

**PENGARUH PERBEDAAN PELARUT EKSTRAKSI TERHADAP TOKSISITAS DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE *Xylocarpus granatum***

**ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIRAN**

Oleh :
Dias Ayuni
NIM. 125080301111008



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**



**PENGARUH PERBEDAAN PELARUT EKSTRAKSI TERHADAP TOKSISITAS DAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE *Xylocarpus granatum***

ARTIKEL SKRIPSI
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh :
Dias Ayuni
NIM. 125080301111008

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP
NIP. 19581231 198601 2 002
Tanggal : ~~08 NOV 2016~~

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal : ~~08 NOV 2016~~



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSB
Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : ~~08 NOV 2016~~

PENGARUH PERBEDAAN PELARUT EKSTRAKSI TERHADAP TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG MANGROVE *Xylocarpus granatum*

Dias Ayuni⁽¹⁾, Titik Dwi Sulistiyati⁽²⁾ dan Bambang Budi Sasmito⁽³⁾

Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Xylocarpus granatum merupakan salah satu jenis mangrove yang ada di Indonesia. Kulit batang *Xylocarpus granatum* mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, triterpenoid, tanin serta proanthocyanidin yang memiliki efek toksik, farmakologik dan ekologi yang penting. Senyawa bioaktif tersebut dapat diperoleh melalui proses ekstraksi dengan pelarut tertentu. Jenis pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi sifat fisikokimia dari ekstrak yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penggunaan pelarut ekstraksi yang berbeda terhadap toksisitas dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang mangrove *Xylocarpus granatum* yang diperoleh dari kawasan hutan mangrove Pancer Cengkong, Trenggalek, Jawa Timur. Kulit batang *Xylocarpus granatum* dipreparasi dalam bentuk segar, kering dan tepung. Sampel diekstraksi secara maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki nilai rendemen tertinggi dan di uji lanjut kadar air, fitokimia, total fenol, toksisitas metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), aktivitas antioksidan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) serta uji LC-MS. Ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* masuk dalam kategori ekstrak kental dan positif mengandung senyawa bioaktif yang sama yaitu flavonoid, tanin dan triterpenoid. Ekstrak etil asetat tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki nilai total fenol tertinggi sebesar 409,126 mgGAE/100g sampel, memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 92,033 ppm serta teridentifikasi mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti *caffeic acid*, *3,4-dihydroxybenzaldehyde* dan *coumarin*. Ekstrak n-heksan tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki aktivitas toksik paling kuat dengan nilai LC₅₀ sebesar 79,012 ppm serta teridentifikasi mengandung senyawa yang berpotensi toksik seperti *theophylline*, *berberin* dan *coumarin*.

Kata Kunci : *Xylocarpus granatum*, toksisitas, aktivitas antioksidan

- (1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
(2) dan (3) Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

THE INFLUENCE OF DIFFERENCE SOLVENT EXTRACTION ON THE TOXICITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM *Xylocarpus granatum* STEM BARK EXTRACT

Dias Ayuni⁽¹⁾, Titik Dwi Sulistiyati⁽²⁾ dan Bambang Budi Sasmito⁽³⁾

Technology of Fishery Products
Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University

ABSTRACT

Xylocarpus granatum is one type of mangrove in Indonesia. The stem bark of *Xylocarpus granatum* contain bioactive compounds such as flavonoids, triterpenoids, tannins and proanthocyanidin which have toxic effects, pharmacological and ecological. The bioactive compound can be obtained by extraction with certain solvents. The type of solvent will be used can influence the physicochemical properties of the extract. The purpose of this study to determine the influence of using different extraction solvent on the toxicity and antioxidant activity from stem bark extract of *Xylocarpus granatum* that obtain from mangrove forest in Pancer Cengkerong, Trenggalek, East Java. The stem bark of *Xylocarpus granatum* prepared in the fresh form, dry and flour. Samples were extracted by maceration terraced with n-hexane, ethyl acetate, and methanol. The results show that the stem bark flour extract of *Xylocarpus granatum* have the highest value in yield of extract and it can be tested in moisture content, phytochemical, total phenols, toxicity with BSLT methods (Brine Shrimp Lethality Test), antioxidant activity with DPPH methods (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) and LC-MS test. N-hexane, ethyl acetate and methanol extract of stem bark flour (*Xylocarpus granatum*) enters in the category of viscous extract and contain the same bioactive compounds such as flavonoids, tannins and triterpenoids. Ethyl acetate extract of the stem bark flour (*Xylocarpus granatum*) has a highest value of phenol total in 409.126 mgGAE/100g sample, it has the most powerful antioxidant activity (IC₅₀ = 92.033 ppm) and it is potentially containing compounds of antioxidants component such as caffeic acid, 3,4-dihydroxybenzaldehyde and coumarin. N-hexane extract of the stem bark flour (*Xylocarpus granatum*) has most strongly toxic activity (LC₅₀ = 79.012 ppm) and it is potentially containing compounds of toxic component such as theophylline, berberine and coumarin.

Keywords : *Xylocarpus granatum*, toxicity, antioxidant activity

- (1) Student of the Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University
(2) and (3) Lecturer of the Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University

PENDAHULUAN

Mangrove merupakan salah satu sumber daya alam Indonesia yang jumlahnya melimpah dan terbanyak di dunia, tidak hanya dari segi kuantitas area namun juga berdasarkan jumlah spesies yang ada (Purnobasuki, 2004). Menurut Kumar *et al.*, (2014) tumbuhan mangrove mengandung beberapa senyawa bioaktif yang memiliki sifat obat dan signifikan dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan manusia.

