

**PENGARUH LAMA WAKTU EVAPORASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN DAN KULIT BATANG MANGROVE *Sonneratia caseolaris* DARI
PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN BLITAR, JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:
PERES SAR ARIN
NIM. 145080607111018



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH LAMA WAKTU EVAPORASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN DAN KULIT BATANG MANGROVE *Sonneratia caseolaris* DARI
PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN BLITAR, JAWA TIMUR**

SKRIPSI

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

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

Oleh:
PERES SAR ARIN
NIM. 145080607111018



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

SKRIPSI

PENGARUH LAMA WAKTU EVAPORASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DAN KULIT BATANG MANGROVE *Sonneratia caseolaris* DARI PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN BLITAR, JAWA TIMUR

Oleh :

PERES SAR ARIN
NIM. 145080607111018

telah dipertahankan di depan penguji pada tanggal 27 November 2018 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing 1

Dosen Pembimbing 2

Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph. D.
NIP. 19740812 200312 2 001
Tanggal: 14 DEC 2018

Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel, M.Sc., M.Si.
NIP. 2013048609152001
Tanggal: 14 DEC 2018

Mengetahui,
Ketua Jurusan Pemanfaatan Sumberdaya
Perikanan dan Kelautan



Dr. Eng. Abu Bakar Sambah, S.Pi., MT
NIP. 19780717200 502 1 004
Tanggal: 14 DEC 2018



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Pengaruh Lama Waktu Evaporasi Terhadap Aktivitas
Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Batang Mangrove
Sonneratia caseolaris Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten
Blitar, Jawa Timur

Nama Mahasiswa : Peres Sar Arin

NIM : 145080607111018

Program Studi : Ilmu Kelautan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D

Pembimbing 2 : Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel, M.Sc, M.Si

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Penguji 1 : Ir. Aida Sartimbul, M.Sc., Ph.D.

Penguji 2 : Citra Satrya Utama Dewi, S.Pi., M.Si.

Tanggal Ujian : 27 November 2018



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi dengan judul “Pengaruh Lama Waktu Evaporasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Batang Mangrove *Sonneratia caseolaris* Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur” yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan tercantum di dalam daftar pustaka.

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

Malang, November 2018

Mahasiswa,

Peres Sar Arin
NIM. 145080607111018

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Peres Sar Arin

NIM : 145080607111018

Tempat/Tanggal Lahir: Malang, 08 Maret 1996

No. Tes Masuk P.T : 6141102635

Jurusan : Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan dan Kelautan

Program Studi : Ilmu Kelautan

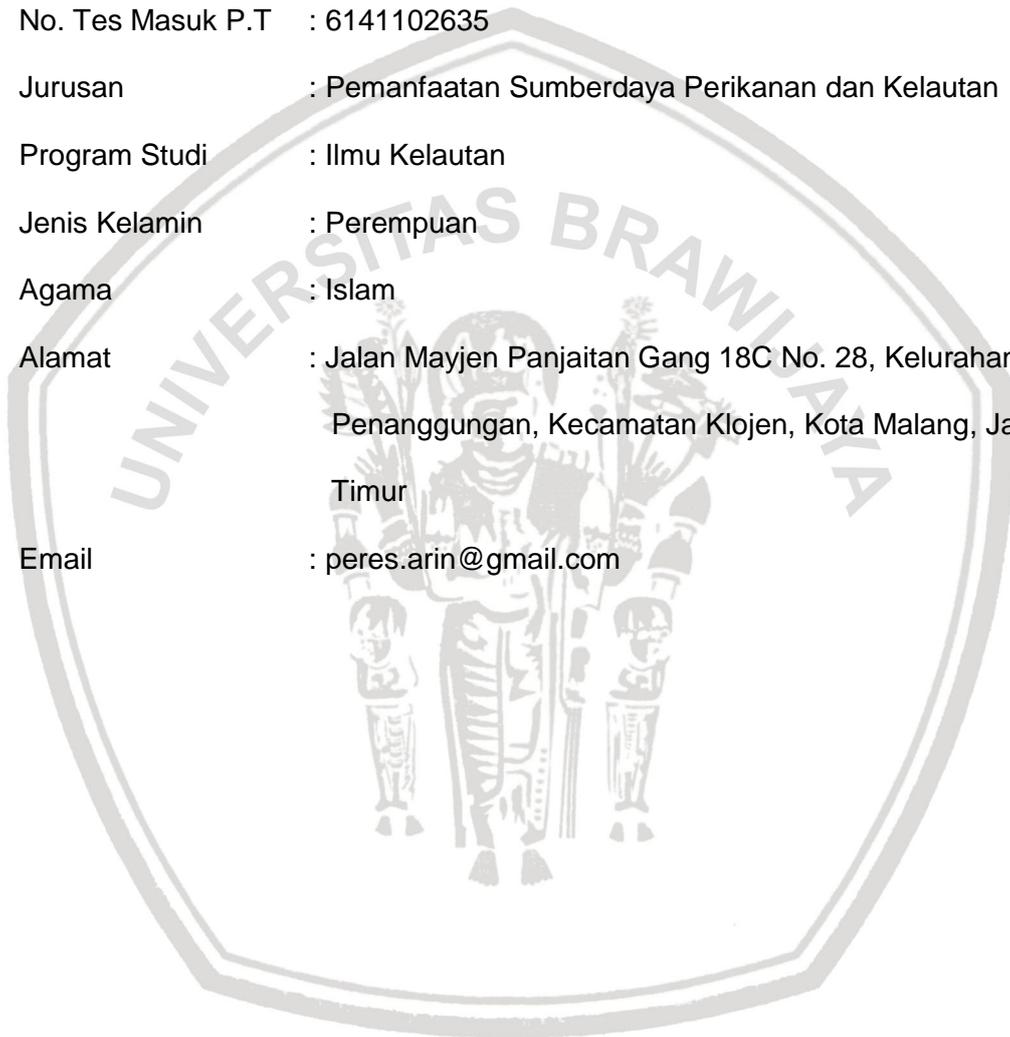
Jenis Kelamin : Perempuan

Agama : Islam

Alamat : Jalan Mayjen Panjaitan Gang 18C No. 28, Kelurahan
Penanggungan, Kecamatan Klojen, Kota Malang, Jawa

Timur

Email : peres.arin@gmail.com



UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada beberapa pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan skripsi ini, sehingga penulisan laporan ini diberi kelancaran dan kemudahan. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan kepada penulis selama ini sehingga dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan baik.
2. Orang tua dan keluarga yang telah memberikan do'a dan dukungan, serta motivasi kepada penulis selama proses penyusunan laporan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Eng. Abu Bakar Sambah, S.Pi, MT., selaku Ketua Jurusan Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
4. Ibu Defri Yona, S.Pi., M.Sc.Stud., D.Sc selaku Ketua Prodi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
5. Ibu Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing pertama serta Ibu Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel, M.Sc, M.Si selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan, masukan, dan bimbingan dalam penyelesaian laporan skripsi ini, serta memberikan pelajaran berarti kepada penulis yaitu "Passion itu penting, tidak ada batasan umur bagi semua orang untuk belajar dan merealisasikan mimpinya."
6. Tim Antioksidan (Rizqy N., A. Zaki Nugroho, Laura D.P dan Noor Aisyiyah F.) selaku *partner* selama pelaksanaan skripsi dengan kerja keras serta keuletan mereka, "Selama ada keinginan untuk belajar segala halnya akan selalu dimudahkan."

7. Mutia Lilla P., Melisa Nur F., Aisyah Y., Nindi Mega R., Irfan Thofiq, Wahyu Ramadhan serta Tim Sudal selaku sahabat yang memberikan dukungan, kritik, saran dan bersedia membantu selama penyusunan laporan ini.
8. Tim Akreditasi Prodi (Cempaka P., Nena Y., Teguh Dwi K., Luthfi R., Faturrahman, Rachmita N. Laily, Armyn A. dan Supriyadi) yang sudah menemani pahit manisnya skripsi sejak awal dan menjadi tim terbaik selama berada di Ilmu Kelautan, "Tentang kontribusi, di tempat dimana kita terbentur lalu terbentuk, dalam perjalanan 4 tahun tanpa diminta kita sudah mendapatkan banyak hal. Lalu apa yang sudah diberikan, sebagai simbol bahwa kita pernah saling meninggalkan jejak dan menjadi berarti."
9. M. Rahman, Fitriyani R., Komang A. yang selalu mendorong dan tetap setia mensupport penulis, mampu menularkan semangat untuk selalu yakin menggapai setiap harapan serta tidak pernah lelah menginspirasi dengan jalannya masing-masing, "Bicara soal mimpi, suara mereka memang terdengar lirih. Selama kita mau mendengar dan membuka mata, mereka perlahan akan mendekat karena mimpi tidak memiliki ambang batas kadaluwarsa."
10. Teman-teman Ilmu Kelautan 2014 yang sudah memberikan semangat kepada penulis hingga dapat menyelesaikan laporan ini dengan baik.

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Semoga semua pihak yang membantu diberikan balasan oleh Allah SWT dan semoga laporan ini dapat bermanfaat.

PENGARUH LAMA WAKTU EVAPORASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EKSTRAK DAUN DAN KULIT BATANG MANGROVE *Sonneratia caseolaris* DARI
PESISIR PANTAI SERANG, KABUPATEN BLITAR, JAWA TIMUR

The Effect of Evaporation Time to Antioxidant Activity of Mangrove Leaf and Bark
Sonneratia caseolaris from Serang Coastal Area, Blitar, East Java

Peres Sar Arin¹, Feni Iranawati², dan Rarasrum Dyah Kasitowati²
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Radikal bebas menjadi salah satu penyebab penyakit degeneratif seperti kanker, rusaknya pembuluh darah otak dan penyakit kronik. Aktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh kerja antioksidan, salah satunya adalah dengan memanfaatkan potensi antioksidan alami dari jenis mangrove yaitu *Sonneratia caseolaris*. Daun dan kulit batang *Sonneratia caseolaris* dimanfaatkan sebagai obat batuk tradisional serta mampu menghambat luka dan inflamasi. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antioksidan adalah lama waktu evaporasi melalui hasil filtrat yang terbentuk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama waktu evaporasi (40 menit, 50 menit dan 60 menit) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *Sonneratia caseolaris*. Sampel diambil dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan pelarut metanol pada empat konsentrasi yang berbeda (5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm). Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu evaporasi 60 menit memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik (daun 5,766 ppm dan kulit batang 4,894 ppm) dibandingkan pada waktu evaporasi 40 menit (daun -6,480 ppm dan kulit batang -5,251 ppm) dan 50 menit (daun -1,945 ppm dan kulit batang -2,968 ppm). Ekstrak daun dan kulit batang *Sonneratia caseolaris* memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 40 ppm. Senyawa bioaktif yang diidentifikasi pada daun dan kulit batang *Sonneratia caseolaris* dengan semua perlakuan adalah fenol dan terpenoid.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Evaporasi, IC₅₀, *Sonneratia caseolaris*

