tiap golongan senyawa dapat memberikan reaksi warna yang berbeda terhadap senyawa ferriklorida (FeCl_3) 1%. Golongan senyawa tanin terhidrolisis akan menghasilkan warna biru kehitaman dan tanin terkondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Pada saat penambahannya diperkirakan senyawa FeCl_3 akan bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa tanin, hasil itulah pada akhirnya dapat menimbulkan warna (Rorong *et al.*, 2012).

Adapun struktur senyawa tanin disajikan pada Gambar 2.



(Sumber : Rorong *et al.*, 2012)

Gambar 2. Struktur Tanin



2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa molekul kecil yang dapat bereaksi dengan oksidan hingga menimbulkan reaksi oksidasi yang merusak biomolekul dapat dihambat (Septiana *et al.*, 2002). Antioksidan ialah senyawa yang berfungsi untuk menghambat proses oksidasi dari radikal bebas. Mekanisme kerjanya yaitu dengan cara mendonorkan atom hidrogen atau proton pada senyawa radikal. Hal ini yang menjadikan senyawa radikal lebih stabil (Fitriana *et al.*, 2015).

Antioksidan juga dapat digunakan untuk melindungi bahan pangan dengan cara perlambatan, ketengikan, kerusakan atau perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi. Antioksidan ini mampu bertindak sebagai penyumbang radikal hidrogen atau akseptor radikal bebas sehingga dapat menunda tahap inisiasi pembentukan radikal bebas (Dungir *et al.*, 2012).

2.6 Jenis Antioksidan

Ada beberapa jenis antioksidan yang dikelompokkan berdasarkan sumbernya yaitu antioksidan sintetik dan alami.

2.6.1 Antioksidan Sintetik

Penambahan antioksidan pada berbagai produk farmasi, kosmetik maupun makanan merupakan cara paling efektif untuk mencegah oksidasi lemak pada produk. Namun penggunaan antioksidan sintetik oleh masyarakat semakin berkurang. Ini disebabkan beberapa penelitian membuktikan adanya efek toksik dan karsinogenik dari antioksidan sintetik pada tubuh manusia. Antioksidan yang memberi efek negatif umumnya adalah antioksidan sintetik, contohnya seperti *butyated hidroxy anisole* (BHA), *butyated hidroxy toluene* (BHT) dan *propyle galate* (PG) sehingga dilakukan usaha untuk mencari antioksidan alami yang



berasal dari tumbuhan yang dianggap lebih baik dari antioksidan sintetik, khususnya apabila ditinjau dari segi kesehatan (Jacobe *et al.*, 2011).

Antioksidan sintetik seperti BHA (butil hidroksi anisol), BHT (butil hidroksi toluen), PG (propil galat), dan TBHQ (tert-butil Hidrokuinon) dapat meningkatkan efek karsinogenik sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan (Rohman dan Riyanto, 2005).

2.6.2 Antioksidan Alami

Antioksidan alami seperti senyawa fenolik dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan komponen organik dalam bahan makanan sehingga dapat memperpanjang umur simpan (Dungir *et al.*, 2012). Menurut Zuhra *et al.*, (2008) antioksidan alami banyak terdapat pada bahan pangan, misalnya teh, coklat, rempah-rempah, dedaunan, biji-biji serelia, sayur-sayuran, enzim dan protein. Umumnya sumber antioksidan alam berasal dari tumbuhan yang mengandung senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik di kayu, daun, buah, biji, akar, bunga maupun serbuk sari.

Antioksidan alami dapat terkandung dalam bagian daun, buah, akar, batang dan biji dari tumbuh-tumbuhan obat. Bagian tersebut umumnya mengandung senyawa fenol dan polifenol. Polifenol dan turunannya telah lama dikenal mempunyai aktivitas antibakteri, antimutagen, anti melanogenesis, antioksidan (Rohman dan Riyanto, 2005).

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan

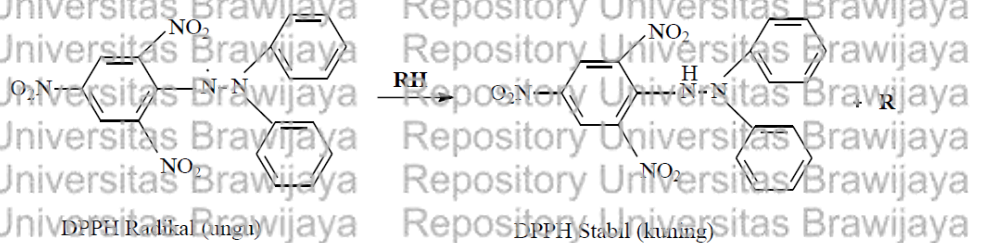
Melakukan uji aktivitas antioksidan secara *in-vitro* dapat dilakukan dengan berbagai macam cara diantaranya dapat menggunakan metode DPPH, uji diena terkonjugasi, bilangan Para-anisidin, kapasitas serapan radikal oksigen (ORAC), CUPRAC dan ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfoniksid). Akan tetapi para peneliti banyak menggunakan metode DPPH yang dilihat dari mudahnya



mendapatkan bahan senyawa, waktu uji yang diperlukan relatif singkat, sederhana serta hasil yang akurat.

Radikal bebas yang biasanya digunakan untuk mengukur kemampuan dalam penangkapan radikal bebas ialah 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). DPPH dikenal sebagai senyawa radikal bebas yang stabil, sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar 515-520 nm (Tristantini *et al.*, 2016).

DPPH ialah suatu molekul radikal bebas berwarna ungu dan akan stabil jika berubah menjadi kuning oleh adanya reaksi dengan antioksidan. Cara kerjanya ketika antioksidan mendonorkan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman radikal bebas DPPH. Elektron yang tidak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorbansi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 517$ nm dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil (Sastrawan *et al.*, 2013). Adapun struktur DPPH dan reaksinya dengan antioksidan ditunjukkan pada Gambar 3.



(Sumber : Sastrawan *et al.*, 2013)

Gambar 3. Mekanisme DPPH Akseptor



BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga April 2017, dilakukan di Laboratorium Eksplorasi Sumberdaya Perikanan dan Kelautan dan Laboratorium Perencanaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Pengambilan sampel dilakukan di perairan Kelurahan Pilang Kecamatan Kademangan Kota Probolinggo, Jawa Timur pada wilayah $07^{\circ}44'40.2''$ S dan $113^{\circ}11'28.4''$ E.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Daftar alat penelitian

No	Nama Alat	Spesifikasi	Kegunaan
1	pH Meter	Oakton pH Testr 30 Waterproof pH Testr 30 Pocket Tester (0,00-14)	Mengukur tingkat keasamaan/kebasaan perairan
2	Salinometer	Digital Hand-held "Pocket" Refractometer PAL-06S Salinitas : 0,00 - 100 ppt	Mengukur nilai salinitas perairan
3	Thermometer	Lovibond SD 310 Oxi (-5 - 50°C)	Mengukur nilai suhu perairan
4	DO Meter	Lovibond SD 310 Oxi (0,00 - 70,0 mg/l)	Mengukur nilai kadar DO perairan
5	GPS	GARMIN 60 TM Resolusi : 160 x 240 pixel	Menentukan titik koordinat pengambilan sampel
6	Timbangan digital	RADWAG Analytical Balance - AS220.R2 Series (220g x 0.1 mg)	Sebagai alat untuk menentukan massa
7	Blender	Electrolux EBR-2601 Cruzo – Silver	Menghaluskan daun menjadi serbuk simplisia



No	Nama Alat	Spesifikasi	Kegunaan
8	Botol vial	0 - 20 ml	Sebagai tempat sampel sebelum diuji
9	Botol O	-	Sebagai wadah maserasi
10	Vacuum rotary evaporator	Volume bath : 1-2 L Speed : 20-280 rpm	Sebagai pemisah antara ekstrak dengan pelarut
11	Beaker glass	PYREX® 0-50 ml	Sebagai wadah sampel
12	Erlenmeyer	PYREX® 250 ml	Sebagai wadah pelarut
13	Lemari pendingin	-	Menyimpan sampel dengan suhu rendah
14	Inkubator	-	Sebagai alat inkubasi
15	Pipet tetes	-	Memindahkan larutan dalam skala kecil
16	Gelas ukur	HERMA 0-10 ml	Sebagai alat pengukur volume larutan
17	Mikropipet	Dragon Lab (100-200 µl, 100-1000 µl)	Sebagai alat pemindah larutan dengan skala tertentu (mikron)
18	Spektrofotometri	Spectroquant Pharo 300 M - UV Vis (190 to 1100 nm)	Sebagai alat mengukur nilai sampel berdasarkan panjang gelombang tertentu
19	Cuvette	-	Tempat larutan untuk diukur pada spektrofotometri
20	Nampan	-	Sebagai wadah alat dan bahan



Bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 3.