Senyawa bioaktif dapat diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut tertentu. Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan dapat mempengaruhi sifat fisikokimia ekstrak (Septiana dan asnani, 2012). N-heksan dipilih sebagai pelarut karena bersifat non polar (Munawaroh dan Handayani, 2010). N-heksan dapat menarik senyawa bioaktif yang memiliki tingkat kepolaran sama dengan n-heksan (Purnamasari *et al.*, 2013). Etil asetat dipilih sebagai pelarut karena bersifat semi polar serta mampu menarik senyawa bioaktif flavonoid pilohidroksi dan fenol (Mulyati, 2009). Metanol dipilih sebagai pelarut karena bersifat universal, dapat menarik senyawa bioaktif alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Astarina *et al.*, 2013).

Senyawa bioaktif dari tiap spesies mangrove berbeda-beda. Senyawa bioaktif tersebut dapat dianalisis dengan uji fitokimia dengan melihat pengujian reaksi warna yang terjadi menggunakan suatu pereaksi dengan tujuan untuk menentukan ciri senyawa bioaktif

yang terkandung dalam suatu ekstrak kasar yang diduga mempunyai efek farmakologis dan bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi (Artini *et al.*, 2013).

Xylocarpus granatum merupakan spesies mangrove dari family *Meliaceae* yang tumbuh dipesisir pantai, memiliki kulit kayu lunak, padat, ringan dan berwarna coklat terang hingga oranye (Gazali, 2014). Menurut Yanti (2008), kandungan zat ekstraktif terbanyak yang terdapat pada bagian tanaman selain pada kayu teras juga terdapat pada kulit batangnya. Kulit batang mangrove *Xylocarpus granatum* menurut Wangensteen *et al.*, (2013) mengandung senyawa bioaktif flavonoid, triterpenoid, tanin, dan proanthocyanidin yang memiliki efek toksik, farmakologik dan ekologi yang penting.

Efek toksik dari suatu ekstrak tanaman dapat diketahui dengan melakukan uji ketoksikan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Efek toksik dari ekstrak ditentukan dalam rentang waktu 24 jam setelah pemberian dosis uji pada larva *Artemia salina* dengan nilai LC_{50} sebagai parameter uji (Cahyadi, 2009). Penelitian toksisitas merupakan cara potensial yang digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengevaluasi efek toksik dari suatu ekstrak tanaman yang berhubungan dengan pertumbuhan tumor (Utami, 2007).

Mangrove *Xylocarpus granatum* juga memiliki aktivitas farmakologik seperti antimikroba, antimalaria, antiulcer, antidiare, fungisida, kanker dan penyembuhan luka (Trilochana *et al.*, 2013). Senyawa fenolik seperti

flavonoid pada *Xylocarpus granatum* dapat membawa fungsi antioksidan dalam sel tanaman tersebut. Menurut Agati *et al.*, (2007), baik pada penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo*, senyawa tersebut terbukti efektif mampu mengikat radikal bebas dan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antioksidan.

Aktivitas pengikatan radikal bebas dari suatu ekstrak tanaman dapat di uji dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) dengan nilai IC₅₀ sebagai parameter uji. IC₅₀ adalah nilai yang menunjukkan konsentrasi larutan sampel yang mampu mereduksi 50% dari aktivitas DPPH (Ika, 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Haque *et al.*, (2007) diketahui bahwa kulit batang mangrove jenis *Xylocarpus mollucensis* yang diekstrak dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas toksik terhadap *Artemia salina* Lench. dan pada penelitian Akter *et al.*, (2016) diketahui bahwa kulit batang *Xylocarpus mekongensis* yang diekstrak dengan pelarut metanol maupun kloroform memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Namun penelitian mengenai uji toksisitas dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar kulit batang mangrove jenis *Xylocarpus granatum* dengan pelarut yang berbeda pada saat maserasi secara bertingkat belum banyak ditemukan, sehingga penelitian ini dilakukan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang mangrove *Xylocarpus*

granatum yang diperoleh dari Kawasan Hutan Mangrove Pancer Cengkong, Trenggalek, Jawa Timur. Kulit batang di ambil dari bagian dahan pohon mangrove *Xylocarpus granatum* yang berumur kisaran 5 sampai 10 tahun dengan diameter batang \pm 5 cm. Selain itu juga dibutuhkan bahan seperti pelarut n-heksan, etil asetat, metanol, kertas saring, plastik wrap, alumunium foil, kertas label, aquades, H₂SO₄, HCl, pereaksi Meyer, FeCl₃ 1%, serbuk magnesium, asam asetat anhidrat, asam galat, pereaksi folin ciocelteau 50%, Na₂CO₃ 5%, air laut, starter indukan telur *Artemia salina* Lench, DPPH, dan asam askorbat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat-alat seperti timbangan digital, rotary evaporator, gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, botol kaca, spatula, corong, botol timbang, oven, crushable tang, desikator, timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume, labu ukur, bola hisap, botol vial, spektrofotometri UV-Vis, mikro pipet, aerator, selang, cover glass, pipet serelogis, serta instrument LC-MS.

Metode Penelitian

Metode merupakan suatu kerangka berfikir dalam menyusun suatu gagasan dengan maksud dan tujuan tertentu. Sedangkan penelitian merupakan suatu kegiatan mengkaji secara teliti dan teratur dalam suatu bidang ilmu tertentu yang menurut pada suatu kaidah yang disebut metode (Notohadiprawiro, 2006). Metode yang digunakan dalam penelitian ini

adalah metode eksperimen yang bersifat laboratoris.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini diawali dengan proses preparasi sampel kulit batang *Xylocarpus granatum* dengan tiga macam bentuk sampel, yaitu sampel kulit batang *Xylocarpus granatum* segar, kering, dan tepung. Sampel diekstraksi secara maserasi bertingkat dan dihitung persen rendemen ekstraknya. Sampel yang memiliki nilai persen rendemen tertinggi akan dipilih sebagai sampel untuk di uji lanjut seperti uji kadar air, fitokimia, total fenol, toksisitas, aktivitas antioksidan dan uji *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry* (LC-MS).