ABSTRACT

Free radicals are one of many cause of degenerative diseases such as cancer, blood vessel damage in brain and chronic diseases. The effects of free radicals can be inhibited by antioxidant substances, such as natural antioxidant from mangrove *Sonneratia caseolaris*. The leaf and bark of *Sonneratia caseolaris* are used as traditional medicine for cough, bleeding and inflammation. One of the factors that may affect the results of antioxidant activity is the evaporation time through the filtrate formed by evaporation. This research aimed to evaluate the effect of evaporation time (40 minutes, 50 minutes and 60 minutes) related with the antioxidant activity of leaf and bark of *Sonneratia caseolaris*. Samples were obtained from Serang Coastal Area, Blitar, East Java. Determination of antioxidant activity applying DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method by using methanol as a solvent at four different concentrations (5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm). The results showed that evaporation time of 60 minutes on leaf and bark of *Sonneratia caseolaris* (leaf with IC₅₀ value of 5,766 ppm and bark with IC₅₀ value of 4,894 ppm) showed better antioxidant activity than evaporation time of 40 minutes (leaf with IC₅₀ value of -6,480 ppm and bark with IC₅₀ value of -5,251 ppm) and 50 minutes (leaf with IC₅₀ value of -1,945 ppm and bark with IC₅₀ value of -2,968 ppm). Extract of *Sonneratia caseolaris* leaf and bark had the highest antioxidant activity at 40 ppm. For all treatment, bioactive compounds identified on leaf and bark of *Sonneratia caseolaris* were phenol and terpenoid.

Keywords: Antioxidant, DPPH, Evaporation, IC₅₀, *Sonneratia caseolaris*

¹Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

²Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat dan rahmatnya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan Judul **“Pengaruh Lama Waktu Evaporasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Batang Mangrove *Sonneratia caseolaris* Dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur.”**

Laporan skripsi ini disusun sebagai persyaratan untuk meraih gelar Sarjana Kelautan, yang terdiri dari 4 konten yaitu bab satu berisi pendahuluan mengenai latar belakang, rumusan masalah, tujuan, hipotesis dan manfaat, pada bab dua berisi tinjauan pustaka dan pada bab tiga berisi metode penelitian mengenai waktu dan tempat, alat dan bahan, alur penelitian, prosedur kerja dan analisa data, serta bab terakhir adalah daftar pustaka.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan pengetahuan sekalipun sudah berusaha semaksimal dan sebaik-baiknya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan laporan skripsi ini dan melaksanakan perbaikan di masa yang akan datang.

Malang, November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

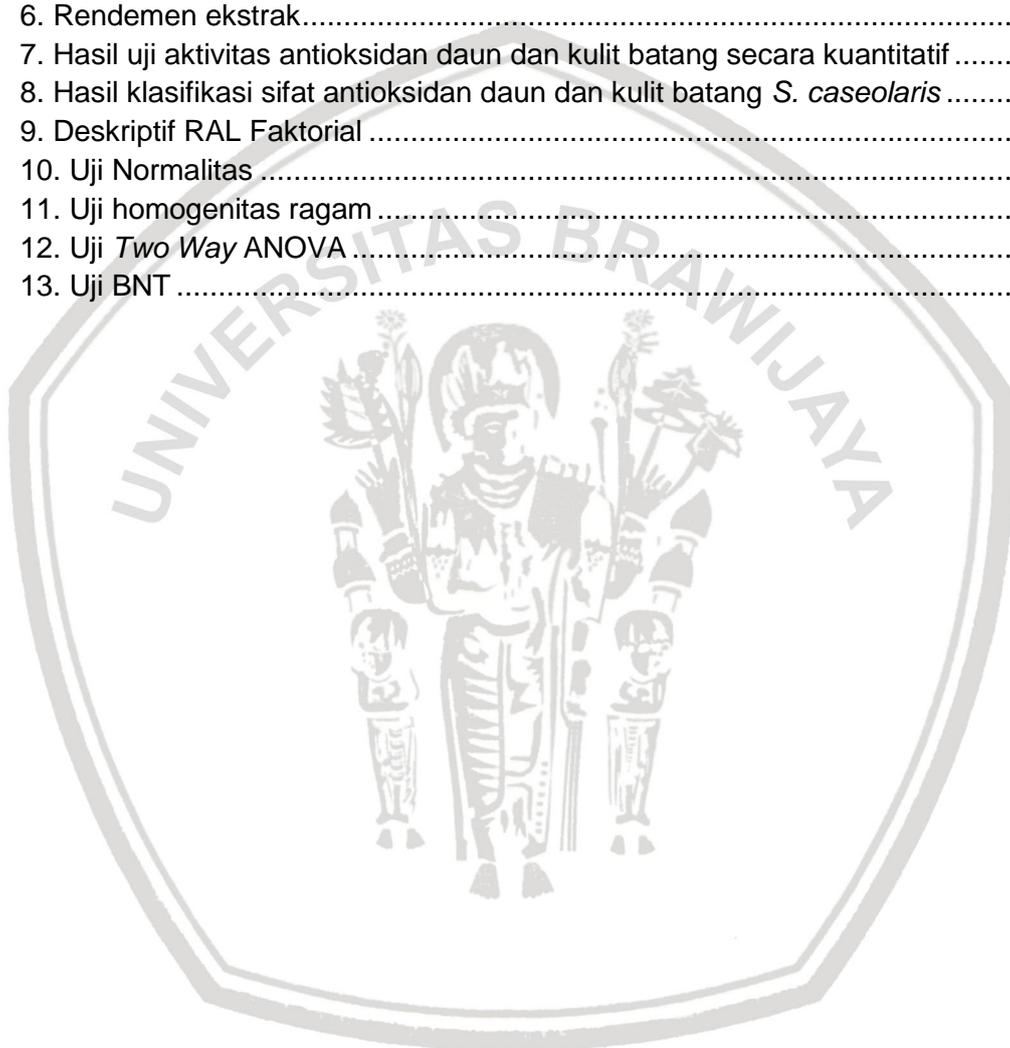
ABSTRAK.....	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Sonneratia caseolaris</i>	5
2.2 Ekstraksi.....	6
2.3 Evaporasi.....	7
2.4 Senyawa Bioaktif.....	9
2.5 Uji Fitokimia.....	9
2.5.1 Fenol.....	10
2.5.2 Steroid/Terpenoid.....	11
2.6 Antioksidan.....	12
2.6.1 Antioksidan Sintetik.....	13
2.6.2 Antioksidan Alami.....	13
2.7 Fungsi Antioksidan.....	14
2.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	15
3. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Waktu dan Tempat.....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.3 Alur Penelitian.....	19
3.4 Prosedur Kerja.....	20
3.4.1 Pengambilan Sampel di Lapang.....	20
3.4.2 Preparasi Sampel.....	20
3.4.3 Ekstraksi Sampel.....	21
3.4.4 Evaporasi Sampel.....	22
3.4.5 Uji Fitokimia.....	25
3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan.....	27
3.4.7 Perhitungan Nilai IC ₅₀	32
3.4.8 Analisis Data.....	33
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Hasil Ekstrak Daun dan Kulit Batang <i>S. caseolaris</i>	36
4.2 Hasil Uji Fitokimia.....	38
4.2.1 Hasil Uji Fenol.....	39

4.2.2 Hasil Uji Steroid/Terpenoid	43
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	47
4.3.1 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif	48
4.3.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif	51
4.4 Analisa Pengaruh Perbedaan Konsentrasi dan Jenis Sampel.....	58
5. PENUTUP	64
5.1 Kesimpulan.....	64
5.2 Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA.....	66
LAMPIRAN	73



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya	17
2. Bahan yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya	18
3. Serapan spektrum warna pada Spektrofotometri UV/Vis	29
4. Tingkat kekuatan antioksidan.....	31
5. Rancangan penelitian	34
6. Rendemen ekstrak.....	37
7. Hasil uji aktivitas antioksidan daun dan kulit batang secara kuantitatif	55
8. Hasil klasifikasi sifat antioksidan daun dan kulit batang <i>S. caseolaris</i>	56
9. Deskriptif RAL Faktorial	59
10. Uji Normalitas	59
11. Uji homogenitas ragam	60
12. Uji <i>Two Way</i> ANOVA	60
13. Uji BNT	62



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sonneratia caseolaris</i> (daun, batang, bunga dan buah)	5
2. Peta lokasi pengambilan sampel	16
3. Alur penelitian pengaruh lama waktu evaporasi	19
4. Bagan ekstraksi hingga pembuatan larutan stok	24
5. Tahapan uji fitokimia	26
6. Tahapan uji aktivitas antioksidan	28
7. Hasil ekstrak lama waktu evaporasi <i>S. caseolaris</i>	37
8. Hasil uji kualitatif senyawa fenol	40
9. Hasil uji kuantitatif senyawa fenol pada ekstrak daun	41
10. Hasil uji kuantitatif senyawa fenol pada ekstrak kulit batang	42
11. Hasil uji kualitatif senyawa terpenoid	44
12. Hasil uji kuantitatif senyawa terpenoid pada ekstrak daun	45
13. Hasil uji kuantitatif senyawa terpenoid pada ekstrak kulit batang	46
14. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif pada sampel daun	48
15. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif pada sampel kulit batang	49
16. Hasil uji kualitatif antioksidan asam askorbat	49
17. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi daun	52
18. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi kulit	53
19. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi vitamin C	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan DPPH dan pengenceran	73
2. Perhitungan rendemen	78
3. Nilai absorbansi pengujian senyawa fitokimia	80
4. Kurva standar fenol.....	81
5. Hasil persamaan regresi dan perhitungan uji kuantitatif senyawa fenol	82
6. Kurva standar terpenoid.....	84
7. Hasil persamaan regresi dan perhitungan uji kuantitatif senyawa terpenoid ..	85
8. Nilai absorbansi dan persen inhibisi pada daun dan kulit batang	87
9. Persamaan regresi dan perhitungan nilai IC ₅₀ pada sampel daun.....	88
10. Persamaan regresi dan perhitungan nilai IC ₅₀ pada sampel kulit batang.....	89
11. Uji BNT lama waktu evaporasi	91
12. Dokumentasi penelitian.....	92



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif, dapat mengganggu integritas sel serta dapat bereaksi dengan komponen struktur sel seperti enzim dan DNA. Radikal bebas dapat terus-menerus terbentuk dan menyebabkan kerusakan atau kematian sel yang semakin banyak (Latief *et al.*, 2015). Penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, stroke, rematik, jantung, gagal ginjal, hipertensi serta rusaknya pembuluh darah otak dan penyakit kronik disebabkan oleh radikal bebas (Jacob *et al.*, 2011).

Aktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh kerja antioksidan (Putri *et al.*, 2013). Tubuh manusia sebenarnya dapat menghasilkan antioksidan hanya saja jumlahnya tidak mencukupi untuk menetralkan radikal bebas yang semakin menumpuk di dalam tubuh (Sulandi, 2013). Berdasarkan sumbernya, antioksidan digolongkan dalam dua jenis, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Wichi (1988) serta Thompson dan Oldeus (1988) dalam Nurjanah *et al.* (2015), antioksidan sintetis berpotensi karsinogenik, sedangkan antioksidan alami lebih aman karena mampu melindungi tubuh dari kerusakan.

Salah satu antioksidan alami adalah berasal dari mangrove, masyarakat memanfaatkan mangrove sebagai obat tradisional karena memiliki potensi kandungan bioaktif yang sangat tinggi. Contoh tumbuhan mangrove yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tumbuhan pedada merah (*S. caseolaris*). Tumbuhan tersebut mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin dan fenol (Avenido dan Serrano, 2012). Pada penelitian ini menggunakan ekstrak sampel mangrove *Sonneratia caseolaris* yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami (Kemit *et al.*, 2017). *Sonneratia caseolaris* adalah salah satu

jenis mangrove pada bagian daun pernah digunakan sebagai obat luka dan jamu untuk menghentikan pendarahan serta sebagai obat batuk (Sukardjo, 1984). Manalu (2013) menyatakan bahwa *S. caseolaris* memiliki kandungan 2% protein, 4,8% lemak, 77,6% karbohidrat, vitamin A, B1, B2 dan C. Berdasarkan Penel Gizi Makan tahun 2013, *S. caseolaris* dan produk olahannya dapat memberikan asupan zat gizi makro maupun mikro pada makanan. Lestari (2017) melakukan penelitian pada daun *S. caseolaris* yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks dengan nilai IC_{50} sebesar 22,32 $\mu\text{g/ml}$ hingga 164,58 $\mu\text{g/ml}$. Sedangkan menurut Nurdia (2017) potensi *S. caseolaris* dapat dimanfaatkan untuk anti sinar ultraviolet, antimikroba, antioksidan dan antinosiseptif.

Sampel mangrove *S. caseolaris* diambil dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur yang tumbuh di tepi muara sungai pada daerah dengan salinitas rendah (<10 ppm) dan campuran air tawar. Mangrove *S. caseolaris* tumbuh secara alami di wilayah tersebut dengan tinggi sekitar 10-15 meter pada substrat tanah berlumpur yang dalam sehingga ditemukan beberapa akar nafas yang mencapai 1 meter karena kondisi tanah yang anoksik. Berdasarkan penelitian Triani *et al.* (2004) di Pesisir Pantai Serang terdapat beberapa tambak intensif dimana limbah dari tambak tersebut mengandung H_2S sebanyak 0,852 ppm. Oleh karena itu dengan kondisi lingkungan yang tertekan *S. caseolaris* dapat tumbuh secara alami di Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar.

Salah satu potensi *S. caseolaris* yang paling disoroti oleh masyarakat adalah kegunaannya sebagai antioksidan. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan adalah jenis pelarut, konsentrasi, suhu, pH dan lama ekstraksi (Soehendro, 2015), serta suhu dan lama waktu evaporasi (Joharman, 2006). Lama waktu evaporasi merupakan faktor penting dalam pembentukan ekstrak hasil evaporasi untuk mendapatkan senyawa aktif secara maksimal. Alat

yang digunakan dalam proses evaporasi pada penelitian ini adalah *Vacuum Rotary Evaporator* yang memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah suhu pada proses penguapan dapat dikontrol sehingga dapat menghindari kerusakan zat aktif karena pemanasan. Selain itu dapat meminimalisir kontak zat aktif dengan udara yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi dan memiliki sistem separasi yang lebih cepat serta menghasilkan sampel dengan kemurnian yang lebih tinggi (Setyanto, 2012).

Berdasarkan hal di atas, untuk memaksimalkan potensi antioksidan alami *S. caseolaris*, maka perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan perlakuan lama waktu evaporasi. Apabila waktu evaporasi semakin lama maka pelarut yang diuapkan semakin meningkat dan dapat mengakibatkan terjadinya degradasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel (Joharman, 2006), kemudian apabila waktu evaporasi semakin singkat maka menyebabkan ekstrak masih tidak murni yang dapat menurunkan aktivitas antioksidan (Firdiyani *et al.*, 2015). Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil aktivitas antioksidan yang optimal maka perlu ditentukan lama waktu evaporasi yang tepat dalam mengekstraksi senyawa antioksidan pada ekstrak *S. caseolaris*.

1.2 Rumusan Masalah

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat, menunda atau mencegah reaksi oksidasi meskipun dalam konsentrasi yang kecil. Saat ini telah banyak dikembangkan produk antioksidan sintetik namun bersifat karsinogenik sehingga pencarian sumber antioksidan alami sangat dibutuhkan untuk menggantikan peran antioksidan sintetik. Pengembangan antioksidan dari bahan alami belum banyak dilakukan, salah satunya adalah dari mangrove *S. caseolaris* sehingga untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang baik dan ekstrak yang optimal maka perlu ditentukan lama waktu evaporasi yang tepat

dalam mengekstraksi senyawa antioksidan *S. caseolaris*. Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah lama waktu evaporasi memiliki pengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak *S. caseolaris*?
2. Apakah konsentrasi ekstrak *S. caseolaris* memiliki pengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan?
3. Apakah terdapat perbedaan senyawa fitokimia yang ditemukan pada ekstrak *S. caseolaris*?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian mengenai pengaruh lama waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak mangrove *S. caseolaris* dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh lama waktu evaporasi terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak *S. caseolaris*?
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak *S. caseolaris* terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan?
3. Mengetahui perbedaan senyawa fitokimia yang ditemukan pada ekstrak *S. caseolaris*?

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui potensi ekstrak *S. caseolaris* sebagai antioksidan alami dengan perbedaan lama waktu evaporasi dan konsentrasi ekstrak.
2. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan *S. caseolaris* sehingga dapat digunakan sebagai referensi pada penelitian selanjutnya.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sonneratia caseolaris*

Sonneratia caseolaris tumbuh di tepi muara sungai terutama pada daerah dengan salinitas yang rendah. Tumbuhan ini mampu tumbuh hingga ketinggian 15 meter, memiliki struktur berupa akar, batang, ranting, daun, bunga dan buah. Daun pada tumbuhan ini berbentuk bundar telur terbalik atau memanjang dengan panjang sekitar 5-13 cm x 2-5 cm. Tangkai daun pendek dan terkadang kemerahan. Bunga soliter-berkelompok hingga 3 bunga per kelompok. Kelopak bertaju 6-8, tabung kelopak serupa cawan dangkal di bawahnya, hijau dibagian luar serta putih kehijauan atau kekuningan di dalamnya. Daun mahkota berwarna merah dan sempit dengan panjang 17-35 mm x 1,5-3,5 mm. Buah berbiji banyak berbentuk bola pipih berwarna hijau dengan panjang diameter 6-8 cm (Gambar 1) (Noor *et al.*, 2012).



Gambar 1. *Sonneratia caseolaris* (daun, batang, bunga dan buah)
(Florafaunaweb, 2018 dan Noor *et al.*, 2012).

Pemanfaatan organ daun pada *Sonneratia* mampu meningkatkan nilai guna tumbuhan tersebut, karena produktivitas daun lebih banyak serta sesuai dengan prinsip bioetika yang mendahulukan pemanfaatan organ vegetatif daripada generatif. Kulit batang pada *Sonneratia* mampu menghambat pembentukan asam asetat yang dikarenakan adanya senyawa antioksidan pada

kulit batang tersebut (Herawati, 2011). *Sonneratia caseolaris* mampu tumbuh di tepi muara sungai terutama pada daerah dengan salinitas rendah dan campuran air tawar serta substrat berupa lumpur. Tumbuhan yang dapat hidup pada daerah yang memiliki tekanan lingkungan tinggi memiliki senyawa yang melindunginya dari kerusakan (Wiratno *et al.*, 2017). Buah pada *S. caseolaris* mengandung vitamin A, B1, B2 dan C yang berperan dalam metabolisme tubuh, terutama produksi energi dan sintesis protein. Buah pepada berbentuk bulat, ujung bertangkai dan bagian dasarnya terbungkus kelopak bunga (Manalu *et al.*, 2013). Menurut Zipcodezoo (2018) klasifikasi *S. caseolaris* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Lythraceae
Genus	: <i>Sonneratia</i>
Spesies	: <i>Sonneratia caseolaris</i>

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan atau pemisahan suatu komponen aktif pada simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu (Harborne, 1987). Proses ekstraksi bertujuan untuk memisahkan bahan padat atau bahan cair dari suatu zat dengan bantuan pelarut. Fungsi dari pelarut tersebut yaitu digunakan untuk mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Menurut Mukhriani (2014), maserasi termasuk dalam metode ekstraksi yang sederhana. Hal ini dikarenakan metodenya yang baik untuk skala kecil ataupun skala industri. Metode tersebut dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman

beserta pelarut yang sesuai ke dalam wadah tertutup pada suhu kamar. Apabila proses ekstraksi sudah selesai, kemudian pelarut dipisahkan dari sampel dengan proses penyaringan. Metode maserasi berfungsi agar senyawa-senyawa yang bersifat termolabil tidak rusak.

Menurut Nurhasnawati *et al.* (2017), terdapat salah satu faktor yang mampu mempengaruhi kualitas dan kuantitas ekstrak yaitu metode ekstraksi yang digunakan. Dua metode ekstraksi yang lazim digunakan adalah maserasi dan sokletasi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya adalah:

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

2.3 Evaporasi

Proses penguapan atau evaporasi merupakan proses pemisahan uap air dari suatu campuran yang berupa larutan menjadi bentuk yang lebih murni (Setyanto *et al.*, 2012). Menurut Joharman (2006) penguapan adalah proses yang melibatkan perpindahan massa dan perpindahan panas. Sebagian pelarut akan diuapkan untuk diperoleh produk atau ekstrak yang kental disebut konsentrat. Penguapan dapat terjadi jika suhu bahan sama atau lebih tinggi dari titik didih cairan. Faktor evaporasi yaitu hubungan antara suhu dan waktu yang akan menentukan tingkat kerusakan akibat panas.

Teknik pemisahan senyawa dengan bentuk sampel larutan akan lebih mudah dipisahkan dari pelarutnya dengan cara evaporasi. Pelarut dipanaskan sampai menguap sehingga hanya meninggalkan senyawa yang terpisah.