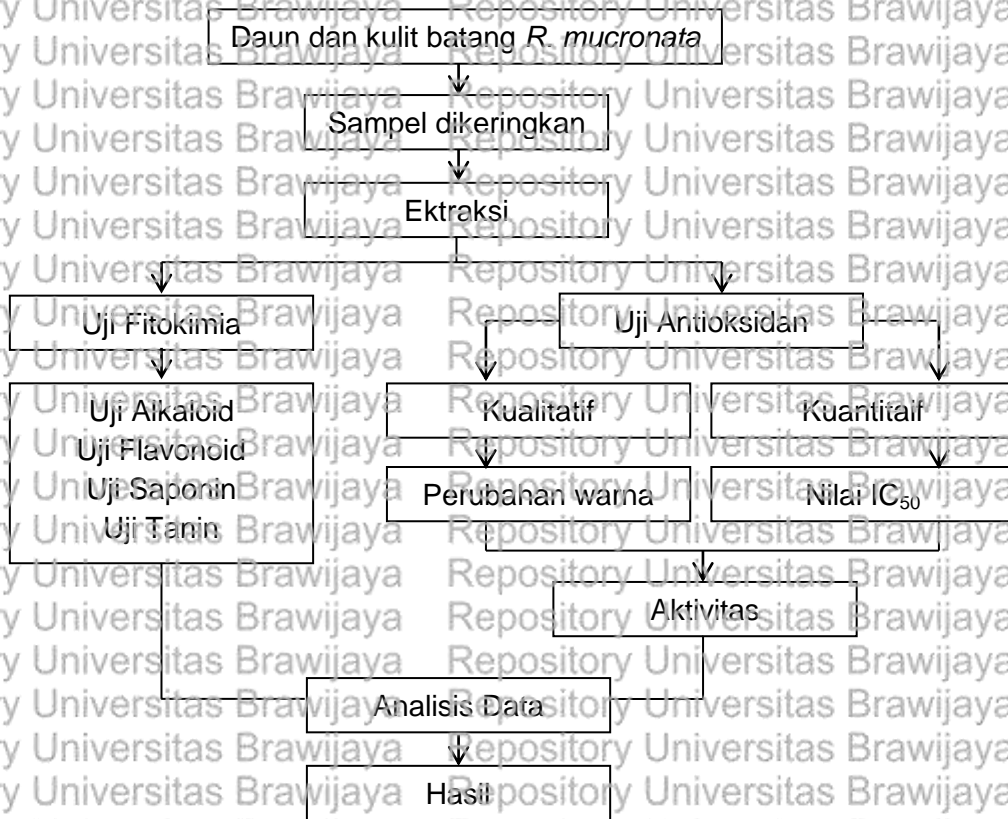
Tabel 2. Daftar bahan penelitian

No	Nama Bahan	Jumlah yang dibutuhkan	Kegunaan
1	Daun <i>R. mucronata</i>	200 gram	Bahan uji
2	Kulit batang <i>R. mucronata</i>	200 gram	Bahan uji
3	Metanol	1,8 L	Pelarut untuk sampel uji
4	Metanol p.a	600 ml	Pelarut untuk sampel uji
5	Aluminium foil	Secukupnya	Sebagai penutup atau pembungkus tabung reaksi
6	Tali/karet	Secukupnya	Mengeratkan aluminium foil pada tabung reaksi
7	Kertas saring Whatman No. 42	2 lembar	Untuk memisahkan filtrat dan residu
8	DPPH	7,68 mg	Radikal bebas sebagai penguji antioksidan
9	Pereaksi Dragendrof	2 ml	Pereaksi uji alkaloid
10	Air panas	2 ml	Campuran dalam uji saponin
11	Larutan HCl 2N	2 ml	Pereaksi uji saponin
12	Vitamin C	50 mg	Kontrol positif
13	FeCl ₃ 1%	2 ml	Pereaksi tanin



3.3 Alur Penelitian

Tahapan penelitian uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa kimia aktif (Gambar 4).



Gambar 1. Alur Penelitian

3.4 Prosedur Kerja

Prosedur penelitian ini dimulai dari pengambilan sampel daun dan kulit batang *R. mucronata* di lapang. Perlakuan sampel terdiri dari pengeringan, penghalusan, dan ekstraksi. Langkah selanjutnya melakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa kimia aktif pada ekstrak daun *R. mucronata*.

3.4.1 Pengambilan Sampel di Lapang

Pengambilan sampel daun dan kulit batang *R. mucronata* dilakukan di perairan Kelurahan Pilang Kota Probolinggo. Langkah pertama dilakukan



penentuan titik koordinat lokasi dengan menggunakan GPS untuk mengetahui lokasi pengambilan sampel berdasarkan titik koordinat.

Sampel daun dan kulit batang *R. mucronata* diambil dari enam pohon berbeda. Sampel daun diambil dari pohon dengan kisaran ketinggian 3 m, sedangkan sampel kulit batang diambil dari pohon dengan kisaran ketinggian 15 m dengan kisaran diameter batang 30 cm dengan kulit kayu berwarna gelap hingga hitam, memiliki akar tunjang dan udara yang tumbuh dari percabangan bagian bawah. Daun *R. mucronata* yang ditemukan memiliki kisaran panjang dan diameter 8,5-16 cm dan 5-10 cm, berwarna hijau dengan panjang ganggang daun berkisar antara 2,5-5,5 cm. Sampel daun dipetik langsung dari pohon, begitu juga dengan kulit batang. Selanjutnya sampel ditimbang dan diukur panjang serta diameternya. Sampel dipreparasi dengan cara membersihkan debu dan kotoran yang menempel pada daun dan kulit batang *R. mucronata*. Daun dan kulit batang bakau *R. mucronata* yang diambil dari perairan Kelurahan Pilang Probolinggo dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 2. Daun dan kulit batang *R. mucronata*

Pada dasarnya setiap spesies memiliki kandungan senyawa yang berbeda. Hal ini dipengaruhi oleh kondisi habitat, faktor lingkungan dan faktor genetik. Pemakaian daun dan kulit batang *R. mucronata* sebagai bahan uji dalam penelitian ini juga dikarenakan bagian-bagian tersebut diduga menghasilkan senyawa kimia aktif yang belum tentu dimiliki oleh bagian tumbuhan yang lain. Menurut Nababan *et al.* (2016) hampir semua bagian tanaman *Rhizophora* sp. mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin dimana senyawa ini



dimanfaatkan sebagai obat-obatan alami. Setelah dilakukan pengukuran panjang & diameter pada daun dan batang dilakukan perhitungan rendemen esktak yang berfungsi untuk menentukan persen kandungan aktif yang terdapat pada suatu bahan dengan rumus sebagai berikut :

$$Pr = \frac{Be}{Bs} \times 100\%$$

Keterangan :

Pr = Presentase Rendemen

Be = Berat Ekstrak

Bs = Berat Sampel

Selain itu juga dilakukan pengukuran parameter lingkungan meliputi pH, suhu, DO (*Disolved Oxygen*), dan salinitas untuk mengetahui kualitas perairan yang digunakan sebagai habitat *R. mucronata* untuk hidup.

Pengukuran pH menggunakan pH meter untuk mengetahui tingkat keasaman perairan habitat *R. mucronata* dengan cara mengkalibrasi pH meter dengan aquades untuk menstandarkan nilai pada alat sebelum digunakan.

Selanjutnya sensor pada pH meter dimasukan ke dalam perairan dan ditunggu sekitar 2 menit atau sampai nilai angka pada layar stabil, kemudian tekan tombol *hold* dan catat hasilnya.

Pengukuran salinitas menggunakan salinometer untuk mengetahui kadar garam pada perairan habitat *R. mucronata*. Langkah pertama yang dilakukan yaitu mengkalibrasi alat tersebut dengan aquades berfungsi untuk menstandarkan nilai. Langkah berikutnya mengabli sampel air dengan pipet tetes, lalu ditetaskan 3-4 tetes air sampel pada sensor salinometer hingga sensor tensi penuh, kemudian menekan tombol start dan mencatat hasilnya.

Pengukuran berikutnya yaitu kadar *Disolved Oxygen* (DO) dan suhu pada perairan menggunakan alat Lovibond SD 310 Oxi yang berfungsi untuk



mengetahui nilai oksigen terlarut dan suhu pada perairan habitat *R. mucronata*.

Hal pertama yang dilakukan yaitu mengkalibrasi sensor alat untuk menstandarkan nilai, mencelupkan sensor ke perairan lalu menekan tombol ON dan ditunggu hingga layar stabil kemudian mencatat hasilnya.

3.4.2 Perlakuan Sampel

Sampel yang didapatkan di perairan Kelurahan Pilang Kota Probolinggo dikeringkan hingga kadar air berkurang kurang lebih selama tiga hari di bawah sinar matahari (Sutjipto et al., 2009). Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air pada sampel.

Proses selanjutnya adalah menimbang sampel daun dan kulit batang *R. mucronata* yang sudah kering menggunakan timbangan digital sebelum dilakukan proses selanjutnya yaitu penghalusan sampel (Gambar 6). Sampel yang telah halus dapat disimpan ditempat kering untuk dilakukan proses selanjutnya yaitu maserasi dan uji antioksidan dikemudian hari.

3.4.3 Ekstraksi Sampel

Tahapan selanjutnya yaitu ekstraksi. Ekstraksi sampel berfungsi untuk mendapatkan senyawa aktif yang dapat larut dan diikat oleh pelarut yang digunakan. Metode ekstraksi dipilih bergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, perlu ditentukan terlebih dahulu target ekstraksi. Menurut Mukriani (2014) beberapa target ekstraksi yaitu diantaranya:

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.