Preparasi Sampel

Preparasi sampel meliputi pengumpulan kulit batang *Xylocarpus granatum*, pencucian dengan air mengalir dan proses pengecilan ukuran hingga berbentuk persegi panjang ukuran 2 x 10 mm yang digunakan sebagai sampel dalam bentuk segar. Preparasi untuk sampel dalam bentuk kering yaitu setelah proses pencucian dan proses pengecilan ukuran dilanjutkan dengan proses pengeringan sampel dengan oven suhu 50°C (\pm 10 jam). Preparasi untuk sampel dalam bentuk tepung setelah proses pengeringan dilanjutkan dengan proses penghalusan sampel kering dengan blender dan disaring dengan ayakan ukuran 60 mesh.

Ekstraksi Sampel

Sampel kulit batang *Xylocarpus granatum* dalam bentuk segar, kering dan tepung masing-

masing ditimbang sebanyak 150 g dan dimasukkan kedalam botol kaca dan ditambahkan pelarut non polar n-heksan sebanyak 600 ml (1:4 b/v). Botol kaca dengan segera ditutup dan di bungkus dengan aluminium foil. Sampel dan pelarut dalam botol kaca tersebut dihomogenkan selama 24 jam pada suhu ruang (28-30°C) dengan cara sesering mungkin dikocok menggunakan tangan. Hasil maserasi sampel dalam pelarut n-heksan disaring dengan kertas saring halus dan menghasilkan filtrat dan residu. Selanjutnya filtrat di pisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu 45°C sehingga diperoleh ekstrak n-heksan kulit batang dan sisa pelarut pada ekstrak diuapkan kembali dengan gas nitrogen. Residu dari ekstrak n-heksan kulit batang dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat sebanyak 600 ml dan dihomogenkan selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian disaring hingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat selanjutnya dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu 45°C sehingga diperoleh ekstrak etil asetat kulit batang, dan sisa pelarut pada ekstrak diuapkan kembali dengan gas nitrogen. Residu dari ekstrak etil asetat kulit batang dimaserasi kembali dengan pelarut metanol sebanyak 600 ml dan dihomogenkan selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian disaring hingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat selanjutnya dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *vacuum rotary evaporator* suhu 45°C sehingga diperoleh ekstrak metanol kulit batang

dan sisa pelarut pada ekstrak diuapkan kembali dengan gas nitrogen.

Perhitungan Rendemen

Rendemen dari masing-masing ekstrak kulit batang *Xylocarpus granatum* dihitung menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel yang diekstrak}} \times 100\%$$

Uji Kadar Air

Uji kadar air menggunakan metode oven kering (metode termogravimetri) dengan rumus perhitungan kadar air bahan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{(W3-W2)}{W1} \times 100 \%$$

Keterangan:

W1 = Berat awal sampel

W2 = Berat botol timbang dan sampel setelah pengeringan

W3 = Berat botol timbang dan sampel sebelum pengeringan

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Prinsip uji alkaloid yaitu mereaksikan 1 ml ekstrak dengan 1 ml HCl dan 1 tetes pereaksi Meyer. Hasil positif uji alkaloid pada pereaksi Meyer ditandai dengan terbentuknya endapan putih.

Uji Flavonoid

Prinsip uji flavonoid yaitu mereaksikan 1 ml ekstrak dengan 0,05 g serbuk Mg dan 1 ml HCl. Hasil uji sampel positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna merah, kuning sampai jingga.

Uji Tanin

Prinsip uji tanin yaitu mereaksikan 1 ml ekstrak dengan pereaksi 3 tetes FeCl₃. Hasil positif mengandung tanin jika terbentuk warna coklat atau biru kehitaman jingga.

Uji Steroid dan Triterpenoid

Prinsip uji steroid dan triterpenoid yaitu mereaksikan 1 ml ekstrak dengan 0,5 ml asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat. Hasil positif sampel ekstrak mengandung triterpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga atau ungu, sedangkan positif mengandung steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru dan jika warna berubah menjadi hijau kebiruan maka positif sterol.

Uji Saponin

Prinsip uji saponin menggunakan metode Forth dengan melihat ada atau tidaknya busa yang terbentuk dengan mereaksikan 1 ml sampel dengan 1 ml aquades. Hasil positif mengandung saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang saat ditambahkan satu tetes HCl.

Total Fenol (Ratnayanti *et al.*, 2012)

Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Asam galat 0,01 g diencerkan dengan aquades sampai tanda batas labu ukur 100 ml. Larutan asam galat kemudian diambil beberapa 0, 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 dan 3,2 ml dan masing-masing direaksikan dengan 0,8 reagen folin 50% dan ditambahkan larutan Na₂CO₃ 5% sampai tanda batas labu ukur 10 ml. kemudian larutan didiamkan selama 60 menit dan setelah itu serapannya dapat diukur dengan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 760 nm. Hasil absorbansi dialurkan dengan konsentrasi sehingga didapatkan kurva standar dengan persamaan regresi $y = bx + a$.

Penentuan Total Fenol Ekstrak

Ekstrak kulit batang mangrove *Xylocarpus granatum* 0,001 g dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas labu ukur 10 ml. Larutan sampel disaring dan diambil 0,1 ml untuk direaksikan dengan 0,8 ml reagen folin 50% dan Na_2CO_3 5% sampai tanda batas labu ukur 10 ml. Larutan didiamkan 60 menit dan setelah itu serapannya diukur pada panjang gelombang 760 menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi senyawa fenolat dalam sampel dapat ditentukan dengan mengalurkan absorbansi sampel pada kurva standar asam galat yang telah dibuat dan total senyawa fenol dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Total fenol} = \frac{C \times V \times FP}{W}$$

Keterangan:

- C = konsentrasi (mgGAE/L)
- V = volume (ml)
- FP = faktor pengencer
- W = bobot sampel (g)

Uji Toksisitas (Muaja *et al.*, 2013)

Penyiapan Larva *Artemia salina* Lench.