Beberapa alat yang digunakan dalam penguapan pelarut adalah *Rotary vacuum evaporator*, pompa vakum difusi dan *freeze drying*. *Rotary vacuum evaporator* adalah instrumen yang menggunakan prinsip destilasi (pemisahan). Prinsip utama dalam instrumen ini terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat dan pemutaran labu alas bulat hingga berguna agar pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya (Rais, 2016). Pompa vakum difusi bekerja dengan mengalirkan uap sangat cepat yang diperoleh dari mendidihkan merkuri kemudian termampatkan ketika bertumbukan dengan dinding pompa yang didinginkan. Biasanya digunakan oleh bahan yang tekanan penguapannya sangat rendah (Soepardjo, 2004). Menurut Gaidhani *et al.* (2016) *freeze drying* adalah proses menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan atau produk yang telah beku (es) tanpa melalui fase cair terlebih dahulu.

Salah satu alat yang digunakan untuk proses penguapan atau evaporasi adalah *Vacuum Rotary Evaporator* (Aji *et al.*, 2013). *Vacuum Rotary Evaporator* merupakan alat yang berfungsi untuk memisahkan bahan dengan pelarut setelah proses ekstraksi sehingga dapat menghasilkan ekstrak sesuai dengan yang diinginkan. Penggunaan alat tersebut cukup mudah, cairan yang diinginkan ditempatkan pada suatu labu lalu dipanaskan dengan bantuan penangas kemudian diputar. Setelah proses tersebut maka akan dihasilkan uap cairan yang didinginkan oleh suatu pendingin (kondensor). Alat ini memiliki kelebihan yaitu pelarut yang diuapkan dapat diperoleh kembali, hasil yang diperoleh sangatlah akurat karena teknik yang digunakan dalam *Vacuum Rotary Evaporator* bukan hanya terletak pada pemanasannya tapi dengan menurunkan tekanan pada labu alas bulat dan memutar labu alas bulat dengan kecepatan tertentu, sehingga suatu pelarut akan menguap dan senyawa yang larut dalam pelarut tersebut tidak ikut menguap namun mengendap, dengan pemanasan dibawah titik didih pelarut sehingga senyawa yang terkandung dalam pelarut

tidak rusak oleh suhu tinggi. Alat ini memiliki sistem separasi yang lebih cepat dan menghasilkan sampel dengan kemurnian yang lebih tinggi. Ekstrak kasar dari proses tersebut berupa padatan atau cairan (Senjaya dan Surakusumah, 2008).

2.4 Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif merupakan senyawa fungsional yang terdapat dalam bahan pangan dan dapat memberikan pengaruh biologis maupun fisiologis. Pemilahan senyawa bioaktif bisa dilakukan dengan uji fitokimia yang meliputi komponen alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, fenol dan tanin. Tujuan dari uji fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan maupun senyawa aktif penyebab efek racun dengan cara ekstrak kasar. Alkohol aromatik, misalnya total fenol, polifenol dan komponen asam merupakan kelompok besar senyawa bioaktif (Kannan *et al.*, 2009).

Senyawa yang terkandung dalam tubuh hewan ataupun tumbuhan disebut dengan senyawa bioaktif. Beberapa manfaat senyawa bioaktif untuk manusia diantaranya adalah dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antikanker. Berbagai penelitian tentang senyawa bioaktif telah dilakukan untuk tujuan kesehatan manusia. Untuk menarik senyawa bioaktif dibutuhkan metode ekstraksi senyawa yang tepat dan pelarut yang digunakan. Tingkat kepolaran dari pelarut yang digunakan akan berpengaruh pada hasil ekstrak dengan senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami. Metode ekstraksi yang digunakan berfungsi untuk menarik senyawa bioaktif secara maksimal oleh pelarut. (Firdiyani *et al.*, 2015).

2.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan metode yang sederhana, cepat, serta sangat efektif yang digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa serta

mengetahui keberadaan senyawa-senyawa aktif biologis yang terdistribusi dalam jaringan tanaman (Fithriani *et al.*, 2015). Analisa fitokimia bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam pelarut dari ekstrak secara kualitatif maupun kuantitatif. Uji fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan dengan melihat perubahan warna pada ekstrak sampel ketika diberikan larutan pereaksi (Paputungan *et al.*, 2017).

Uji fitokimia merupakan suatu uji yang digunakan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu simplisis tumbuhan. Uji fitokimia dapat digunakan untuk membuktikan ada atau tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan. Pada pengujian fitokimia dapat menggunakan analisis kualitatif untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tiap ekstrak daun mangrove dengan mengamati perubahan warna yang terjadi setelah diberi larutan uji. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Prabowo *et al.*, 2014).

2.5.1 Fenol

Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena pada strukturnya terdapat gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga radikal senyawa fenol dapat meredam radikal bebas. Senyawa fenol sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida sehingga dengan adanya gugus glikosida yang berikatan dengan senyawa fenol menyebabkan aktivitas antioksidan senyawa fenol dalam ekstrak bersifat lemah (Ridho, 2013).

Pada ekstrak sampel uji kualitatif senyawa fenol dengan menggunakan larutan FeCl_3 ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hitam

kecoklatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak termasuk ke dalam golongan senyawa fenol. Selain itu pemilihan ekstrak pelarut seperti metanol dengan pertimbangan bahwa mengingat sifatnya yang polar sehingga mampu mengikat senyawa fenolik (Putri dan Hidajati, 2015). Menurut Papatungan *et al.* (2017) fenol merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu organisme berfungsi untuk mencegah terjadinya kerusakan atau menurunnya kemampuan bertahan hidup suatu organisme. Gugus hidroksil dari fenol mampu menangkap radikal bebas, mampu meredam sifat radikal senyawa oksigen reaktif seperti superoksida, radikal peroksida, radikal hidroksil dan feroksinitrit. Senyawa fenolat diketahui sebagai senyawa pelindung tumbuhan dari herbivora dan fungsi utama sebagian besar senyawa fenolat adalah melindungi tumbuhan dari kerusakan akibat cahaya yang berlebihan dengan bertindak sebagai antioksidan dan levelnya bervariasi sesuai dengan kondisi.

2.5.2 Steroid/Terpenoid

Keberadaan terpenoid berdasarkan kemampuan senyawanya untuk membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat pada pelarut asam asetat anhidrat. Terjadinya perubahan warna disebabkan karena adanya reaksi oksidasi pada golongan steroid atau terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Apabila terdapat kandungan terpenoid pada sampel maka hasil uji akan ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan, hal ini menandakan bahwa terdapat hasil positif terpenoid (Nirwana *et al.*, 2015).

Keberadaan steroid ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi warna hijau pada larutan. Steroid adalah golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan *siklopentanaperhidrofenantrena* dan memiliki inti dengan empat cincin. Turunan steroid yang penting diantaranya adalah alkohol steroid atau sterol. Steroid tidak terdapat secara bebas tetapi sebagai turunan

senyawa yang lebih rumit seperti glikosida atau ester dengan asam lemak atau asam aromatik. Steroid dan terpenoid berkaitan secara struktural, tetapi beberapa jalur khusus dalam biosintesisnya telah menghasilkan karakteristik-karakteristik struktur tertentu dan fungsi-fungsi biologi (Radam dan Purnamasari, 2016).

Skринing fitokimia tidak dikerjakan untuk terpenoid karena tidak ada pereaksi yang spesifik untuk terpenoid. Uji Lieberman-Burchard yang biasa dikerjakan untuk terpenoid hanya mendeteksi gugus steroid, padahal selain terdapat pada terpenoid, gugus ini juga terdapat pada saponin, kardenolin dan bufadienol. Hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dalam sampel ekstrak etanol labu siam mengandung alkaloid, tannin dan polifenol, saponin, kardenolin/bufadienol dan flavonoid, namun tidak mengandung antrakuinon (Marliana *et al.*, 2005).

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan berdasarkan fungsinya dikelompokkan menjadi antioksidan primer, antioksidan sekunder, antioksidan tersier, *oxygen scavenger*, dan *chelators* (Kumalaningsih, 2006).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh penyebab penyakit karsinogenik, kardiovaskuler ataupun penuaan dini. Antioksidan dibutuhkan karena tubuh manusia tidak memiliki sistem pertahanan antioksidan yang berlebihan sehingga apabila terjadi paparan radikal bebas berlebihan, maka tubuh akan membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar seperti asupan makanan atau vitamin (Waji dan Sugrani, 2009). Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi kedalam dua kelompok, yaitu

antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami tanpa ada penambahan senyawa kimia).

2.6.1 Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetik sudah banyak digunakan untuk menggantikan antioksidan alami, karena sifatnya yang mudah dicari dan mudah didapatkan. Antioksidan sintetik yang banyak digunakan adalah senyawa-senyawa fenol. Contoh antioksidan sintetik yang sering digunakan masyarakat adalah *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tertbutylhydroquinone* (TBHQ) dan *α-tocopherol*. Penggunaan antioksidan sintetik memiliki keuntungan diantaranya adalah aktivitas antioksidannya yang kuat, namun terdapat kekurangan yaitu terkait dengan dugaan sifat karsinogeniknya apabila penggunaannya melebihi dari batas yang direkomendasikan. Apabila bersifat karsinogenik maka penggunaan antioksidan sintetik yang berlebihan dapat membahayakan tubuh manusia (Purwaningsih *et al.*, 2013).

Antioksidan sintetik berasal dari hasil produksi pabrik. Penggunaan antioksidan sintetik harus dibatasi dalam sehari-hari karena memiliki banyak kekurangan dan bersifat karsinogenik. Salah satu antioksidan sintetik yang banyak ditemui adalah *Butylated Hidroxy Toluene* (BHT) yang merupakan senyawa antioksidan sintetik kuat. Hal ini dikarenakan BHT merupakan senyawa penangkap radikal yang lebih efektif dan lebih mampu menghambat peningkatan bilangan peroksida minyak sawit lebih baik dibandingkan β-karoten dan β-tokoferol (Jacob *et al.*, 2011).

2.6.2 Antioksidan Alami

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksidasi dengan cara menangkap radikal bebas. (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Antioksidan

alami banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan, baik dalam buah maupun sayuran. Antioksidan alami dalam buah dan sayuran berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh, mengikat logam yang terlibat dalam reaksi radikal bebas dan memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak. Mayoritas senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami berasal dari tumbuhan. Senyawa antioksidan alami umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional (Simamora, 2011).

2.7 Fungsi Antioksidan

Fungsi utama antioksidan digunakan untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan. Antioksidan tidak hanya digunakan dalam industri farmasi, tetapi juga digunakan secara luas dalam industri makanan, petroleum, karet dan sebagainya (Tahir *et al.*, 2003).