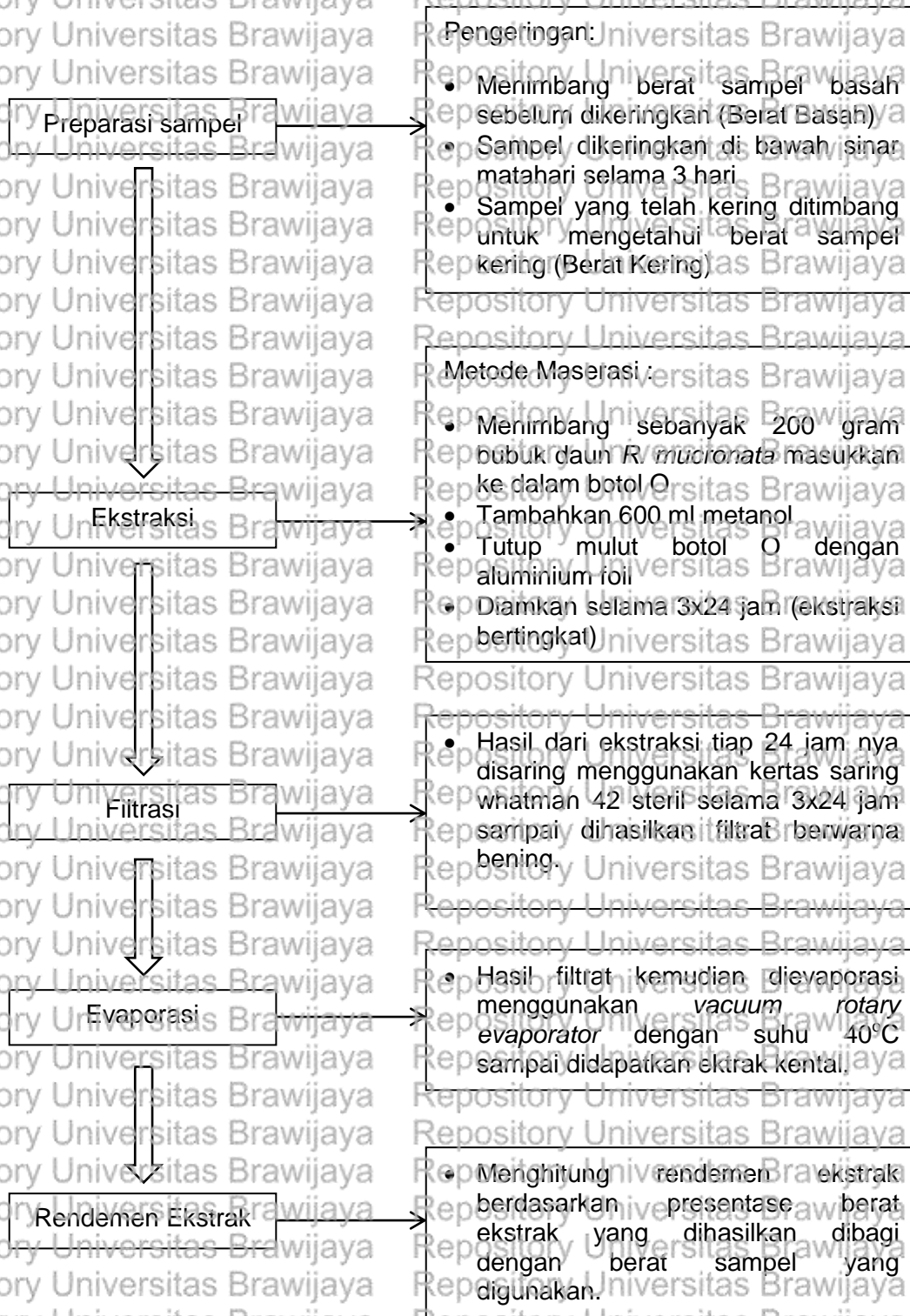
Menurut Mukriani (2014) proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar : air, etanol, metanol, dan sebagainya
4. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan dan sebagainya
5. Pelarut nonpolar : n-heksan, petroleum eter, kloroform dan sebagainya

Pada penelitian ini pelarut yang digunakan yaitu metanol. Hal tersebut dikarenakan pelarut metanol memiliki sifat polar yang artinya dapat mengikat banyak senyawa kimia aktif pada tumbuhan. Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian Ernawati dan Hasmila *et al.*, (2015) yang melakukan uji fitokimia pada daun mangrove *R. mucronata* dengan menggunakan pelarut metanol yang bersifat polar, dimana pelarut ini mampu menembus dinding sel sampel sehingga senyawa yang bersifat polar dan non-polar dapat terekstrak juga. Uji ini dilakukan untuk mengetahui tiga jenis golongan senyawa kimia aktif berupa flavonoid, steroid dan alkaloid. Hasil uji golongan yang teridentifikasi hanya flavonoid dan steroid.

Tahapan dalam proses ekstraksi pertama menimbang bubuk daun mangrove *R. mucronata* sebanyak 200 gram yang akan diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut metanol (polar). Sampel diletakkan di dalam botol O kemudian ditambahkan 600 ml metanol, didiamkan selama 24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman 42. Filtrat ditampung dan residunya dimaserasi ulang dengan cara yang sama sebanyak tiga kali pengulangan yaitu sampai filtratnya berwarna bening (Putri *et al.*, 2013). Filtrat ekstrak metanol kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator*

pada suhu 40°C untuk memisahkan pelarut dan hasil ekstrak (Tristantini et al., 2016) (Gambar 6).



Gambar 3. Proses preparasi dan ekstraksi sampel



3.4.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan suatu pemeriksaan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu simplisia tumbuhan. Uji tersebut dapat digunakan untuk membuktikan ada tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan. Pada penelitian ini uji fitokimia yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia aktif golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Uji dilakukan dengan dua cara yaitu kualitatif dengan melihat perubahan warna dan kuantitatif dengan menghitung nilai absorbansinya. Jika hasil positif pada uji kualitatif maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri UV/Vis.

Panjang gelombang yang digunakan pada uji kuantitatif disamakan dengan panjang gelombang uji aktivitas antioksidan yaitu 517 nm. Hal ini dikarenakan dengan panjang gelombang tersebut dapat mengetahui nilai aktivitas antioksidan sehingga juga dapat digunakan untuk mengetahui nilai absorbansi senyawa fitokimia yang menyebabkan adanya aktivitas antioksidan. Panjang gelombang 517 nm sesuai dengan serapan spektrum warna letaknya berada di tengah-tengah, sehingga cukup adil untuk panjang gelombang kurang ataupun lebih darinya. Adapun menurut Sanda *et al.* (2012) panjang gelombang pada spektrofotometri UV/vis sesuai dengan serapan spektrum warna sebagai berikut.

- Ungu : 400 - 420 nm
- Nila : 420 - 440 nm
- Biru : 440 - 490 nm
- Hijau : 490 - 570 nm
- Kuning : 570 - 585 nm
- Jingga : 585 - 620 nm
- Merah : 620 - 780 nm



3.4.3.1 Uji Alkaloid

Sampel uji dibuat dengan cara melarutkan 5 mg ekstrak kental daun dan kulit batang *R. mucronata* dalam 5 ml metanol p.a. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 1 ml pereaksi dragendrof, amati perubahannya. Bila terbentuk warna jingga sampai merah coklat menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Sapri *et al.* 2013). Jika hasil positif maka dilanjutkan uji kuantitatif menggunakan panjang gelombang 517 nm.

3.4.3.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mg ekstrak sampel daun dan kulit batang *R. mucronata* dicampurkan dengan 5 ml metanol p.a. Selanjutnya ditambahkan 1 ml HCl pekat, kemudian ditambahkan 0,2 gram bubuk Mg, hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna kuning, jingga atau merah tua (magenta) (Sapri *et al.* 2013). Jika hasil positif maka dilanjutkan uji kuantitatif menggunakan panjang gelombang 517 nm.

3.4.3.3 Uji Saponin

Sebanyak 5 mg ekstrak daun dan kulit batang *R. mucronata* dimasukkan ke dalam botol vial, ditambahkan 1 ml air panas, kemudian dikocok selama 15 menit lalu ditambahkan 1 ml HCl 2N. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk buih putih yang stabil (Sapri *et al.*, 2013).

3.4.3.4 Uji Tanin

Uji fitokimia senyawa tanin, langkah pertama ditimbang sebanyak 5 mg ekstrak sampel daun dan kulit *R. mucronata*, ditambah metanol 5 ml. Kemudian ditambahkan 1 ml larutan $FeCl_3$ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman (Sapri *et al.*, 2013). Jika hasil positif maka dilanjutkan uji kuantitatif menggunakan panjang gelombang 517 nm.



3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Tahapan uji aktivitas antioksidan menurut Putri *et al.* (2013) dengan metode DPPH meliputi pembuatan larutan DPPH, pembuatan larutan stok daun & kulit batang *R. mucronata* dan vitamin C serta pengukuran aktivitas antioksidan.

Pengujian antioksidan dengan DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil sebagai senyawa pendeteksi. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Salamah *et al.*, 2008).

1. Pembuatan Larutan DPPH 0,5 mM

Larutan DPPH disiapkan dengan konsentrasi 0,5 mM, yaitu dengan menimbang 7,68 mg DPPH dan dilarutkan dengan 39 ml metanol di dalam tube (Pramesti, 2013).

2. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Daun dan Kulit Batang *R. mucronata*

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg masing-masing ekstrak pekat dari daun dan kulit batang yang dilarutkan dengan metanol sambil dihomogenkan, volume akhir dicukupkan metanol sampai 50 ml *beaker glass* (Sani dan Rahimah, 2016).

3. Pembuatan Larutan Stok Vitamin C Murni

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg vitamin C murni dan dilarutkan dengan metanol hingga mencapai volume 50 ml dalam *beaker glass* (Sani dan Rahimah, 2016).



4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pengukuran Serapan Larutan Bianco DPPH

Larutan DPPH 0,5 mM dipipet sebanyak 1 ml dan cukupkan volumenya hingga 5 ml dengan metanol dalam *cuvette*. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Sami dan Rahimah, 2016).

b. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH dengan Sampel

Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi pada konsentrasi 1000 ppm, dilanjutkan untuk penentuan konsentrasi larutan uji aktivitas antioksidan pada seri konsentrasi seperempat dan selanjutnya separuh dari konsentrasi larutan induk yaitu sebesar 250; 125; 62,5 dan 31,25 ppm. Masing-masing empat konsentrasi uji tersebut diambil sampel sebanyak 4 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,5 mM. Langkah selanjutnya sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH, semua sampel dibuat triplo (tiga kali pengulangan). Setelah semua sampel telah diinkubasi, kemudian diuji nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Putri et al., 2013).

c. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH sebagai Larutan Perbandingan

Larutan perbandingan dibuat dari vitamin C yang dilarutkan dengan pelarut metanol masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, dan 8 ppm dengan cara memipet masing-masing 10 μ l, 20 μ l, 40 μ l, dan 80 μ l dari larutan stok vitamin C murni 1000 ppm pada tabung reaksi (Hidayah et al., 2015). Vitamin C yang digunakan adalah vitamin C murni. Di mana vitamin C jenis ini merupakan antioksidan yang dapat mencegah oksidasi dan merupakan nutrisi serta vitamin yang larut dalam air dan penting untuk menjaga kesehatan (Rienoviar dan Nashrianto, 2010).