Telur *Artemia salina* Leach. 1 g direndam dalam 2 L air laut dan diaerasi selama 48 jam. Telur *Artemia salina* Leach. tersebut akan menetas menjadi *nauplii* yang siap digunakan sebagai hewan uji.

Penentuan Konsentrasi Larutan dan Uji Toksisitas Ekstrak

Ekstrak kulit batang mangrove *Xylocarpus granatum* 40 mg dilarutkan dalam 20 ml air laut dan di encerkan kembali hingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 1000, 500, 100, 50, 25, 12,5 serta 0 ppm. Uji toksisitas dilakukan dengan mengisikan 5 ml larutan ekstrak kulit batang mangrove *Xylocarpus granatum* (ekstrak + air laut) untuk tiap konsentrasinya ke dalam botol vial dan di isi 10 ekor larva *Artemia salina* Leach. Setelah 24 jam, pengamatan jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati dapat dilakukan.

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Patra *et al.*, 2009)

Sampel ekstrak kulit batang mangrove *Xylocarpus granatum* 5 mg dilarutkan dalam metanol sampai tanda batas labu ukur 5 ml dan kemudian diencerkan menjadi beberapa konsentrasi sampel antara lain 200, 100, 50, 25, 12,5 dan 0 ppm. Masing-masing konsentrasi ekstrak diambil 0,1 ml dan ditambahkan 2 ml DPPH 0,1 mM. Sampel dihomogenkan dengan cara sedikit digoyang, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi sampel dapat dibaca dengan panjang gelombang 517 nm dan dihitung presentase peredamannya menggunakan persamaan berikut:

$$(\%) \text{ Peredaman} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

A_0 adalah absorbansi blanko (metanol + DPPH) dan A_1 adalah absorbansi sampel uji (ekstrak + DPPH). Kontrol untuk uji aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C dengan

konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm dan 32 ppm.

Variabel Penelitian

Variabel bebas dari penelitian ini adalah pelarut ekstraksi yang berbeda dengan pola ekstraksi bertingkat yaitu dari pelarut non polar (n-heksan), pelarut semi polar (etil asetat), dan pelarut polar (metanol). Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai LC_{50} dengan menggunakan analisa probit yang diperoleh dari pengujian toksisitas dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Lench dengan metode BSLT dan nilai IC_{50} yang diperoleh dari pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Parameter Uji

Parameter uji pada penelitian ini didasarkan pada data yang diperoleh dari hasil perhitungan probit nilai LC_{50} dan perhitungan nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak. Penelitian ini juga terdiri atas parameter uji berupa nilai rendemen, kadar air, fitokimia ekstrak, total fenol serta pendugaan senyawa bioaktif pada ekstrak dengan uji LC-MS.

Analisis Data

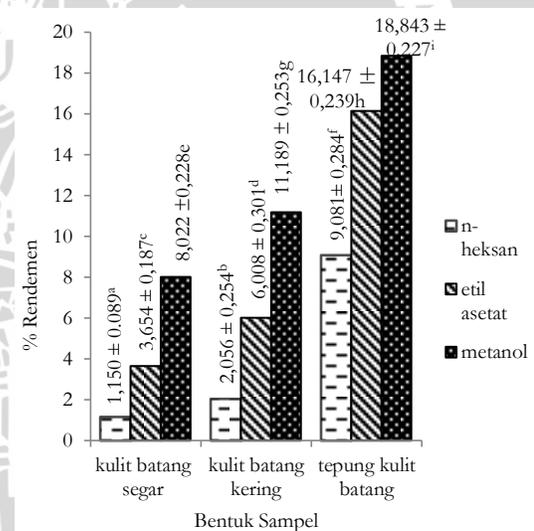
Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian utama adalah Rancangan Acak Lengkap dengan analisis ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang dilakukan dengan uji F pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=5\%$). Apabila nilai $F_{hitung} >$ dari F_{tabel} maka

dapat dilakukan uji lanjut dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Sedangkan untuk penelitian pendahuluan yang menghasilkan nilai rendemen menggunakan rancangan percobaan acak lengkap faktorial dengan uji lanjutnya berupa uji Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Kulit Batang Mangrove *Xylocarpus granatum*

Nilai rendemen ekstrak kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Nilai Rendemen Ekstrak Kulit Batang *Xylocarpus granatum*

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa sampel tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* yang diekstraksi secara maserasi bertingkat yang paling tinggi nilai rata-rata rendemennya. Oleh karena itu pada penelitian ini ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* di uji lanjut untuk

mengetahui lebih spesifik pengaruh perbedaan pelarut ekstraksinya terhadap nilai LC₅₀ dan IC₅₀. Menurut Maulida dan Guntarti (2015) bahwa ukuran partikel sampel uji yang berbeda-beda memiliki luas permukaan kontak yang berbeda-beda pula. Kontak yang luas antara sampel uji dan pelarut akan memberikan kesempatan yang lebih besar dalam mengekstraksi senyawa aktif yang terkandung didalam sampel sehingga rendemen ekstrak yang dihasilkan lebih tinggi daripada sampel dengan ukuran yang lebih besar.

Kadar Air Ekstrak Tepung Kulit Batang Mangrove *Xylocarpus granatum*

Nilai kadar air ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Kadar Air Ekstrak Tepung Kulit

Batang <i>Xylocarpus granatum</i>	
Perlakuan	Kadar Air (%)
N-heksan	12,667
Etil asetat	12,667
Metanol	13,333

Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa rata-rata dalam 1 gram ekstrak baik ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* setelah proses pengeringan dengan oven mengalami penurunan berat ekstrak yaitu kisaran 12 sampai 14% sehingga didapatkan perhitungan nilai rata-rata persen kadar air yang cenderung sama.