Antioksidan dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan juga berfungsi untuk menetralkan atau menekan dampak negatif yang diakibatkan oleh radikal bebas. Antioksidan mengandung struktur inti yang sama, yaitu cincin benzene tidak jenuh disertai gugusan hidroksi atau gugusan amino. Terdapat 4 tahap mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai radikal bebas dari lemak teroksidasi, yaitu pelepasan hidrogen, pelepasan elektron, adisi lemak ke dalam cincin aromatik antioksidan dan pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik antioksidan (Handayani, 2013).

2.8 Uji Aktivitas Antioksidan

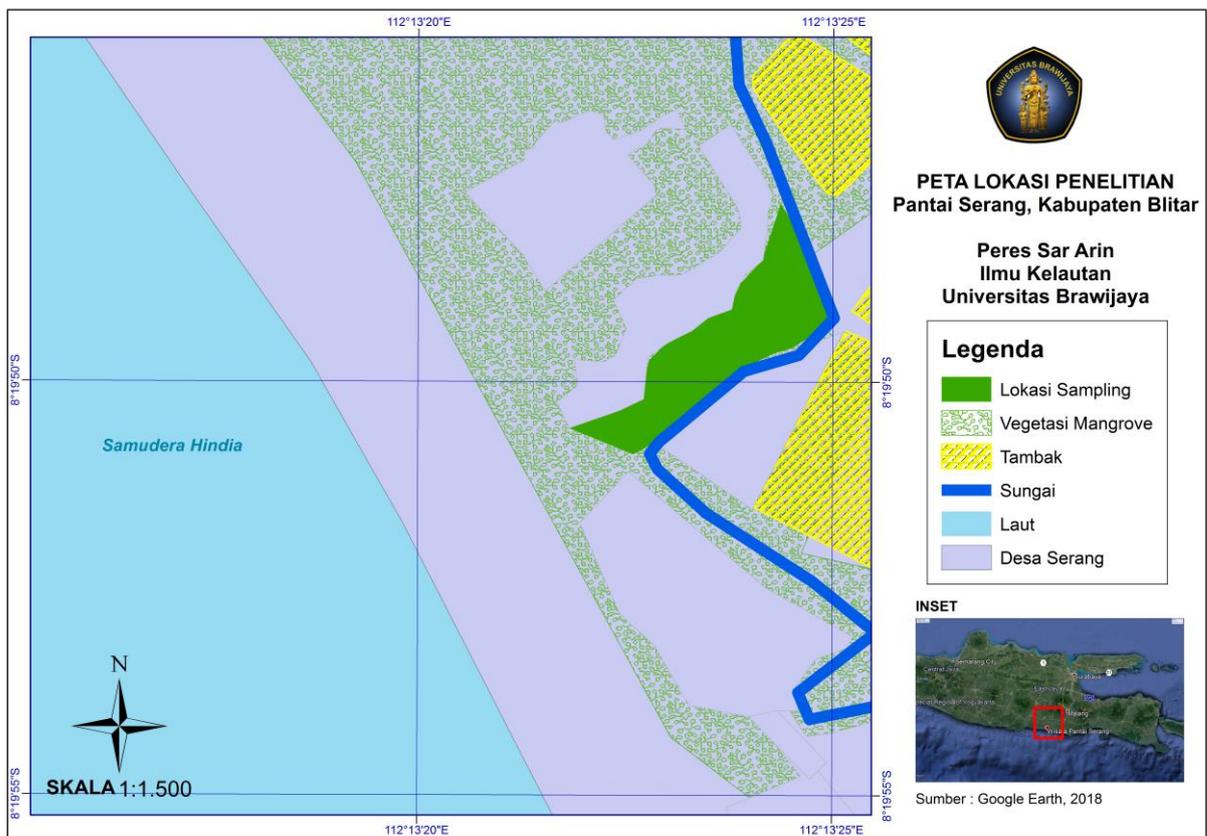
Salah satu metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan secara *in-vitro* adalah metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Green, 2004). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil, DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Rastuti dan Purwati, 2012).

Uji aktivitas antioksidan salah satunya dilakukan dengan cara menggunakan metode uji penangkap radikal bebas DPPH. Prinsip metode ini adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol dan metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil reaksi antara penangkap radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan dapat diketahui melalui perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning. Hal ini dikarenakan terjadinya resonansi struktur penangkap radikal bebas DPPH. Pengurangan intensitas warna berhubungan dengan jumlah elektron penangkap radikal bebas DPPH yang menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan (Najoan *et al.*, 2016).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Tempat pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya pada bulan April 2018 hingga Juni 2018. Pengambilan sampel dilakukan di Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur pada tanggal 21 Januari 2018. Peta lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdapat pada Tabel 1 dan 2 sebagai berikut:

Tabel 1. Alat yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1.	Alat tulis	-	Mencatat hasil penelitian
2.	Kamera	Samsung	Dokumentasi lokasi pengambilan sampel dan rangkaian penelitian
3.	Pisau	-	Mengambil sampel berupa kulit batang mangrove
4.	Timbangan analitik	Radwag AS220/X	Menimbang bahan atau berat sampel dalam satuan mg
5.	Timbangan digital	Scout Pro	Menimbang bahan atau sampel secara mekanik
6.	Gunting	-	Memotong bahan-bahan penelitian dan memotong daun mangrove ketika pengambilan
7.	Ember	-	Wadah sampel mangrove setelah pengambilan dan preparasi sampel
8.	Blender	National	Menghaluskan sampel
9.	Ayakan	-	Mengayak bahan sampel
10.	Washing bottle	-	Wadah aquades
11.	Tube	-	Wadah pembuatan larutan DPPH
12.	Beaker glass 10ml	Pyrex	Wadah pembuatan larutan
13.	Botol vial 20 ml	-	Wadah sampel pada pengujian Fitokimia
14.	Spektrofotometri	Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer	Mengukur nilai sampel berdasarkan panjang gelombang
15.	Nampan	-	Wadah alat dan bahan penelitian
16.	Gelas ukur	Pyrex	Mengukur volume larutan
17.	Cuvet	-	Wadah menaruh larutan sebelum diukur di Spektrofotometri
18.	Lemari pendingin	-	Menyimpan sampel pada suhu yang rendah
19.	Vacuum Rotary Evaporator	IKA	Mengevaporasi sampel
20.	Mikropipet	Dragon Lab	Memindahkan larutan dalam skala mikro
21.	Botol 1L	-	Wadah untuk maserasi

Tabel 1. Lanjutan

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
22.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan
23.	Sendok bahan	-	Mengambil bahan sampel
24.	Jam	-	Menghitung lama perlakuan
25.	Corong	-	Membantu saat penyaringan
26.	Rak tabung	-	Wadah meletakkan tabung reaksi
27.	Erlenmeyer	-	Wadah meletakkan larutan
28.	Tabung reaksi	-	Wadah untuk menghomogenkan sampel

Tabel 2. Bahan yang digunakan selama penelitian beserta fungsinya

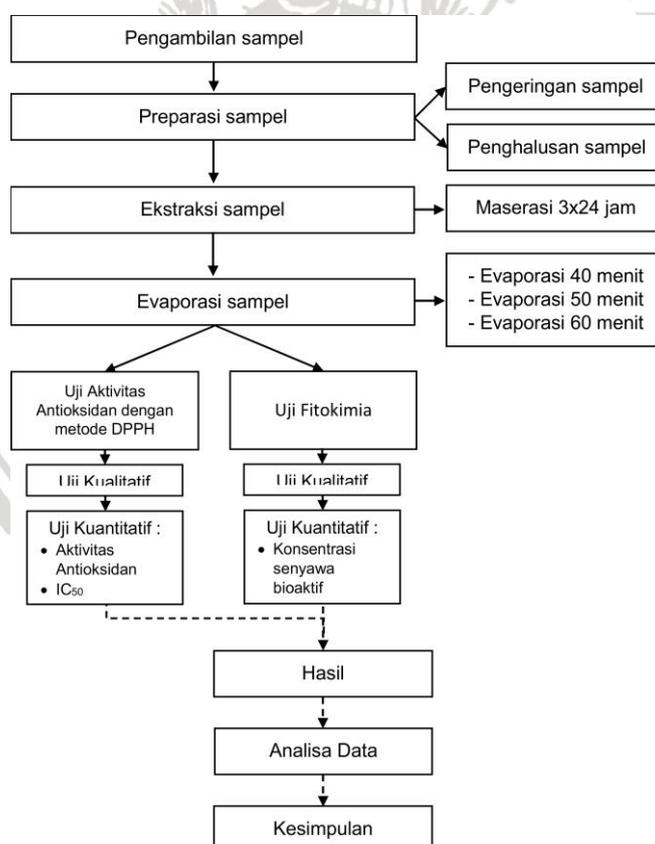
No.	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1.	Daun <i>Soneratia caseolaris</i>	200 gram	Bahan uji antioksidan dan bahan uji fitokimia
2.	Kulit batang <i>Soneratia caseolaris</i>	200 gram	Bahan uji antioksidan dan bahan uji fitokimia
3.	DPPH	17,73 mg	Larutan uji antioksidan
4.	Metanol PA	3,6 L	Larutan yang digunakan sebagai pelarut campuran pembuatan sampel
5.	Vitamin C	10 mg	Kontrol positif
6.	FeCl ₃ 5%	48 ml	Pereaksi dalam uji Fenol
7.	Lieberman-Burchard	24 ml	Pereaksi dalam uji Steroid
8.	H ₂ SO ₄	72 ml	Pereaksi dalam uji Terpenoid
9.	Chlorofom	48 ml	Pereaksi dalam uji Terpenoid
10.	Asam asetat	48 ml	Pereaksi dalam uji Terpenoid
11.	Plastik wrap	-	Menutup mulut botol pada saat maserasi
12.	Aluminium foil	-	Menutup seluruh permukaan botol
13.	Whatman no.42	18 lembar	Menyaring sampel saat proses maserasi
14.	Kertas label	-	Memberi tanda pada botol vial
15.	Tisu	-	Mengeringkan peralatan setelah dicuci

Tabel 2. Lanjutan

No.	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
16.	Aquades	Hydrobath	Membersihkan cuvet spektrofotometri
17.	Cotton bud	-	Membantu pengambilan dan penimbangan sampel

3.3 Alur Penelitian

Alur penelitian yang dilaksanakan meliputi pengambilan sampel di lapang, preparasi sampel berupa pengeringan dan penghalusan sampel, ekstraksi menggunakan metode maserasi 3x24 jam, uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH, dan uji fitokimia senyawa fenol, dan steroid/terpenoid. Hasil penelitian akan dianalisa untuk mengetahui pengaruh lama waktu evaporasi pada ekstrak *S. caseolaris*. Secara garis besar alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Alur penelitian pengaruh lama waktu evaporasi terhadap aktivitas antioksidan

3.4 Prosedur Kerja

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang meliputi beberapa tahapan diantaranya adalah pengambilan sampel *S. caseolaris*, preparasi sampel yang terdiri dari pengeringan dan penghalusan sampel dan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi serta evaporasi. Kemudian ekstrak hasil evaporasi akan digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan uji fitokimia untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan fenol dan steroid/terpenoid.