Menurut Sami dan Rahimah (2016) besarnya presentase pengikatan radikal bebas dapat dihitung dengan rumus :

$$\%inhibisi = \frac{(Abs\ Blanko - Abs\ Sampel)}{Absorbansi\ Blanko} \times 100\%$$

Terhadap ekstrak yang memiliki aktivitas tertinggi dihitung nilai IC₅₀ (50% *Inhibitory Concentration*) dengan menggunakan persamaan regresi linear.

Persamaan regresi ini digunakan untuk mendapatkan nilai IC₅₀. Menurut Tristantini *et al.* (2016) nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubsitusikan untuk nilai y, dan akan didapat nilai x sebagai nilai IC₅₀. Adapun sifat antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Sifat Antioksidan berdasarkan Nilai IC₅₀

Nilai IC ₅₀	Sifat Antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50 ppm - 100 ppm	Kuat
100 ppm - 150 ppm	Sedang
150 ppm - 200 ppm	Lemah

(Sumber : Molyneux, 2004 dalam Tristantini *et al.*, 2016)

3.5 Analisis Data

Pada penelitian ini analisis data yang digunakan yaitu analisis regresi linear sederhana. Menurut Pratomo dan Astuti (2015) analisis regresi adalah hubungan yang didapat dan dinyatakan dalam bentuk persamaan matematik yang menyatakan hubungan fungsional antar variabel-variabel. Secara sederhana dapat diartikan bahwa analisis ini digunakan untuk mendapatkan hubungan matematis dalam bentuk suatu persamaan antara variabel tak bebas (variabel dependen) dengan variabel bebas tunggal (variabel independen). Regresi linear



sederhana hanya memiliki satu perubahan regresi linear untuk populasi adalah

$$y = a + bx.$$

di mana :

x = subjek pada variabel independen, memiliki nilai tertentu

a = parameter intercept

b = parameter koefisien regresi variabel bebas

Persamaan regresi ini digunakan untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50}

merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk merendam 50%

dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y, dan akan didapat

nilai x sebagai nilai IC_{50} .



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengukuran Parameter Perairan Habitat *R. mucronata*

R. mucronata memiliki persebaran cukup luas dikarenakan spesies ini mampu beradaptasi terhadap faktor lingkungan dan mampu berkembang biak dengan baik. Faktor lingkungan yang mempengaruhi diantaranya keadaan substrat, suhu, pH, DO, salinitas, pasang surut, iklim, dan lain-lain. Data hasil pengukuran parameter air habitat *R. mucronata* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Parameter Perairan

No	Parameter	Rata-rata ± Standar deviasi
1	Suhu (°C)	34,70±1,40
2	pH	7,29±0,41
3	Salinitas (ppt)	26,67±0,58
4	DO (mg/l)	5,07±0,01

Menurut Umroh (2015) mengatakan pucuk mangrove akan tumbuh jika suhu perairan rata-rata di atas 25°C dan suhu yang merangsang pertumbuhan pucuk mangrove berkisar 15°C - 25°C. Menurut Wanyu dan Widyastuti (1998) dalam Pariyono (2006) menyatakan bahwa mangrove akan tumbuh dengan baik pada tipe substrat lumpur yang relatif tebal, dengan kriteria lahan yang berpotensi untuk pertumbuhan mangrove yaitu 6,0 - 8,5 serta berkembang dengan baik pada kisaran salinitas 10 - 30 ‰ (Alik *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil tersebut perairan Kelurahan Pilang Probolinggo berada dalam kondisi yang sesuai untuk menunjang kehidupan mangrove pada lokasi tersebut.

4.2 Hasil Ekstraksi Daun dan Kulit Batang *R. mucronata*

Sebelum proses ekstraksi terlebih dahulu dilakukan proses maserasi yang bertujuan untuk melarutkan zat-zat yang terkandung dalam sampel dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi bertujuan untuk memisahkan zat-zat yang terkandung pada sampel dengan pelarutnya. Hasil ekstraksi yang



dihasilkan berupa ekstrak kental. Hasil tersebut didapat melalui proses evaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Perendaman atau maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan cara mencampurkan sampel daun atau kulit batang dengan 1,8 liter metanol didapatkan hasil sekitar 1,2 liter. Pengurangan volume dapat disebabkan karena adanya proses penguapan dan terserapnya pelarut pada sampel yang digunakan. Selanjutnya sampel dievaporasi, didapatkan hasil ekstrak daun 70,66 gram ekstrak kental berwarna hijau tua dan kulit batang 11,33 gram ekstrak kental berwarna coklat tua. Hasil ekstraksi daun dan kulit batang *R. mucronata* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 1. Hasil ekstrak (a) kulit batang (b) daun *R. mucronata*

Hasil ekstraksi pada sampel dengan menggunakan pelarut akan menghasilkan rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak berfungsi untuk mengetahui nilai komponen senyawa kimia aktif yang terkandung di dalam sampel. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat sampel yang digunakan) dikalikan 100% (Sani *et al.*, 2014). Hasil rendemen ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* masing-masing sebesar 35,33% dan 5,66%, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak metanol daun memiliki senyawa kimia aktif lebih banyak dibanding kulit batang. Hal ini sesuai dengan penelitian Tarman *et al.* (2013) mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun bakau hitam terhadap bakteri penyebab daire didapatkan berat rendemen ekstrak sebesar 21,17% dan hasil



penelitian Diastuti dan Suwandri (2009) mengenai fraksi dan identifikasi senyawa antikanker ekstrak kulit batang *R. mucronata* dan uji toksisitas terhadap larva udang didapatkan hasil rendemen ekstrak metanol kulit batang metanol sebesar 9,66% dengan berat ekstrak 48,30 gram. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa rendemen ekstrak pada daun lebih banyak daripada kulit batang. Hal ini terjadi diduga produksi kandungan senyawa kimia lebih banyak terdapat pada daun daripada kulit batang, dibuktikan dengan uji kuantitatif fitokimia dimana total hasil keseluruhan nilai uji kuantitatif alkaloid, flavonoid dan tanin lebih besar pada daun dibandingkan dengan kulit batang (Lampiran 11). Pada rendemen ekstrak metanol kulit batang didapatkan hasil lebih kecil daripada penelitian Diastuti dan Suwandri (2009), diduga terjadi karena perbedaan metode ekstraksi dalam jumlah sampel yang digunakan yaitu menggunakan 500 gram sampel kering dengan maserasi 48 jam, sedangkan pada penelitian ini menggunakan 200 gram sampel kering dengan 72 jam. Didukung oleh pernyataan Salamah *et al.* (2008) bahwa perlakuan waktu maserasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan.

4.3 Hasil Uji Golongan Senyawa Kimia Aktif

Komponen yang terdapat dalam ekstrak *R. mucronata* diuji secara kualitatif dengan mengamati perubahan warna dengan menggunakan pereaksi pada masing-masing senyawa yang diuji. Jika didapatkan nilai positif pada uji kualitatif maka dilanjutkan dengan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode fitokimia tak hanya digunakan untuk mendeteksi metabolit primer tetapi juga untuk mendeteksi metabolit sekunder. Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengujian pada metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid,



saponin dan tanin. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* dapat dilihat pada Tabel 6.

Menurut hukum Beer-Lambert keakurasian pengukuran kuantitatif senyawa yaitu dengan nilai absorbansi diantara 0,05 - 0,70. Jika hasil nilai absorbansi pada suatu konsentrasi uji menghasilkan nilai lebih dari 0,70 maka diperlukan pengenceran, begitupun sebaliknya jika nilai absorbansi kurang dari 0,05 dilakukan peningkatan konsentrasi. Pengujian kuantitatif fitokimia ini menggunakan larutan stok 1000 ppm dengan pengenceran 1:4.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstak Metanol Daun & Kulit Batang *R. mucronata*

No	Senyawa Kimia Aktif	Sampel		Uji Kuantitatif (ppm)		Karakteristik
		Daun	Kulit Batang	Daun	Kulit Batang	
1	Alkaloid	Ada	Ada	124,44	135,20	Terbentuk warna jingga sampai merah coklat
2	Flavonoid	Ada	Ada	1195	150,04	Terbentuk warna kuning, jingga atau merah
3	Saponin	Tidak ada	Tidak ada	-	-	Terbentuknya busa
4	Tanin	Ada	Ada	576,64*	376,08	Terbentuk warna hijau atau biru kehitanan

*pengenceran 1:8

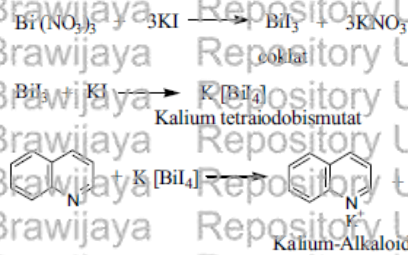
Berdasarkan hasil pengujian fitokimia pada ekstrak daun dan kulit batang terhadap pelarut metanol p.a menghasilkan tiga komponen kimia aktif yaitu senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin, di mana senyawa tersebut merupakan senyawa yang dapat terlarut oleh metanol p.a yang bersifat dapat melarutkan hampir semua senyawa organik, baik polar, semi polar dan non polar. Hal ini didukung oleh pernyataan Tanaya *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa mayoritas metabolit sekunder bersifat semi polar. Alkaloid, flavonoid dan tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar.