Ketiga kadar air ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar air bahan tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* yang diperoleh dari data hasil penelitian yaitu sebesar 9%. Kenaikan kadar air ekstrak tersebut diduga karena konsentrasi pelarut yang digunakan tidak 100% murni pelarut. Ketika pelarut yang digunakan untuk ekstraksi seperti n-heksan teknis, metanol dan etil asetat yang memiliki konsentrasi kurang lebih 96% digunakan untuk mengekstrak sampel akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan kadar air yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar air bahan karena mendapat sumbangan kadar air kurang lebih 4% dari pelarut yang digunakan dan tidak cukup dapat teruapkan ketika proses penguapan dengan *rotary vacuum evaporator*.

Ketiga ekstrak (ekstrak n-heksan, etil asetat maupun metanol tepung kulit batang *Xylocarpus granatum*) masuk dalam kategori ekstrak kental. Menurut Khoirani (2013), suatu ekstrak tumbuhan dapat digolongkan kedalam ekstrak kental jika kandungan air nya berkisar antara 5-30%.

Uji Fitokimia Ekstrak Tepung Kulit Batang Mangrove *Xylocarpus granatum*

Hasil uji fitokimia ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Fitokimia Ekstrak Tepung Kulit Batang *Xylocarpus granatum*

Jenis Uji	Perlakuan		
	n-heksan	etil asetat	metanol
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+
Tanin	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+
Saponin	-	-	-

Keterangan: (+) Terdeteksi, (-) Tidak terdeteksi

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 2. dapat diketahui bahwa pada perlakuan ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* tidak terdeteksi mengandung senyawa alkaloid dan saponin, namun menunjukkan hasil positif terhadap senyawa bioaktif yang sama yaitu senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid.

Uji senyawa alkaloid pada uji fitokimia dengan reagen Meyer menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan berwarna putih pada ketiga ekstrak. Menurut Lenny (2006), alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan termasuk pada bagian kulit batang. Namun alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan perlu adanya kegiatan pemisahan senyawa alkaloid dari campuran senyawa kompleks yang berasal dari jaringan tumbuhan tersebut.

Hasil uji fitokimia menunjukkan positif adanya senyawa flavonoid pada ketiga ekstrak yang ditandai adanya perubahan warna ekstrak menjadi merah-jingga. Flavonoid menurut

Markham (1988) merupakan senyawa polar karena flavonoid memiliki ikatan dengan gugus gula sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, dan lain sebagainya. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon serta flavonoid yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut organik yang kurang polar seperti n-heksan dan etil asetat.

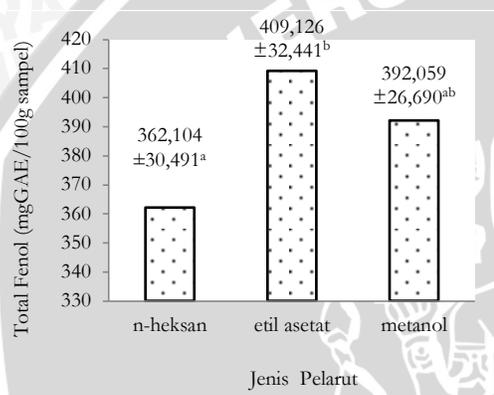
Hasil uji fitokimia menunjukkan positif adanya senyawa tanin pada ketiga ekstrak yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat. Menurut Tri dan Ari (2012), tanin cenderung bersifat polar sehingga dapat diekstraksi dengan pelarut polar, namun tanin juga dapat diekstrak dengan pelarut heksan walaupun dengan jumlah yang rendah.

Hasil uji fitokimia menunjukkan positif adanya senyawa triterpenoid pada ketiga ekstrak yang ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga pada sampel uji. Senyawa triterpenoid menurut Firdiyani *et al* (2015) bersifat non polar dan dapat terekstrak oleh pelarut non polar. Namun menurut Astarina *et al.*, (2013), beberapa senyawa triterpenoid memiliki struktur siklik yang berupa alkohol yang memiliki gugus OH dan dapat terikat dengan gugus gula sehingga akan dapat tertarik oleh pelarut yang bersifat semi polar ataupun pelarut polar.

Hasil uji fitokimia menunjukkan negatif mengandung senyawa saponin pada ketiga ekstrak yang ditandai dengan tidak terbentuknya busa yang konstan setelah ditetesi HCl.

Uji Total Fenol Ekstrak Tepung Kulit Batang Mangrove *Xylocarpus granatum*

Berdasarkan hasil uji larutan standar asam galat diperoleh kurva standar dengan persamaan regresi $y = 0,0957x + 0,1808$ serta nilai koefisien korelasi (R^2) = 0,9817. Nilai total fenol ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Gambar 2.



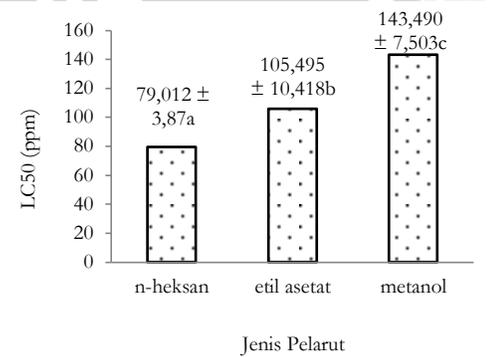
Gambar 2. Nilai Total Fenol Ekstrak Tepung Kulit Batang *Xylocarpus granatum*

Berdasarkan Gambar 2. dapat diketahui bahwa ekstrak etil asetat tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki nilai total fenol tertinggi yaitu 409,13 mgGAE/100g. Tingginya kandungan fenolik dalam ekstrak etil asetat tepung kulit batang diduga karena sifat pelarut etil asetat yang semi polar, sehingga hasil ekstraksi mengandung lebih banyak komponen fenolik baik yang bersifat nonpolar (aglikon) maupun polar (glikon). Menurut Sri (2016), fenol merupakan senyawa yang dapat larut dalam senyawa polar dan sedikit polar. Fenol bersifat larut air selama komponen dari fenol berikatan dengan gula membentuk glikosida. Senyawa fenol bebas biasanya terdapat dalam jaringan kayu,

sementara senyawa fenol yang berada di tempat lain biasanya dalam bentuk glikosida.