3.4.1 Pengambilan Sampel di Lapang

Jenis sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun dan kulit batang *S. caseolaris* yang diambil dari daerah Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar Jawa Timur. Daun yang dijadikan sampel merupakan daun yang berwarna hijau tua dan tidak cacat, serta masih melekat di dahan. Daun yang diambil diutamakan berukuran 3-8 cm (Danata dan Yamindago, 2014), sedangkan untuk kulit batang disayat menggunakan pisau secara perlahan, diambil bagian terluar yang berwarna coklat keabu-abuan dan tidak terlalu tua dan keliling batang pohon sekitar 31,4 cm hingga 62,8 cm (Darminto dan Alimuddin, 2009). Sampel daun dan kulit batang masing-masing ditimbang menggunakan timbangan dan diambil sebanyak 1 kg, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik sebelum dipreparasi.

3.4.2 Preparasi Sampel

Sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* yang telah diperoleh dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar kemudian daun dicuci bersih dengan air mengalir, sedangkan kulit batang dipotong dulu 5-10 cm dan dicuci bersih dengan air mengalir, hal ini bertujuan untuk menghilangkan garam, lalu dibilas dengan menggunakan aquades agar kotoran-kotoran yang menempel pada

sampel hilang (Ayu *et al.*, 2010). Tahap selanjutnya yaitu daun dan kulit batang dipotong kecil-kecil agar dapat mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan di UPT Materia Medica pada suhu 30°C kurang lebih 7 hari dengan tujuan untuk mengurangi kadar air dari sampel, selain itu sampel yang kering akan mudah dihaluskan. Selanjutnya daun dan kulit batang dihancurkan dan dihaluskan dengan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk/bubuk. Proses tersebut bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga akan memperluas kontak senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel dengan pelarut pada saat proses maserasi sehingga senyawa tersebut dapat terekstrak maksimal oleh pelarut (Sindora *et al.*, 2017).

3.4.3 Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan pelarut metanol. Ekstraksi dengan metanol bertujuan untuk mencari senyawa-senyawa yang bersifat polar, seperti fenol, flavonoid dan polifenol (Ayu *et al.*, 2010). Menurut Sayuti (2017) metanol merupakan pelarut organik yang umum digunakan dalam maserasi karena ukuran molekulnya yang kecil sehingga memiliki kemampuan untuk menembus dan memecah dinding sel tumbuhan dan dapat mengekstrak komponen kimia bersifat polar hingga semi polar yang terkandung dalam sel.

Serbuk daun dan kulit batang *S. caseolaris* masing-masing ditimbang sebanyak 200 gram hingga konstan menggunakan timbangan digital. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam botol dan direndam dengan metanol sebanyak 600 ml (1:3). Sampel tersebut ditutup dengan rapat dan dibungkus dengan plastik wrap serta alumunium foil. Pada saat maserasi, pelarut metanol mampu memecah dinding serta membran sel yang mengandung senyawa kimia pada daun dan kulit batang (Sindora *et al.*, 2017).

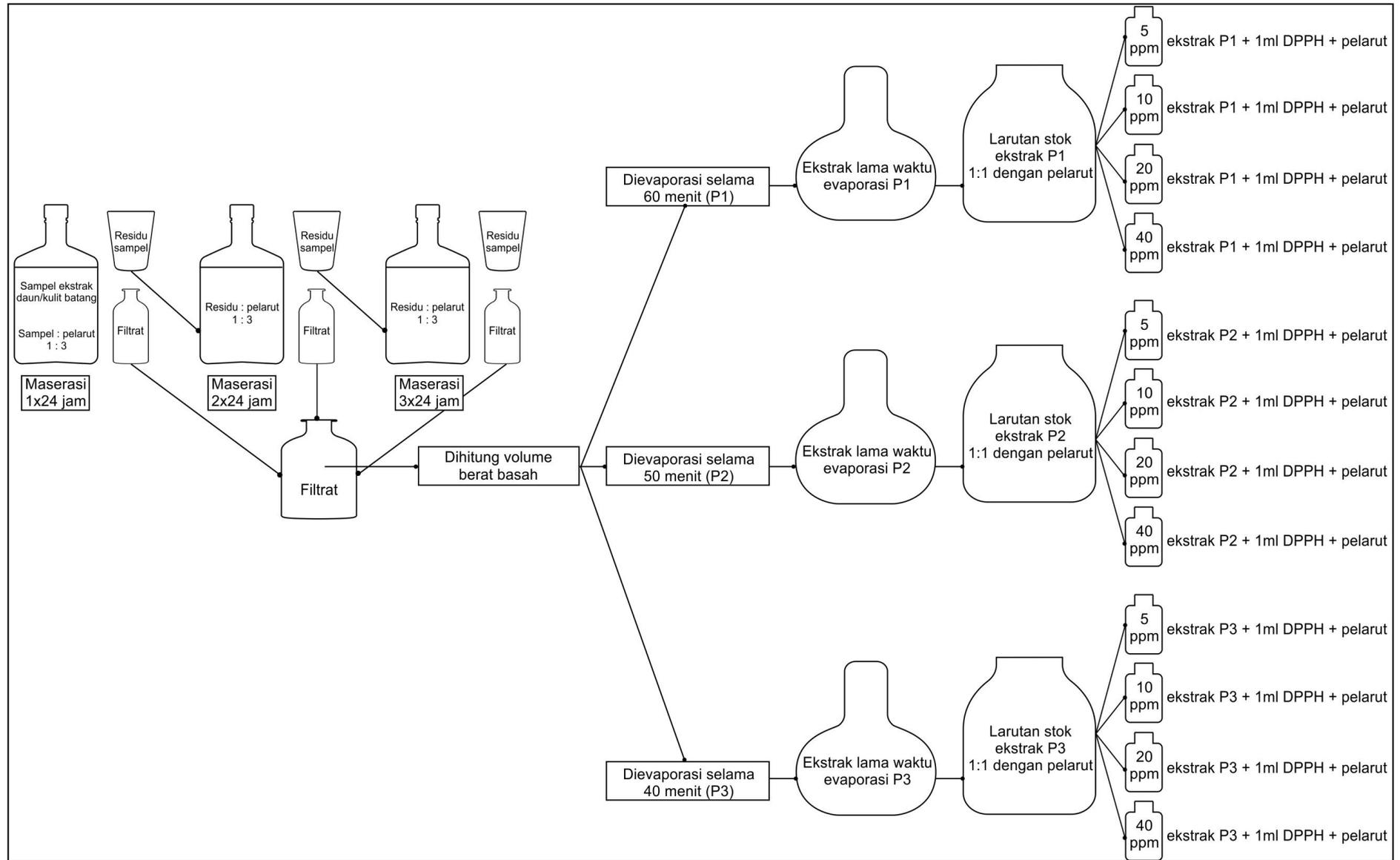
Setelah 24 jam, hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring *Whatman* No. 42 dan corong, hal ini bertujuan agar larutan ekstrak terpisah dari endapan bahan dan terjadinya keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel sehingga dihasilkan filtrat I dan residu I. Pada saat 2x24 jam residu I daun dan kulit batang dimaserasi kembali seperti cara sebelumnya sehingga diperoleh filtrat II dan residu II. Begitu juga pada 3x24 jam residu III daun dan kulit batang dimaserasi kembali sehingga dihasilkan filtrat III dan residu. Kemudian hasil filtrat I, II dan III digabungkan dan ditimbang untuk mengetahui berat basah filtrat, lalu diuapkan dengan menggunakan *Vacuum Rotary Evaporator* pada suhu 44°C (Ayu *et al.*, 2010).

3.4.4 Evaporasi Sampel

Evaporasi adalah proses penguapan sebagian dari pelarut untuk mendapatkan larutan zat cair pekat yang konsentrasinya lebih tinggi. Tujuan evaporasi yaitu untuk memekatkan larutan yang terdiri dari zat terlarut yang tak mudah menguap dan pelarut yang mudah menguap (Herfianto *et al.*, 2014). Prinsip utama *Vacuum Rotary Evaporator* terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat dan pemutaran labu alas bulat hingga berguna agar pelarut dapat menguap lebih cepat di bawah titik didihnya sehingga suatu pelarut akan menguap dan senyawa yang larut dalam pelarut tidak ikut menguap namun mengendap. Dengan pemanasan di bawah titik didih pelarut sehingga senyawa yang terkandung dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi. Apabila pelarut sudah diuapkan, maka akan dihasilkan ekstrak berupa padatan (solid) atau cairan (liquid) (Senjaya dan Surakusumah, 2008).

Pada penelitian ini *Vacuum Rotary Evaporator* diatur pada suhu 44°C, karena titik didih metanol berada pada 64,7°C dengan panas pembentukan (cairan) -239,03 kJ/mol pada suhu 25°C (Utomo, 2012). Waktu evaporasi 40

menit, 50 menit dan 60 menit ditentukan melalui penelitian yang dilakukan oleh Rustamaji (2017) dan Narulita (2018), yaitu mengenai aktivitas antioksidan pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan metode yang sama. Pada proses evaporasi ini total filtrat dibagi menjadi tiga untuk waktu evaporasi 40 menit (P3), filtrat untuk waktu evaporasi 50 menit (P2), dan filtrat untuk waktu evaporasi 60 menit (P1). Filtrat tersebut dipindahkan ke dalam labu didih dan dipekatkan dengan penguapan putar pada suhu 44°C selama 40 menit, 50 menit dan 60 menit (Gunawan *et al.*, 2017). Hasil akhir dari proses tersebut berupa ekstrak yang berbentuk cairan atau liquid. Setelah didapatkan ekstrak yang diinginkan kemudian ditimbang dengan menggunakan timbangan digital dan dipindahkan ke dalam botol kaca serta disimpan dalam kulkas sebelum digunakan untuk perlakuan. Masing-masing ekstrak dari lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit dibuat larutan stok dengan perbandingan sampel dan pelarut adalah 1:1. Tahapan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bagan ekstraksi hingga pembuatan larutan stok ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris*