4.3.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif dengan menggunakan pereaksi dragendrof yang ditandai terbentuknya warna jingga atau merah coklat baik pada ekstrak daun maupun kulit batang. Pada pembuatan pereaksi



dragendrof, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+). Agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut(III) iodida yang kemudian larut dalam iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Marliana *et al.*, 2005). Pada uji alkaloid dengan pereaksi dragendrof, nitrogen yang terkandung dalam senyawa alkaloid digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji dragendrof ditunjukkan pada Gambar 8.



(Sumber: Marliana *et al.*, 2005)

Gambar 2. Reaksi uji dragendrof

Didukung oleh hasil penelitian Wahyuni *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa alkaloid pada daun *R. mucronata* dapat larut dalam metanol p.a, sedangkan pada kulit batang *R. mucronata* menurut Ravikumar dan Gnanadesigan (2012) didapatkan hasil positif dengan menggunakan pelarut etanol. Hasil uji fitokimia alkaloid dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 3. Hasil uji alkaloid

Berdasarkan absorbansi dengan panjang gelombang 517 nm kandungan senyawa alkaloid pada ekstrak metanol daun sedikit lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak metanol kulit batang yaitu secara berturut-turut sebesar 124,44 ppm dan 135,20 ppm. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Nurdiani *et al.* (2012) hasil uji fitokimia daun dan kulit batang pada *R. mucronata* memiliki kepekatan warna yang sama, yang artinya jika diukur nilai absorbansinya kemungkinan besar memiliki kandungan yang sama.

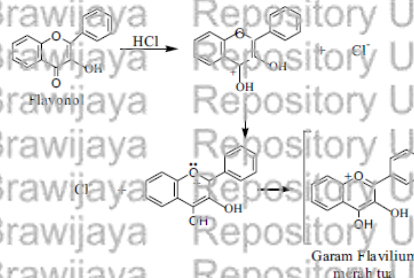
Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder turunan dari asam amino. Di dalam kerangkanya memiliki atom N. Senyawa ini pada makhluk hidup salah satu fungsinya sebagai senyawa pertahanan dari musuh dan hama (Saifudin, 2014). Senyawa alkaloid terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Beberapa senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah quinolon kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal hidroksil dan melatonin yang berperan penting menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-obatan (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

4.3.2 Flavonoid

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah. Pada identifikasi flavonoid ini menggunakan uji Wilstater. Pada uji Wilstater, magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 , sedangkan logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna merah atau jingga (Setyowati *et al.*, 2014).



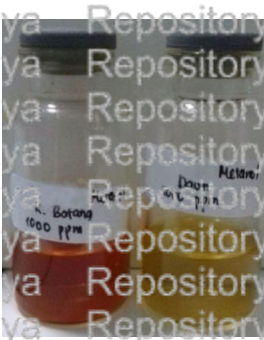
Jika sampel uji terdapat senyawa flavonoid maka akan terbentuk garam flavilium saat penambahan Mg dan HCl dengan reaksi seperti Gambar 10.



(Sumber: Setyowati *et al.*, 2014)

Gambar 4. Reaksi pembentukan garam flavilium

Didukung oleh hasil penelitian Wahyuni *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa flavonoid pada daun *R. mucronata* dapat larut dalam metanol p.a, sedangkan pada kulit batang *R. mucronata* menurut Ravikumar dan Gnanadesigan (2012) didapatkan hasil positif dengan menggunakan pelarut etanol. Hasil uji flavonoid dengan metode fitokimia dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 5. Hasil uji flavonoid

Berdasarkan absorbansi dengan panjang gelombang 517 nm kandungan senyawa flavonoid ekstrak metanol daun lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol kulit batang yaitu secara berturut-turut sebesar 1195 ppm dan 150,04 ppm. Hasil penelitian Nurdiani *et al.* (2012) diperoleh hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan kulit batang pada *R. mucronata* memiliki kepekatan warna yang sama. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian ini dimana ekstrak metanol daun memiliki kandungan senyawa flavonoid lebih banyak



dibandingkan dengan ekstrak metanol kulit batang. Hal ini diduga karena adanya perbedaan metode, seperti jenis pelarut, langkah-langkah pengujian senyawa flavonoid pada penelitian ini. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian Nurdiani *et al.* (2012) menggunakan perbandingan sampel dengan pelarut 1:4 dengan waktu maserasi 24 jam, sedangkan pada penelitian ini menggunakan perbandingan 1:3 dengan waktu maserasi 3x24 jam. Tahapan dalam pengujian senyawa ini menggunakan serbuk sampel yang dipanaskan terpisah dengan erlenmeyer di dalam *waterbath*, sedangkan pada penelitian ini menggunakan larutan stok 1000 ppm dengan pengenceran empat konsentrasi. Selain itu, juga dapat dipengaruhi oleh lokasi geografis pengambilan sampel dan kandungan senyawa kimia aktif sendiri pada setiap bagian tumbuhan. Pernyataan ini didukung oleh Moteriya *et al.* (2015) bahwa metode ekstraksi dan pelarut ekstraksi sangat mempengaruhi hasil ekstrak tanaman obat. Setiap tanaman dan pelarut memiliki sifat yang berbeda karena setiap tanaman dan bagian tanaman memiliki kandungan kimia aktif yang berbeda dalam konsentrasi yang berbeda.

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang metabolit sekunder yang berkontribusi pada aktivitas biologis suatu tumbuhan. Menurut Harborne (1987) dalam Tanaya *et al.* (2015) menyatakan bahwa semua flavonoid baik dalam bentuk glikosida maupun flavonoid dalam bentuk bebas dapat larut dalam pelarut metanol, sehingga untuk mengekstraksi senyawa flavonoid dari spesies yang mengandung lebih dari satu macam flavonoid dapat dilakukan dengan fraksinasi menggunakan beberapa macam pelarut dengan polaritas yang meningkat.

Flavonoid ialah salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang terbesar yang ditemukan di alam, terutama dapat ditemukan di buah dan sayur. Flavonoid ini merupakan bagian dari golongan polifenol sehingga sama halnya polifenol, flavonoid juga memiliki efek kesehatan baik dalam menangkal radikal bebas (Puspitasari *et al.*, 2016).

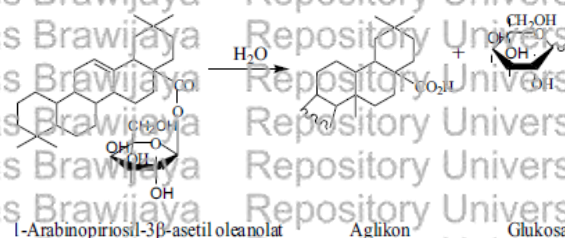


4.3.3 Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon. Aglikon (disebut juga sapogin) memiliki struktur yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid dan bersifat non polar. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (nama saponin diambil dari sifat utamanya yaitu "sapo" dalam bahasa Latin yang berarti sabun) (Fahrurnida dan Pratiwi, 2015).

Ekstrak tumbuhan yang mengandung kelompok senyawa saponin, polifenol (tanin) dan flavonoid yang tinggi memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi pula. Saponin sebagai bahan obat dapat mengurangi resiko aterosklerosis karena kemampuannya dalam mengikat kolesterol (Saefudin dan Basri, 2015).

Hasil penelitian ini menunjukkan hasil negatif pada senyawa saponin ditandai dengan tidak terbentuknya busa pada ekstrak metanol daun dan kulit batang. Tidak terbentuknya busa menunjukkan tidak adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005). Reaksi pembentukan busa pada uji saponin ditunjukkan pada Gambar 12.



(Sumber : Rorong *et al.*, 2012)

Gambar 6. Reaksi uji saponin

Penelitian Wahyuni *et al.* (2015) menunjukkan bahwa saponin pada daun *R. mucronata* dapat larut dalam metanol p.a, sedangkan saponin pada kulit batang *R. mucronata* dari hasil penelitian Pradaana *et al.* (2014) diperoleh dengan



menggunakan pelarut etanol. Hasil negatif yang didapat pada penelitian ini diduga terjadi karena perbedaan kandungan senyawa kimia aktif setiap tumbuhan berdasarkan kondisi lingkungan dan lokasi geografisnya serta perbedaan jenis pelarut. Pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol bersifat polar yang dapat menarik senyawa polar, semi polar dan non polar, akan tetapi saponin tergolong dalam senyawa non-polar karena terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid sehingga untuk mendapatkan hasil yang maksimal akan lebih baik menggunakan pelarut bersifat non-polar untuk uji saponin. Selain itu juga dapat dipengaruhi oleh lokasi sampel penelitian yang mempengaruhi laju metabolisme pada mangrove *R. mucronata*. Seperti yang dikatakan Robinson (1991) dalam Priyanto (2012), kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tidak sama pada semua jaringan dan pada setiap tahap pertumbuhan serta lokasi geografis yang mempengaruhinya. Hasil uji saponin dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 7. Hasil uji saponin

4.3.4 Tanin

Reaksi positif dari uji tanin ditandai dengan perubahan warna hijau atau biru kehitaman. Pada ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi hijau kehitaman merupakan tanin terkondensasi yang bersifat nonpolar (Putri et al., 2013). Terbentuknya warna hijau kehitaman pada sampel setelah



ditambahkan FeCl_3 1% karena tanin akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks. Reaksi tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 14.