Uji Toksisitas Ekstrak Tepung Kulit Batang Mangrove *Xylocarpus granatum*

Nilai LC_{50} ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Nilai LC_{50} Ekstrak Tepung Kulit Batang *Xylocarpus granatum*

Berdasarkan Gambar 3. dapat diketahui bahwa ekstrak n-heksan tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki nilai LC_{50} yang paling rendah yaitu 79,012 ppm. Menurut Nisfi (2010), nilai LC_{50} menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam. Sehingga dapat dikatakan semakin rendah nilai LC_{50} suatu sampel maka toksisitas sampel tersebut semakin kuat.

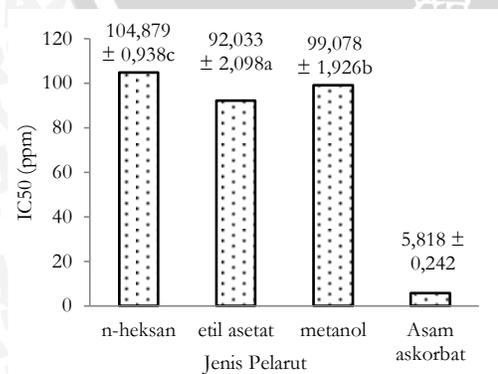
Pada penelitian ini ekstrak n-heksan tepung kulit batang memiliki potensi toksisitas akut lebih kuat dari ekstrak etil asetat dan methanol. Dimana dugaan sementara senyawa bioaktif yang berpotensi toksik adalah senyawa fenolik seperti flavonoid, tanin dan juga senyawa triterpenoid. Senyawa flavonoid memiliki gugus

hidroksil yang dapat menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi. Gugus hidroksil berikatan dengan protein integral membran sel sehingga transport aktif Na^+ dan K^+ terganggu. Transpor aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na^+ yang tidak terkendali ke dalam sel. Membran sel pecah dan menyebabkan kematian sel (Sumihe *et al.*, 2014).

Berdasarkan klasifikasi tingkat toksisitas suatu ekstrak, ketiga ekstrak tersebut masuk dalam kategori bersifat toksik. Menurut Salimi dan Bialangi (2014) ketika nilai LC_{50} ekstrak ≤ 30 ppm maka dapat dikatakan kalau ekstrak tersebut sangat toksik, jika nilai LC_{50} ekstrak > 31 ppm dan ≤ 1000 ppm maka dapat dikatakan kalau ekstrak tersebut toksik, dan jika nilai LC_{50} suatu ekstrak > 1000 ppm maka dapat dikatakan kalau ekstrak tersebut tidak toksik.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Kulit Batang Mangrove *Xylocarpus granatum*

Nilai IC_{50} ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4. Nilai IC_{50} Ekstrak Tepung Kulit Batang *Xylocarpus granatum*

Berdasarkan Gambar 4. dapat diketahui bahwa nilai IC_{50} terendah dihasilkan oleh ekstrak etil asetat tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* sebesar 92,033 ppm. Semakin rendah nilai IC_{50} maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya, sehingga ekstrak etil asetat tepung kulit batang yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

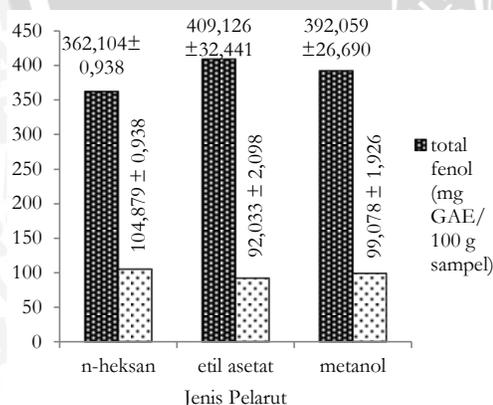
Keefektifan antioksidan pada ekstrak etil asetat tepung kulit batang dalam menetralkan radikal bebas diduga berkaitan dengan sifat etil asetat yang semi polar sehingga banyak komponen bioaktif yang larut di dalamnya, salah satunya yaitu senyawa fenol dan flavonoid. Hal ini juga diperkuat oleh pendapat Sri *et al.*, (2015) yang menjelaskan bahwa tingginya aktivitas penghambatan radikal bebas ekstrak kulit batang mangrove lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*) dengan pelarut ekstraksi etil asetat disebabkan oleh sifat etil asetat yang semi polar sehingga menyebabkan etil asetat dapat mengekstrak senyawa antioksidan yang bersifat polar maupun senyawa antioksidan yang bersifat nonpolar, sehingga terdapat beragam jenis senyawa antioksidan yang terekstrak. Aktivitas antioksidan senyawa fenol dan flavonoid menurut Yuhernita dan Juniarti (2011) berhubungan dengan struktur rantai samping dan juga substitusi pada cincin aromatiknya. Senyawa tersebut mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogennya pada radikal bebas sehingga menjadi stabil.

Ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol tepung kulit batang masuk dalam kategori

memiliki aktivitas antioksidan kuat, dan untuk ekstrak n-heksan tepung kulit batang masuk dalam kategori memiliki aktivitas antioksidan sedang. Menurut Zuhra *et al.*, (2008) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC_{50} bernilai 151-200 ppm.