3.4.5 Uji Fitokimia

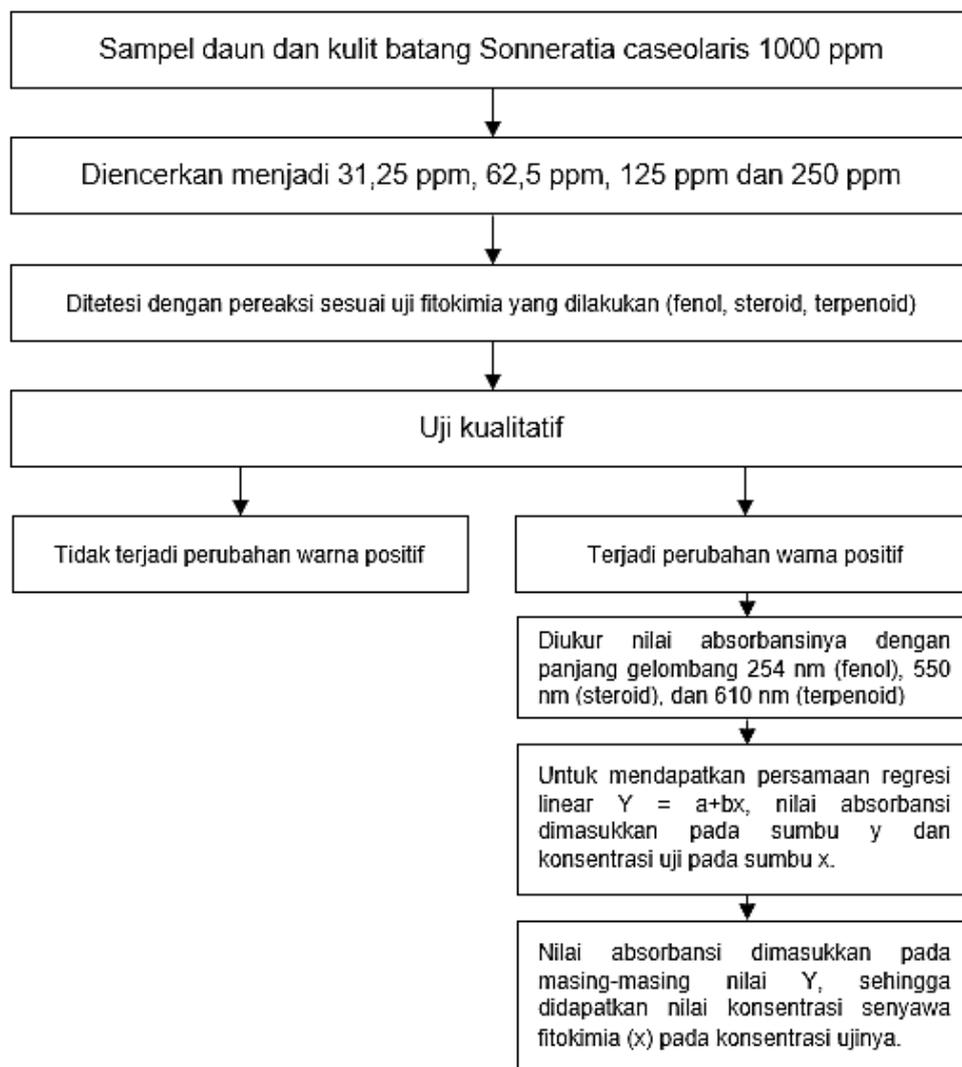
Uji fitokimia merupakan metode yang sederhana, cepat, serta sangat efektif yang digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa serta mengetahui keberadaan senyawa-senyawa aktif biologis yang terdistribusi dalam jaringan tanaman (Fithriani *et al.*, 2015). Analisa fitokimia merupakan analisa kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam pelarut dari ekstrak dengan melihat perubahan warna pada sampel setelah ditetesi pereaksi serta analisa kuantitatif yaitu dengan menghitung nilai absorbansi sampel hasil dari Spektrofotometer UV/Vis (Paputungan *et al.*, 2017).

Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini digunakan untuk mengetahui senyawa bioaktif fenol dan steroid/terpenoid. Apabila secara kualitatif sampel mengalami perubahan warna yang sesuai dengan serapan spektrum warna senyawa fenol dan steroid/terpenoid, maka pengujian dilanjutkan untuk dianalisa secara kuantitatif agar menghasilkan nilai absorbansi di Spektrofotometri UV/Vis pada panjang gelombang 254 nm untuk senyawa fenol (Anwar dan Triyasmono, 2016), panjang gelombang 550 nm untuk senyawa steroid (Meydia *et al.*, 2016) dan panjang gelombang 610 nm untuk senyawa terpenoid (Liu *et al.*, 2011) (Gambar 5).

Nilai absorbansi yang telah diperoleh melalui pengujian fitokimia menggunakan Spektrofotometri UV/Vis lalu dibuat kurva standar untuk mengetahui persamaan regresinya, yaitu:

$$Y=a+bx,$$

Y merupakan nilai absorbansi yang diperoleh, a merupakan intersep, x merupakan konsentrasi senyawa fitokimia ($\mu\text{g/ml}$) dan b merupakan koefisien regresi/slop.



Gambar 5. Tahapan uji fitokimia

3.4.5.1 Uji Senyawa Fenol

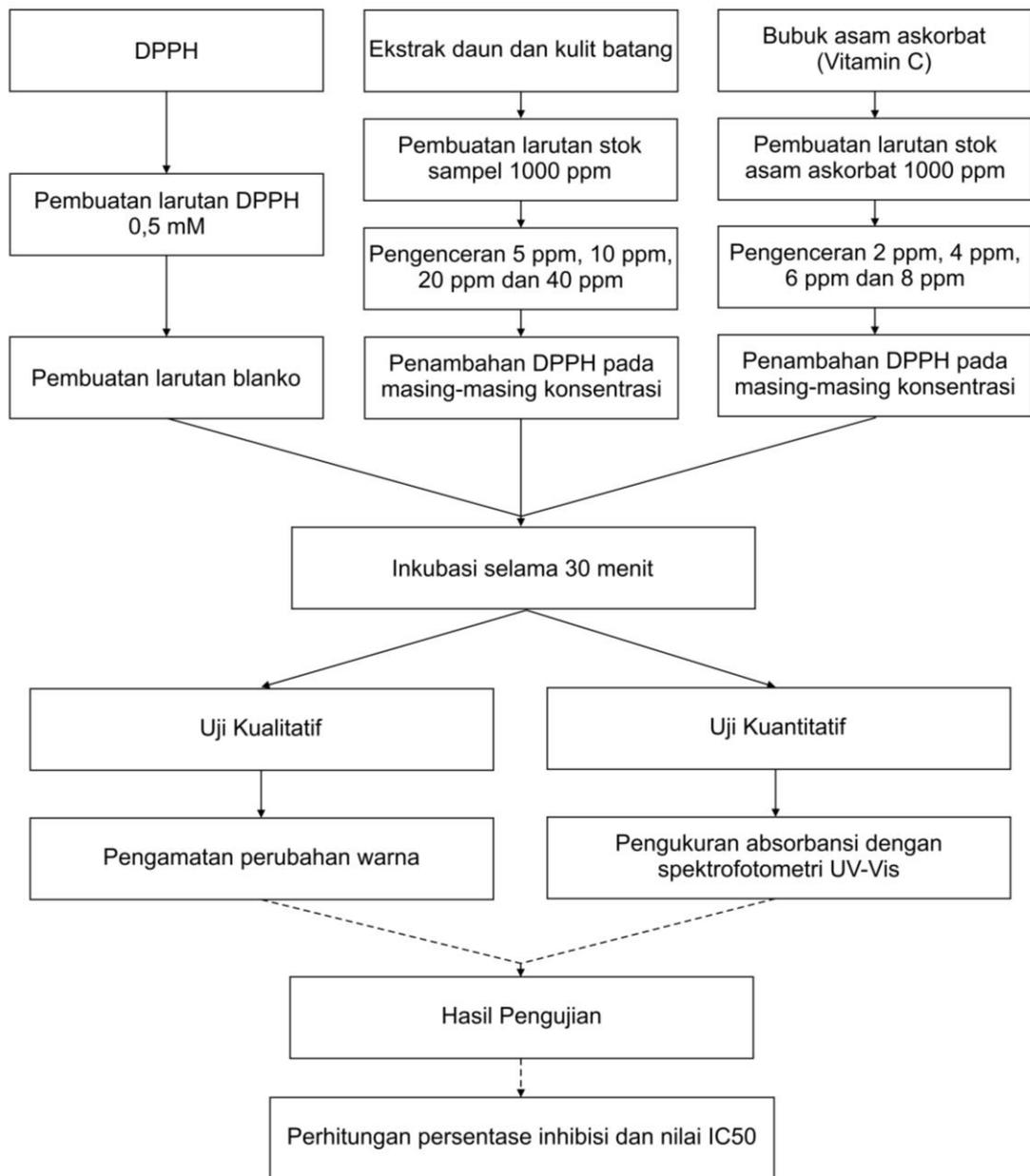
Sebanyak 1-2 tetes ekstrak diuapkan sampai kering dimasukkan ke dalam plat tetes dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Pengujian kualitatif senyawa fenol dapat diamati apabila terbentuk lapisan berwarna hijau kecoklatan, hitam kebiruan atau hitam yang kuat (Putri dan Hidajati, 2015). Pengujian kuantitatif senyawa fenol ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi dilakukan pada konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm dan 250 ppm dengan cara mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 254 nm (Anwar dan Triyasmono, 2016).

3.4.5.2 Uji Senyawa Steroid/Terpenoid

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak diuapkan sampai kering, kemudian ditambahkan dengan 1 ml pereaksi Lieberman-Burchard. Apabila terbentuk lapisan berwarna biru-ungu maka menunjukkan adanya senyawa steroid (Hanani dkk, 2005). Sebanyak 5 ml larutan ekstrak diuapkan sampai kering, kemudian ditambahkan dengan 2 ml Chloroform, 2 ml asam asetat dan 3 ml H₂SO₄ secara pelan dan hati-hati. Pengujian kualitatif senyawa terpenoid dapat diamati apabila terbentuk lapisan berwarna merah kecoklatan (Danata dan Yamindago, 2014). Pengujian kuantitatif ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi dilakukan pada konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm dan 250 ppm dengan cara mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 610 nm untuk senyawa terpenoid (Liu *et al.*, 2011) dan panjang gelombang 550 nm untuk senyawa steroid (Meydia *et al.*, 2016).

3.4.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas penangkapan radikal DPPH secara kuantitatif adalah metode yang dilakukan oleh Brand Williams yang dimodifikasi oleh Dudonn'e. Metode ini dipilih karena sederhana dan hanya memerlukan sedikit sampel. Pada proses pengujian, zat uji akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH sehingga DPPH tereduksi menjadi senyawa nonradikal yaitu 1,1-difenil-2-pikril-hidrazin yang stabil dan ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat. Semakin kecil absorbansi larutan uji dibandingkan dengan blanko maka semakin baik kemampuan suatu senyawa dalam meredam radikal DPPH (Nurmalasari *et al.*, 2016). Tahapan uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Tahapan uji aktivitas antioksidan

Pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Nurmalasari *et al.*, 2016), warna yang terlihat (komplementer) yaitu warna ungu dan warna yang diserap adalah warna hijau. Panjang gelombang pada spektrofotometri UV/Vis yang digunakan pada saat pengujian harus sesuai dengan serapan spektrum warnanya (Tabel 3).