(Sumber: Setyowati *et al.*, 2014)

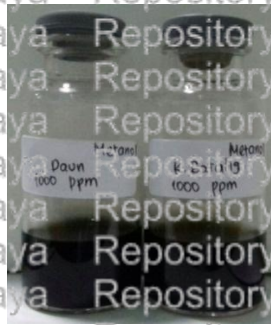
Gambar 8. Reaksi tanin dan FeCl_3

Hal ini didukung oleh hasil penelitian Wahyuni *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa tanin pada daun *R. mucronata* dapat larut dalam metanol p.a, sedangkan pada kulit batang *R. mucronata* menurut Ravikumar dan Gnanadesigan (2012) didapatkan hasil positif dengan menggunakan pelarut etanol. Hasil uji tanin dapat dilihat pada Gambar 15.

Berdasarkan absorbansi dengan panjang gelombang 517 nm kandungan senyawa tanin pada ekstrak metanol daun lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol kulit batang yaitu secara berturut-turut sebesar 576,64 ppm dan 376,08 ppm. Menurut Nurdiani *et al.* (2012) hasil uji fitokimia senyawa tanin pada *R. mucronata* didapatkan hasil lebih sedikit ekstrak daun daripada ekstrak kulit batang. Perbedaan hasil penelitian ini, diduga karena adanya perbedaan metode, seperti jenis pelarut, langkah pengujian senyawa tanin, lokasi geografis pengambilan sampel dan kandungan senyawa kimia aktif sendiri pada setiap bagian tumbuhan. Metode ekstraksi penelitian Nurdiani *et al.* (2012) menggunakan perbandingan sampel dengan pelarut 1:4 dengan waktu maserasi 24 jam, sedangkan pada penelitian ini menggunakan perbandingan 1:3 dengan



waktu maserasi 3x24 jam. Tahapan dalam pengujian senyawa ini menggunakan 0,5 gram serbuk sampel yang dipanaskan dengan 20 ml air kemudian disaring, sedangkan pada penelitian ini menggunakan larutan stok 1000 ppm dengan pengenceran empat konsentrasi. Selain itu perbedaan hasil uji senyawa tanin dengan Nurdiani *et al.* (2012) didukung oleh pernyataan Moteriyah *et al.* (2015) bahwa metode ekstraksi dan pelarut ekstraksi sangat mempengaruhi hasil ekstrak tanaman obat. Setiap tanaman dan pelarut memiliki sifat yang berbeda karena setiap tanaman dan bagian tanaman memiliki kandungan kimia aktif yang berbeda dalam konsentrasi yang berbeda.



Gambar 9. Hasil uji tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri, dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan terkondensasi.

Senyawa ini memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi *et al.*, 2012).

Shahidi dan Naczki (1995) dalam Suryanto dan Wehantouw (2009) mengemukakan bahwa senyawa yang tergolong antioksidan alami dari golongan senyawa fenolik seperti senyawa fenolik sederhana, flavonoid dan tanin



merupakan senyawa antioksidan yang mengandung struktur fenol dan memiliki gugus fungsi hidroksi yang banyak terdapat dalam tanaman, termasuk mangrove.

4.4 Hasil Uji Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan olehnya. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif ialah ketidakseimbangan antara radikal bebas (prooksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan berlebihnya produksi radikal bebas (Christijanti *et al.*, 2010).

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* ditentukan dengan metode Putri *et al.* (2013) yang sedikit dimodifikasi. Adanya aktivitas antioksidan ditandai dengan berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning, dengan warna awal larutan DPPH adalah ungu gelap. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *R. mucronata* menunjukkan perubahan warna kuning pada konsentrasi 62,5; 125; 250 ppm, sedangkan konsentrasi 31,25 ppm hanya terjadi pemudaran warna ungu, diduga aktivitas antioksidan pada konsentrasi ini rendah. Reaksi positif aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang *R. mucronata* pada semua konsentrasi dihasilkan warna jingga muda, meskipun diduga aktivitas antioksidan pada ekstrak ini sangat lemah. Hasil uji antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif terjadi perubahan warna kuning sempurna hanya pada konsentrasi 8 ppm, sedangkan 2 ppm dan 4 ppm berwarna ungu muda dan 6 ppm jingga sangat muda. Tidak terjadinya perubahan warna kuning secara sempurna atau



lemahnya aktivitas antioksidan diduga karena kecilnya konsentrasi uji yang digunakan untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dapat dilihat pada Gambar 16



(a) Ekstrak metanol daun *R. mucronata*



(b) Ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata*



(c) Kontrol positif vitamin C

Gambar 10. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif

Pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm untuk mengetahui nilai absorbansi dari warna yang terbentuk. Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkal radikal bebas adalah nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration 50%*) nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel



(senyawa uji) dengan simbol X terhadap aktivitas antioksidan rata-rata dengan simbol Y. Menurut Purwaningsih (2012) semakin kecil nilai IC₅₀ maka senyawa tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik. Untuk mendapatkan nilai IC₅₀ dilakukkan perhitungan persen inhibisi terlebih dahulu. Nilai persen inhibisi ini merupakan kemampuan suatu bahan untuk meredam aktivitas radikal bebas. Nilai ini berhubungan dengan konsentrasi bahan. Hasil uji aktivitas antioksidan daun dan kulit batang *R. mucronata* dapat dilihat pada Tabel 7, serta hasil uji aktivitas antioksidan kontrol positif vitamin C dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan IC₅₀ ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Daun <i>R. mucronata</i> ^a	31,25	0,415	49,57	117,498
	62,5	0,092	88,85	
	125	0,077	90,68	
	250	0,081	90,19	
Kulit Batang <i>R. mucronata</i> ^a	31,25	0,129	84,35	735,439
	62,5	0,171	79,25	
	125	0,171	79,21	
	250	0,225	72,68	
Blanko		0,822		

^a $p > 0,05$; ^b $p < 0,05$

Tabel 4. Hasil Perhitungan Nilai Inhibisi dan IC₅₀ kontrol positif Vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀
Vitamin C ^b	2	0,641	22,09	4,419
	4	0,451	45,20	
	6	0,215	73,90	
	8	0,135	83,58	
Blanko		0,822		

^a $p < 0,05$; ^b $p < 0,05$

Menurut Cos *et al.* (1998) dalam Mahmiah *et al.* (2016) jika nilai IC₅₀ sampel uji <1000 ppm maka sampel tersebut memiliki aktivitas antioksidan.



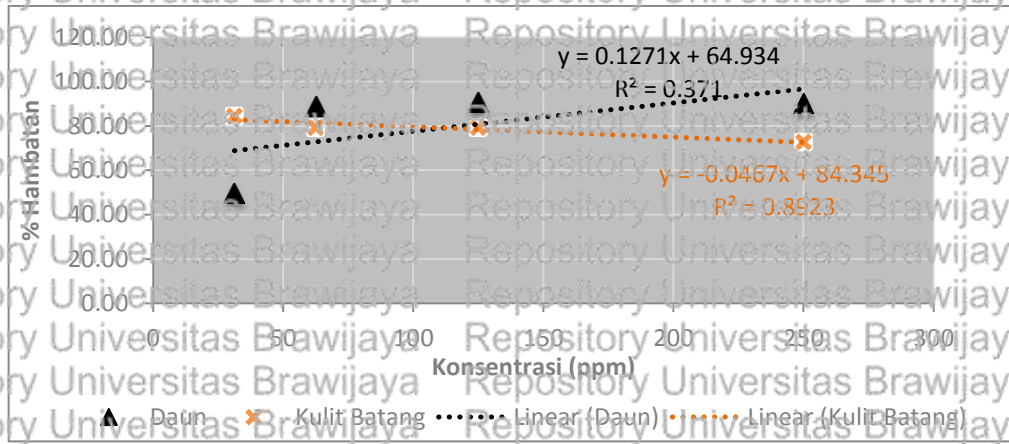
Molyneux (2004) dalam Salamah *et al.* (2008) menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Bilai nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Perhitungan nilai inhibisi dapat dilihat pada Lampiran 3.

Hasil uji berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari ekstrak metanol daun *R. mucronata* sebesar -117,498 ppm sedangkan kulit batang bernilai 735,439 ppm, kedua hasil tersebut sangat berbeda jauh dengan nilai kontrol positif vitamin C yang bernilai 4,419 ppm. Nilai IC_{50} pada vitamin C yang tergolong sangat tinggi tidak berbeda jauh dari penelitian Hidayah *et al.* (2015) yang menunjukkan aktivitas antioksidan pada Umbi Bawang Dayak, di mana nilai IC_{50} vitamin C yaitu 7,10 ppm. Hasil klasifikasi sifat antioksidan berdasarkan data yang ada dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 5. Hasil klasifikasi sifat antioksidan

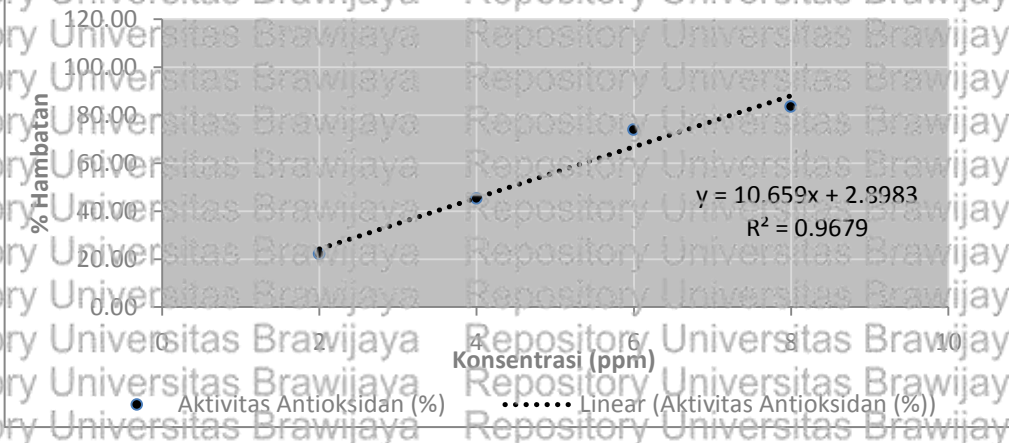
No	Sampel	Nilai IC_{50}	Nilai Standar (Trisnantini <i>et al.</i> , 2016)	Keterangan
1	Ekstrak metanol daun <i>R. mucronata</i>	-117,498	-	Tidak terdefinisi
2	Ekstrak metanol kulit batang <i>R. mucronata</i>	735,439	>200 ppm	Sangat lemah
3	Vitamin C	4,419	<50 ppm	Sangat kuat

Ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* memiliki aktivitas antioksidan sama halnya dengan vitamin C walaupun berbeda klasifikasi sifat antioksidan yang didapat. Pengujian antioksidan juga menghasilkan hubungan antara nilai inhibisi dengan konsentrasi. Hubungan konsentrasi dan nilai inhibisi (aktivitas antioksidan) ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* serta vitamin C secara berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 17 dan 18.