Hubungan Total Fenol dengan Aktivitas Antioksidan (IC_{50})

Analisis data mengenai hubungan antara nilai total fenol yang dinyatakan dalam mgGAE/100 g sampel dengan aktivitas antioksidan sampel yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tepung Kulit Batang *Xylocarpus granatum*

Berdasarkan Gambar 5. dapat diketahui bahwa hubungan kandungan total fenol (mgGAE/ 100

g sampel) dengan aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* berbanding lurus, yaitu semakin tinggi nilai total fenol ekstrak maka semakin kuat aktivitas antioksidannya yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai IC_{50} ekstrak. Dalam hal ini, ekstrak etil asetat tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* yang memiliki nilai total fenol tertinggi dan memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat (nilai IC_{50} terendah). Senyawa fenolik menurut Yogia (2016) merupakan inhibitor radikal yang baik karena mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas melalui proses transfer elektron sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil yang kemudian dapat menstabilkan diri melalui efek resonansi.

Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan Uji Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LC-MS)

Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan dengan menggunakan metode LC-MS dengan ionisasi *electrospray ionization* (ESI) modus positif dengan pelarut metanol. Ionisasi metode ESI positif akan menghasilkan ion molekul dengan penambahan kation, misalnya $[M+H]^+$ atau $[M+Na]^+$. Berikut adalah dugaan senyawa yang bersifat toksik dan senyawa yang bersifat antioksidan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Dugaan Senyawa yang Bersifat Toksik dan Senyawa yang Bersifat Antioksidan

Sampel	Rt	Massa Senyawa	Senyawa
Ekstrak n-heksan tepung kulit batang	3,57	180,36	<i>Theophylline</i> (C ₇ H ₈ N ₄ O ₂)
	4,43	336,63	<i>Berberin</i> (C ₂₀ H ₁₈ NO ₄)
	15,13	146,19	<i>Coumarin</i> (C ₉ H ₆ O ₂)
Ekstrak etil asetat tepung kulit batang	2,84	180,36	<i>Caffeic Acid</i> (C ₉ H ₈ O ₄)
	3,23	138,38	<i>3,4-dihydroxybenzaldehyde</i> (C ₇ H ₆ O ₃)
	14,13	146,19	<i>Coumarin</i> (C ₉ H ₆ O ₂)

Senyawa bioaktif yang teridentifikasi pada ekstrak n-heksan tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* yaitu *theophylline*, *berberin* dan *coumarin*. Hal ini dapat menjelaskan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas toksik paling akut adalah dari senyawa non polar yang didominasi oleh senyawa alkaloid (*theophylline* dan *berberin*). Sedangkan bioaktif yang teridentifikasi pada ekstrak etil asetat tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* yaitu *caffeic acid*, *3,4-dihydroxybenzaldehyde* dan *coumarin*. Hal ini dapat menjelaskan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat adalah dari senyawa semi polar yang didominasi oleh golongan senyawa fenolik.

Theophylline bersifat toxidrome (Mohamad *et al.*, 2009). *Berberin* adalah alkaloid isoquinoline yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antihipertensi, antiinflamasi, antioksidan, antidepresan, antikanker, antidiare dan

antimikroba (Singh *et al.*, 2010). *Coumarin* merupakan senyawa alami yang berasal dari tumbuhan yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antikoagulan, antibakteri, antijamur, antivirus, antikanker, antihipertensi, dan antioksidan (Venugopala *et al.*, 2013). Asam caffeic memiliki potensi sebagai antioksidan untuk menghambat oksidasi LDL maupun pada singlet oksigen (Gulcin, 2005). *3,4-dihydroxybenzaldehyde* menurut Syafni *et al.*, (2012) termasuk dalam golongan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan kuat dan memiliki aktivitas penghambatan pada golongan jamur.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

- Perbedaan pelarut ekstraksi memberikan pengaruh terhadap toksisitas ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum*. Ekstrak n-heksan tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki potensi toksisitas akut yang lebih kuat dari ekstrak lainnya yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ terendah yaitu sebesar 79,012 ppm.
- Perbedaan pelarut ekstraksi memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak tepung kulit batang *Xylocarpus granatum*. Ekstrak etil asetat tepung kulit batang *Xylocarpus granatum* memiliki potensi aktivitas antioksidan paling kuat yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ terendah yaitu sebesar 92,033 ppm.

Saran

Saran dari penelitian ini yaitu perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai pemurnian ekstrak kulit batang *Xylocarpus granatum* sehingga senyawa murni yang memiliki potensi toksisitas akut dan antioksidan dapat teridentifikasi secara tepat dan dapat diaplikasikan sebagai produk suplemen ataupun obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agati, G., P Mattei., A Goti dan M Tattini. 2007. Chloroplast-Located Flavonoids Can Scavenge Singlet Oxygen. *Journal Compilation New Phytologist Research*. Halaman 77–89.
- Akter, M., S Afrin., Sk N Sakib., R Biswas., Md M Billah., M S Rahman dan U S Zohora. 2016. Investigation of Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Properties of The Mangrove Plant *Xylocarpus mekongensis*. *Journal Advances in Bioscience and Biotechnology*. (7) : 205-207.
- Artini, P E U D., Astuti K W dan Warditiani N K. 2013. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal*. Halaman 1-7.
- Astarina, N W G., Astuti K W dan Warditiani N K. 2013. Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal*. Halaman 1-7.
- Cahyadi, R. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L) Terhadap Larva *Artemia salina* Lench. dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro. Semarang. 44 halaman.
- Firdiyani, F., T W Agustini dan W F Ma'ruf. 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami *Spirulina platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *JPHPI*. **18** (1) : 28-37.
- Gazali, M. 2014. *Potensi Limbah Kulit Buah Xylocarpus granatum Koenig, Sebagai Inhibitor Tirosine*. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 1-28.
- Gulcin, I. 2005. Antioxidant Activity of Caffeic Acid (3,4-Dihydroxycinnamic Acid). *Elsevier Toxicology Journal*. **217**: 213-220.
- Haque, Md E., Md Nahidul I., Md Hafizur R dan A Uddin M. 2007. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of the Crude Extracts and Isolated Compounds of *Xylocarpus mollucensis*. *Journal Pharmacy Science*. **6** (2): 109-112.
- Ika, R P. 2013. *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata Dari Jepara*. Tesis. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. 104 halaman.
- Khoirani, N. 2013. Karakterisasi Simplisia dan Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. 98 halaman.
- Kumar, S D., D Samantaray dan H Thatoi. 2014. *Ethnomedicinal, Antimicrobial and Antidiarrhoeal Studies on the Mangrove Plants of the Genus Xylocarpus: A Mini Review*. *Journal Bioanalysis and Biomedicine*. Halaman 1-7.

- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloid. Karya Ilmiah. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan. 25 halaman.
- Markham. 1988. Cara Identifikasi Flavonoid. ITB. Bandung. 449 halaman.
- Maulida, R dan A Guntarti. 2015. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Kandungan Total Antosianin. *Pharmajiana*. **5** (1) : 9-16.
- Mohamad, N., N N A Halim., R Ahmad dan K A Baharuddin. 2009. Theophylline Toxicity: A Case Report of The Survival of An Undiagnosed Patient Who Presented to The Emergency Department. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. **16** (2) : 34-38.
- Muaja, A., Harry, S., dan Mas, R. J. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *J. MIPA* **2** (2) : 115-118.
- Mulyati, E S. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremai (*Phyllanthus deidus* (L.) Skeels) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan Bioautografinya. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Halaman 1- 22.
- Munawaroh, S dan P A Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*. **2** (1) : 73-78.
- Nisfi, R R. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia salina* Leach. dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoides* Var. *Conoides* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 86 halaman.
- Notohadiprawiro, T. 2006. Metode penelitian dan Penulisan Ilmiah. Ilmu Tanah. Universitas Gajah Mada. 18 halaman.
- Patra, K P., A D Mohapatra., S K Rath., N K Dhal dan H Thatoi. 2009. Screening of Antioxidant and Antifiral Activity of Leaf Extracts of *Excoecaria agallocha* L. *International Journal of Integrative Biology*. **7** (1) : 9-15.
- Purnamasari, N., M A M Andriani dan Kawiji. 2013. Pengaruh Jenis Pelarut dan Variasi Suhu Pengering *Spray Dryer* Terhadap Kadar Karotenoid Kapang *Oncom Merah* (*Neurospora* sp.). *Jurnal Teknosains Pangan*. **2** (1) : 107-114.
- Purnobasuki, H. 2004. Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat. *Jurnal Biota*. **9** (2) : 125-126.
- Ratnayani K., A A I A Mayun L., Ni P Indah S P. 2012. Kadar Total Senyawa Fenolat Pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Dengan Metode DPPH (*Difenilpikril Hidrazil*). *Jurnal Kimia*. **6** (2): 163-168.
- Salimin, Y K dan Bialangi N. 2014. Kajian Senyawa Antioksidan dan Antiinflamasi Tumbuhan Obat Binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Steenis) Asal Gorontalo. Laporan Tahunan Penelitian Hibah Fundamental. Universitas Negeri Gorontalo. 78 halaman.
- Septiana, A dan A Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumpun Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrotek*. **6** (1): 22-28.
- Singh, A., S Duggal., N Kaur dan J Singh. 2010. Berberine: Alkaloid with Wide

- Spectrum of Pharmacological Activities. *Journal of Natural Products Vol. 3* : 64-75.
- Sri, S P D U. 2016. *Potensi Lindur (Bruguiera gymnorrhiza) dari Mangrove Sebagai Antioksidan dan Inhibitor α -Glukosidase*. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 84 halaman.
- Sri, S P D., Nurjanah., A M Jacoeb. 2015. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. *JPHPI. 18* (2) : 205-219.
- Sumihe, J., R M J Runtuwene., J A Rorong. 2014. Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai LC₅₀ Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains. 14* (2) : 125-128.
- Syafni, N., D P Putra., D Arbain. 2012. 3,4-Dihydroxybenzoic Acid and 3,4-Dihydroxybenzaldehyde from The Fern *Trichomanes chinense* L.; Isolation, Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Indo Journal Chemical. 12* (3) : 273-278.
- Tri, A S dan A Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *AGRITECH. 35* (3) : 22-28.
- Trilochana, Y., P Sowjanya., G P V Sangeetha., P Rajeswara R dan Prof P Rajeswara R. 2013. Cardiotonic Activity of alcoholic Bark Extract of *Xylocarpus granatum* with Emphasis on Its Mechanism of Action. *Iosr Journal of Pharmacy 3* (1): 4-9.
- Utami, D. 2007. Sitotoksisitas dan genotoksisitas Antibakteri dari Ekstrak Metanol *Xylocarpus granatum*. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 60 halaman.
- Venugopala, K N., V Rashmi dan B Odhav. 2013. Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *Hindavi Publishing Corporation BioMed Research International*. Halaman 1-15.
- Wangensteen H., L Klarpas., M Alamgir., Anne B C S., K E Malterud. 2013. Can Scientific Evidence Support Using Bangladeshi Traditional Medicinal Plants in the Treatment of Diarrhoea? A Review on Seven Plants. *Journal Nutrients 5* : 1757-1800.
- Yanti, H., W Syafii dan I G K Tapa D. 2008. Bioaktivitas Ekstraktif Kulit Akasia *Acacia auriculiformis* A. Cunn. Ex. Benth Terhadap Rayap Tanah *Coptotermes curvignathus* Holmgren. *Jurnal. 82*-93.
- Yogya, E W. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tumbuhan Sisik Naga (*Pyrrhosia piloselloides* (L) M.G Price) Pada Pohon Inang Jmbu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan Penetapan Karakteristik Ekstrak. Skripsi. 111 halaman.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *MAKARA Sains. 15* (1) : 48-52.
- Zuhra, C F., J B Tarigan dan H Sitohang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera. 3* (1) : 7-10.