Gambar 11. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun dan kulit batang *R.*

mucronata



Gambar 12. Grafik aktivitas antioksidan vitamin C

Gambar 17 menunjukkan hasil persamaan regresi linear ekstrak daun metanol *R. mucronata* yaitu $y = 0,1271x + 64,934$, dengan variabel x bernilai -117,498 dan ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata* yaitu $y = -0,0467x + 84,345$, dengan variabel x bernilai 735,439. Gambar 18 menunjukkan hasil persamaan regresi linear vitamin C yaitu $y = 10,659x + 2,8983$, dengan variabel x bernilai 4,419. Nilai x merupakan nilai IC_{50} yang didapat dari persamaan regresi linear dengan variabel y bernilai 50. Nilai 0,1271 x ; -0,0467 x ; dan 10,659 x secara berturut-turut pada persamaan regresi ekstrak daun, kulit batang *R. mucronata* dan vitamin C merupakan koefisien kemiringan (slope) garis regresi yang



merupakan median kemiringan dari seluruh pasangan garis dan titik-titik dengan nilai x yang berbeda. Nilai slope positif menunjukkan hubungan positif, yang artinya semakin tinggi nilai x maka semakin besar nilai y . Sebaliknya, hasil negatif artinya semakin tinggi nilai x maka semakin kecil nilai y . Hasil regresi pada penelitian ini didapatkan nilai slope positif pada ekstrak metanol daun *R. mucronata* dan vitamin C yang artinya semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula nilai inhibisi, sedangkan nilai slope negatif pada ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata* yang berarti semakin tinggi konsentrasi semakin kecil nilai inhibisi.

Menurut penelitian Mahmiah *et al.* (2016) tentang antioksidan pada ekstrak kulit batang *R. mucronata* didapatkan hasil persamaan regresi linear juga menunjukkan regresi linear negatif, yang mana meningkatnya konsentrasi sampel menyebabkan menurunnya nilai inhibisi.

Pada grafik regresi linear ekstrak metanol daun *R. mucronata* diketahui koefisien determinasi (R^2) bernilai 0,371, pada ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata* sebesar 0,8923 dan vitamin C sebesar 0,9679. Nilai R^2 0,371 pada ekstrak metanol daun berarti pengaruh konsentrasi sebesar 37,1% dan 62,9% dipengaruhi oleh faktor lainnya, sedangkan pada ekstrak metanol kulit batang nilai R^2 sebesar 0,8923 yang artinya pengaruh konsentrasi sebesar 89,23% dan 10,77% dipengaruhi oleh faktor lainnya. Pada kontrol positif vitamin C nilai R^2 bernilai 0,9679 berarti 96,79% dipengaruhi oleh konsentrasi dan 3,21% oleh faktor lainnya.

Data dari Tabel 9 menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak metanol daun *R. mucronata* memiliki nilai negatif, berbeda dengan hasil penelitian Wahyuni *et al.* (2015) yang menunjukkan nilai IC_{50} pada ekstrak metanol daun *R. mucronata* sebesar 4,9 ppm dan tergolong sangat kuat. Hal ini diduga terjadi karena adanya perbedaan metode, seperti jenis pelarut, suhu pengeringan dan perbandingan antara larutan sampel dan larutan DPPH. Selain itu juga dapat dipengaruhi oleh



diperkuat dengan penelitian Mahmiah *et al.* (2016) yang juga melakukan uji aktivitas antioksidan dengan konsentrasi hampir sama pada kulit batang *R. mucronata* menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 438,8349 ppm. Dapat disimpulkan bahwa konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini hanya berpengaruh pada ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata*, tetapi tidak pada daun.

Hasil antioksidan yang tergolong lemah pada ekstrak metanol kulit batang *nata* diambil dari perairan Kelurahan Probolinggo yang bersih dan tidak tercemar sehingga dalam menghasilkan senyawa kimia aktifnya tidak begitu banyak apabila dibandingkan dengan sampel yang diambil dari perairan tercemar, dimana pada lingkungan tercemar makhluk hidup akan melakukan mekanisme kimiawi di dalam tubuhnya untuk mempertahankan diri dari kondisi sekitarnya yang kurang menguntungkan. Menurut Munandar *et al.* (2014) efek stres terhadap perubahan lingkungan pada batas toleransi biasanya akan diikuti dengan produksi metabolit sekunder sebagai pertahanan diri.

Walaupun tidak terdefinisi dan tergolong sangat lemah, tetapi ekstrak metanol daun dan kulit batang *R. mucronata* masih memiliki potensi sebagai antioksidan karena di dalamnya terdapat beberapa senyawa antioksidan. Pernyataan ini juga didukung oleh penelitian Suryanto dan Wenantouw (2009) yang mengemukakan bahwa senyawa yang tergolong antioksidan alami dari golongan senyawa fenolik seperti senyawa senyawa fenolik sederhana, seperti flavonoid dan tanin.

R. mucronata diduga karena mendapat pengaruh dari kondisi lingkungan.
Sampel *R. mucro*



BAB V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan bahwa *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Kandungan senyawa alkaloid terdapat lebih banyak pada ekstrak metanol kulit batang daripada ekstrak metanol daun, sebaliknya untuk senyawa flavonoid dan tanin lebih banyak terdapat pada ekstrak metanol daun daripada kulit batang.

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit batang *R. mucronata* menunjukkan aktivitas antioksidan namun tergolong sangat lemah pada konsentrasi IC_{50} sebesar 735,439 ppm dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Pada ekstrak metanol daun *R. mucronata* didapatkan nilai IC_{50} yang sangat kecil bahkan sampai minus (-117,498 ppm) sehingga mengacu pada tabel sifat aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} bahwa nilai minus tersebut tidak dapat didefinisikan.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlunya dilakukan purifikasi untuk setiap senyawa kimia aktif yang akan diuji aktivitas antioksidannya, memperkecil konsentrasi uji aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol daun lebih kecil dari 62,5 ppm, memperbanyak jumlah variasi konsentrasi uji dan memperkecil jarak variasi konsentrasi uji.



DAFTAR PUSTAKA

- Aksara, R., Musa, WJ., & Alio, L. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang. *Jurnal Entropi* 8 (1): 514-519.
- Alik, TSD., Umar, MR., Priosambodo, D. 2013. Analisis Vegetasi Mangrove di Pesisir Pantai Mara Bombang Kabupaten Pinrang. *Jurnal Repository Unhas*. Universitas Hasanuddin: Makassar, Sulawesi Selatan.
- Amin, I. 2008. Aplikasi Ekstrak Daun Sirih dalam Menghambat Oksidasi Lemak Jambal Patin. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- A'yun, Q. & Laily, AN. 2015. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Malang. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim: Malang.
- Banerjee, D. Chakrabarti, S. Hazra, AK. Banerjee, S. Ray, J dan Mukherjee, B. 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Some Mangroves in Sundarbans. *African Journal of Biotechnology* 7 (6): 805-810.
- Christijanti, W., Utami, NR., Iswara, A. 2010. Efek Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Alletherin. *Biosaintifika* 2 (1): 18-26.
- Daud, MF., Sadiyah, ER. & Rismawati, E. 2011. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Berdaging Buah Putih. *Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi, dan Kesehatan* 2 (1): 55-62.
- Diastuti, H dan Suwandri. 2009. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antikanker Ekstrak Kulit Batang *Rhizopora mucronata* serta Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Molekul* 4 (2): 54-61.
- Dungir, SG, Katja, DG., & Kamu, VS. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA Unsrat Online* 1 (1). 11-15.
- Ernawati dan Hasmila, I. 2015. Uji Fitokimia dan Aktifitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*). FMIPA Universitas Negeri Makassar.
- Fahrunnida dan Pratiwi, R. 2015. Kandungan Saponin Buah, Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Laboratorium Biokimia, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada.
- Febrinda, AE., Astawan, M., Wresdiyati, T. & Yuliana, ND. 2012. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 24 (2): 161-167.
- Fitriana, WD, Fatmawati, S. & Ersam, T. 2015. Uji Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*. Bandung: Hlm. 657-660.



Hidayah, AS, Mulkiya, K, Purwanti L. 2015. Uji Antioksidan Umbi Bawang Dayak (*Eleutherinebulbosa* Merr.) *Prosiding Penelitian SpeSIA Unisha* ISSN 2460-6472. Universitas Islam Bandung.

Jacoeb, AM, Purwaningsih, S, & Rinto. 2011. Anatomi, Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Daun Mangrove Api-Api (*Avicennia marina*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 14 (2): 143-152.

Mahmiah, Gimam, Aminah, Nanik S., dan Tanjung, M. 2016. Antioxidant Activity of Methanol Extracts from The Stem Bark of Mangrove Plant *Rhizophora mucronata*. *Proceeding ICMHS*. Universitas Hang Tuan dan Universitas Airlangga, Surabaya.

Malangngi, LP., Sangi, Meiske S., dan Paedong, JE. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antiocksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill). *Jurnal Mipa Unsrat Online* 1 (1): 5-10.

Marliana, SD, Suryanti, V, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi* 3 (1): 26-31.

Mendrofa, AN, Karsini, I, Mulawarmanti, D. Ekstrak Daun Mangrove (*A. Marina*) Mempercepat Kesembuhan Ulkus Traumatikus. *Dentofasial* 14 (1): 11-14.

Mikusanti, Elfita, Hotdelina, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Penelitian Sains* 15 (2): 60-69.

Moteriya, P, Dalsaniya, A, Chanda, S. 2015. Antioxidant and Antimicrobial Activity of A Mangrove Plants *Avicennia marina* (Forsk.). *Journal of Coastal Life Medicine* 3 (9): 713-717.

Mukraini. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* 7 (2): 361-367.

Munandar, A, Mustopa, AZ, Tarman, K, dan Nuhayati, T. 2014. Aktivitas Antibakteri Protein Kapang *Xylaria psidii* KT30 terhadap *Escherichia coli* dan *Basilus subtilis*. *Jurnal Tenologi dan Industri Pangan* 25 (2): 146-151.

Nababan, E, Suryanto, D, Ari, F. 2016. Potensi Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Sebagai Antibakteri untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Benih Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). *Aquacoastmarine*: 1-12.

Ningrum., HP, Yeni, LF, Ariyanti, E. 2013. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Sawo Manila Terhadap *E. coli* dan Implementasinya dalam Pembelajaran Peranan Bakteri. Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP: Untan.

Nofiani, R. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia* 10 (2): 120-125.



Nuraina, E. 2012. Pengaruh Kepemilikan Institusional dan Ukuran Perusahaan terhadap Kebijakan Hutang dan Nilai Perusahaan (Studi Pada Perusahaan Manufaktur yang Terdaftar di BeI). *Jurnal Akuntansi* 4 (1): 51-70.

Nurdiani, R., Firdaus, M., Prihanto, A. A. 2012. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Metanol Extract of Mangrove Plant (*Rhizophora mucronata*) from Prorong River Estuary. *Journal Basic Science And Technology* 1 (2): 27-29.

Pariyono. 2006. Kajian Potensi Kawasan Mangrove dalam Kaitannya dengan Pengelolaan Wilayah Pantai di Desa Panggung, Bulakbaru, Tanggulangre, Kabupaten Jepara. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.

Pradana, D., Suryanto, D., Yunasfi. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia* sp. Secara In Vitro. *Jurnal Aquacoastmarine*: 78-91.

Pramesti, R. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil). *Buletin Oseanografi Marina* 2: 7-15.

Pratomo, DS. dan Astuti, EZ. 2015. Analisis Regresi dan Korelasi antara Pengunjung dan Pembeli terhadap Nominal Pembelian di Indomaret Kedungmundu Semarang dengan Metode Kuadrat Kecil. Universitas Dian Nuswantoro, Ilmu Komputer, Teknik Informatika.

Priyanto, RA. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Pada Buah Bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan. Bogor.

Purnobasuki, H. 2005. Tinjauan Perspektif Hutan Mangrove. Airlangga University Press: Surabaya.

Purwaningsih, S. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Mata Merah (*Cerithidea obtusa*). *Ilmu Kelautan* 17 (1): 39-48.

Puspitasari, ML., Wulansari, TV., Widyaningsih, TD., Maligan, JM., & Nugrahini, NID. 2016. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). 2016. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 4 (1): 283-290.

Putri, IJ., Fauziyah, & Elfitra. 2013. Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Asal Pesisir Banyuwasin Sumatera Selatan Dengan Metode DPPH. *Maspuri Journal* 5 (1): 16-21.

Putri, WS., Warditani, NK., Larasanty, LPF. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*: 56-60.

Ravikumar S., dan Gnanadesigan, M. 2012. Hepatoprotective and Antioxidant Properties of *Rhizophora mucronata* Mangrove Plant in CCl₄ Intoxicated Rats. *J Exp Clin Med* 4 (1): 66-72.



Rienoviar dan Nashrianto, H. 2010. Penggunaan Asam Askorbat (Vitamin C) untuk Meningkatkan Daya Simpan Sirup Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Jurnal Hasil Penelitian Industri* **23** (1): 8-18.

Riadini, RK., Sidharta, BBR., Pranata, FS. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi dan Umur Panen. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.

Rohman, A. dan Riyanto, S. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara in vitro. *Majalah Farmasi Indonesia* **16** (3): 136-140.

Rorong, JA., Sudiarmo, Prasetya B., Mandang, JP., Suryanto E. 2012. Analisis Fitokimia Limbah Pertanian Daun Cengkih (*Eugenia aromatica*) sebagai Biosensitizer untuk Fotoreduksi Besi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa 2012*. ISBN: 978-979-028-550-7. Surabaya.

Saefudin dan Basri, E. 2015. Potensi Antioksidan dan Sifat Sitotoksik Ekstrak Kulit Kayu Sembilan Jenis Tumbuhan dari Taman Nasional Lore Lindu. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* **34** (2): 147-155.

Saifudin, A. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Deepublish: Yogyakarta.

Salamah, E., Ayuningrat, E., & Purwaningsih, S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari kijing taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, **11** (2): 119-132.

Sami, FJ. dan Rahimah, S. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* **2** (2): 107-110.

Sanda, FM., Victor, ME., Monica, TA., Alina, C. 2012. Spectrophotometric Measurements Techniques for Fermentation Process. Cross Border Co-operation: Hungary-Romania.

Sani, RN., Nisa, FC., Andriani, RD. & Maligan, JM. 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga aut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* **2** (2): 121-126.

Sapri, Pebrianti, R. dan Faizal, M. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tumbuhan Singgah Perempuan (*Loranthus* sp) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kimia* : 203-210. Akademi Farmasi dan BPOM Samarinda.

Sastrawan, IN., Sangi, M & Kamu, V. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) menggunakan Metode DPPH. FMIPA Universitas Sam Ratulangi: Manado.

Sembodo, T AP. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro dan Kemampuan Proteksi Terhadap Kerusakan DNA dari Protein Biji Melinjo (*Gnetum*



gnemon L.). <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/66838>.
Diakses tanggal 18 Desember 2016.

Senja, YR., Issulaningtyas, E., Nugroho, AK., Setyowati, EP. 2014. tPerbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*). *Traditional Medicine Journal* **19** (1): 43-48.

Septiana, AT., Muchtadi, D., Zakaria, FR. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) pada Asam Linoleat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **13** (2): 105-110.

Setyono, DED. 2015. Kondisi Lingkungan Pesisir dan Perairan Probolinggo, Jawa Timur. Jakarta: LIPI Press.

Setyowati, WAE. Ariani, SRD. Ashadi. Mulyani, B. Rahmawati, CP. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI PMIPA FKIP UNS. Surakarta.

Suryanto, E. dan Wehantouw, F. 2009. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis F.*). *Chemistry Program* **2** (1): 1-7.

Suseno, N., Adiarto, T., Dalton, A., & Tendean, P. 2014. Ekstraksi Tanin Dari Kulit Kayu Pinus Sebagai Bahan Perekat Briket. *Seminar Rekayasa Teknik Kimia dan Teknologi Proses*. UNDIP, Semarang.

Sutjipto, Wahyu JP., Widlyastuti, Y. 2009. Pengaruh Cara Pengeringan terhadap Perubahan Fisikokimia Daun Kumis Kucing (*Orthosipon stamineus Benth*). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* **2** (1): 24-27.

Tanaya, V., Retnowati, R., dan Suratmo. 2015. Fraksi Semi Polar dari Daun Mangga Kasturi. *Kimia Student* **1** (1): (778-784).

Tarman, K., Purwaningsih, S., Negara, AAAPP. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap Bakteri Penyebab Diare. *JPHPI* **16** (3): 249-258.

Tjandra, O. Rusliati, T. & Zulhpri. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambut Rapih (*Nephelium lappaceum*). FMIPA Universitas Negeri Jakarta.

Tristanitini, D., Ismawati, A., Pradana, BT., & Jonathan, JG. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L*). *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*.

Umrh. 2015. Penyemaian dan Penanaman *Rhizophora apiculata* di Daerah Pasca Penambangan Timah Inkonvensional (TI) di Muara Kudai Kabupaten Bangka. *Jurnal Kelautan* **8** (1): 19-25.

Wahyuni, WT., Darusman, LK. dan Surya, NK. 2015. Potency of *Rhizopora* spp. Extracts as Antioxidant and Inhibitor of Acetylcholinesterase. *Procedia Chemistry* **16**: 681-686.



Wetlands, 2017. Deskripsi Mangrove *Rhizophora mucronata*.
http://wetlands.or.id/mangrove/mangrove_species.php?id=37. Diakses
 tanggal 16 April 2017.

Widi, RK., & Indriati, T. 2007. Screening and Identification of Alkaloid Compounds
 in Kayu Kuning Stem (*Arcangelisia Flava* Merr). *Jurnal ILMU DASAR* 8
 (1): 24-29.

Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak
 Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara*
Sains 15 (1): 48-52.

Zipcodezoo. 2016. Deskripsi spesies *Rhizophora mucronata*.
http://zipcodezoo.com/index.php/Rhizophora_mucronata. Diakses
 tanggal 16 April 2017.

Zuhra, CF., Tarigan, JB., & Sihotang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa
 Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal*
Biologi Sumatra 3 (1): 7-10.