Tabel 3. Serapan spektrum warna pada Spektrofotometri UV/Vis (Permatasari, 2015)

Warna	Warna Komplementer	Interval Panjang Gelombang
Violet	Kuning-hijau	400-435 nm
Biru	Kuning	435-480 nm
Hijau-biru	Orange	480-490 nm
Biru-hijau	Merah	490-500 nm
Hijau	Ungu	500-560 nm
Kuning-hijau	Violet	560-580 nm
Kuning	Biru	580-595 nm
Orange	Hijau-biru	595-610 nm
Merah	Biru-hijau	610-750 nm

3.4.6.1 Pembuatan Larutan DPPH

Larutan stok DPPH dibuat untuk pengujian aktivitas antioksidan pada daun dan kulit batang mangrove *S. caseolaris* dengan cara disiapkan serbuk DPPH sebanyak 17,73 mg yang kemudian dimasukkan ke dalam botol gelap dan ditambahkan pelarut yaitu metanol PA sebanyak 90 ml serta dihomogenkan secara perlahan sehingga diperoleh larutan stok DPPH dengan konsentrasi 0,5 mM sebanyak 90 ml (Kasitowati *et al.*, 2017).

3.4.6.2 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Daun dan Kulit Batang

Larutan stok ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* 1000 ppm dibuat dengan cara menambahkan sampel pada pelarut metanol PA dengan perbandingan sampel dan pelarut yaitu 1:1. Maka pada masing-masing ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dibutuhkan sebanyak 30 mg dalam 30 ml metanol, karena pada penelitian ini terdapat 3 perlakuan yaitu waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit sehingga pada masing-masing perlakuan terdapat larutan stok 10 mg ekstrak daun maupun kulit batang dalam 10 ml metanol. Larutan stok ekstrak daun dan kulit batang *S. casolaris* 1000 ppm

kemudian diencerkan menjadi 4 konsentrasi yang berbeda yaitu 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm dan 5 ppm. Bagan pembuatan larutan stok ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* sesuai dengan perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4 (Rastuti dan Purwati, 2012). Langkah selanjutnya adalah sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dan untuk pembanding. Nilai IC₅₀ dihitung pada masing-masing konsentrasi pada setiap perlakuan dengan menggunakan rumus persamaan regresi (Hanani *et al.*, 2005).

3.4.6.3 Pembuatan Larutan Stok Vitamin C

Larutan stok vitamin C 1000 ppm dibuat sebagai kontrol positif dengan cara menimbang bubuk asam askorbat dan dilarutkan dengan metanol dengan perbandingan vitamin C dan metanol adalah 1:1. Bubuk asam askorbat sebanyak 10 mg dipindahkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan metanol hingga volume mencapai 10 ml, kemudian diletakkan di dalam botol sebelum dilakukan uji sesuai dengan masing-masing perlakuan (Kasitowati *et al.*, 2017).

3.4.6.4 Pengenceran dan Pengujian Sampel

Pada Gambar 6 pengenceran sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm sesuai perlakuan lama waktu evaporasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Rustamaji (2017), bahwa pada konsentrasi 31,25 ppm ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* memiliki persentase inhibisi sebesar 86,95% - 88,37% yang tergolong dalam kategori sangat kuat. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Tingkat kekuatan antioksidan (Putri dan Hidajati, 2015)

Intensitas Antioksidan	Nilai LC ₅₀
Sangat kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
Lemah	250-500 ppm

Pengenceran sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* diambil dari larutan stok ekstrak 1000 ppm dan ditambahkan metanol sesuai dengan kebutuhan (Lampiran 1). Sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* yang telah diencerkan pada konsentrasi 5, 10, 20 dan 40 ppm ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 ml pada masing-masing perlakuan dan metanol PA hingga mencapai 3 ml kemudian dihomogenkan. Pada pengujian antioksidan sampel dibuat pengulangan sebanyak 3 kali ini bertujuan agar data yang dihasilkan lebih akurat (Akhmadi, 2012). Sebelum dilakukan pengujian harus dipersiapkan terlebih dahulu larutan blanko dengan mengambil larutan stok DPPH 0,05 mM sebanyak 1 ml lalu ditambahkan dengan pelarut metanol PA hingga mencapai 3 ml kemudian dihomogenkan. Sampel dan blanko diinkubasi pada suhu ruang dan gelap selama 30 menit. Pengujian dilakukan secara kualitatif, yaitu dengan melihat perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang berarti bahwa terdapat aktivitas antioksidan (Putri dan Hidajati, 2015), sedangkan untuk pengukuran sampel dan blanko secara kuantitatif yaitu dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Molyneux, 2004).

Pengenceran vitamin C diambil dari larutan stok asam askorbat 1000 ppm dan ditambahkan metanol sesuai dengan kebutuhan. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif dan sebagai pembanding pada konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm. Hal ini sesuai dengan penelitian Sapri *et al.*, (2013) mengenai aktivitas antioksidan pada tumbuhan Singgah Perempuan dengan pelarut metanol dihasilkan nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 7,655 ppm dan tergolong dalam

kategori sangat kuat. Larutan asam askorbat pada masing-masing konsentrasi diberikan perlakuan yang sama seperti sampel ekstrak daun dan kulit batang. Untuk konsentrasi 2 ppm maka diambil vitamin C dari larutan stok sebanyak 6 μ l, konsentrasi 4 ppm maka diambil vitamin C dari larutan stok sebanyak 12 μ l, konsentrasi 6 ppm maka diambil vitamin C dari larutan stok sebanyak 18 μ l dan konsentrasi 8 ppm maka diambil vitamin C dari larutan stok sebanyak 24 μ l. Selanjutnya untuk membuat larutan kontrol maka pada masing-masing tabung dengan 4 konsentrasi yang berbeda ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 ml dan pelarut metanol hingga mencapai 3 ml (Lampiran 1) (Putri *et al.*, 2013). Pada pengujian secara kualitatif diamati perubahan warnanya, sedangkan pengujian secara kuantitatif yaitu dengan dicatat nilai absorbansi melalui Spektrofotometri UV-Vis untuk mendapatkan persamaan regresi linear.

3.4.7 Perhitungan Nilai IC₅₀

Inhibitor Concentration 50 (IC₅₀) merupakan parameter kuantitatif yang dipakai untuk menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan suatu bahan. IC₅₀ diidentifikasi sebagai konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH atau yang mampu meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Nilai persentase inhibisi penghambatan diwakili oleh IC₅₀, kemudian hasil persentase inhibisi dimasukkan dalam persamaan regresi linier dengan persamaan $Y = a + bX$, dengan Y = persentase inhibisi, a = konstanta, X = konsentrasi (μ g/ml), b = koefisien variabel. Menurut Ridlo *et al.* (2017) aktivitas inhibisi dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Persentase Inhibisi} = \frac{(A - B)}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = absorbansi larutan DPPH (larutan kontrol/blanko)

B = absorbansi larutan DPPH + ekstrak (larutan sampel)

Dari nilai persentase inhibisi maka akan didapatkan regresi linear berupa $Y = a + bX$ yang akan digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} , sehingga persamaannya menjadi:

$$Y = a + bX,$$

$$50 = a + bX; \text{ dimana,}$$

$$X = \frac{50 - a}{b}$$

Harga X adalah IC_{50} dengan satuan $\mu\text{g/ml}$ (ppm). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan, semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Hasil pengamatan yang dilakukan diperoleh dengan dua cara yaitu pengamatan bersifat kualitatif dan kuantitatif. Setelah mendapatkan persentase inhibisi maka dibuat kurva antara konsentrasi (x) dan % penghambatan (y) dan didapatkan persamaan regresi linearnya serta tabel hasil uji aktivitas antioksidan (Papatungan *et al.*, 2017).

3.4.8 Analisis Data

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan analisis ragam (ANOVA). Analisis ANOVA sering digunakan pada penelitian eksperimen dimana terdapat beberapa perlakuan yang dapat menganalisis perbedaan rerata antar grup. Desain penelitian ini menggunakan model Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial, dengan faktor perlakuan yaitu lama waktu evaporasi. Lama waktu evaporasi terdiri dari tiga taraf, yaitu 40 menit, 50 menit dan 60 menit. Pada setiap perlakuan waktu evaporasi diujikan pada ekstrak daun dan kulit batang mangrove *S. caseolaris* dengan empat konsentrasi yang berbeda, yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm. Jenis sampel terdiri dari 2 jenis, yaitu daun *S.*

caseolaris dan kulit batang *S. caseolaris* (Tabel 5). Terdapat tiga perlakuan lama waktu evaporasi pada dua jenis sampel menggunakan empat konsentrasi dengan tiga kali ulangan sehingga didapat 72 unit percobaan. Data dianalisa dengan uji *Two Way ANOVA* dan jika salah satu perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap hasil aktivitas antioksidan maka dilanjutkan dengan uji BNT dengan selang kepercayaan 5%. Analisis data menggunakan software SPSS 16 (Purwaningsih *et al.*, 2013). Berdasarkan rumusan masalah dan kerangka pemikiran, maka hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

H₀₁ : Tidak terdapat pengaruh antara jenis sampel (daun dan kulit batang *Sonneratia caseolaris*) terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan.

H₀₂ : Tidak terdapat pengaruh antara konsentrasi uji yang digunakan terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan.

Tabel 5. Rancangan penelitian

Jenis sampel	Waktu Evaporasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Total	Rata-rata
			Ulangan				
			A	B	C		
D	P1	K1	DP1K1a	DP1K1b	DP1K1c		
		K2	DP1K2a	DP1K2b	DP1K2c		
		K3	DP1K3a	DP1K3b	DP1K3c		
		K4	DP1K4a	DP1K4b	DP1K4c		
	P2	K1	DP2K1a	DP2K1b	DP2K1c		
		K2	DP2K2a	DP2K2b	DP2K2c		
		K3	DP2K3a	DP2K3b	DP2K3c		
		K4	DP2K4a	DP2K4b	DP2K4c		
	P3	K1	DP3K1a	DP3K1b	DP3K1c		
		K2	DP3K2a	DP3K2b	DP3K2c		
		K3	DP3K3a	DP3K3b	DP3K3c		
		K4	DP3K4a	DP3K4b	DP3K4c		
B	P1	K1	BP1K1a	BP1K1b	BP1K1c		
		K2	BP1K2a	BP1K2b	BP1K2c		
		K3	BP1K3a	BP1K3b	BP1K3c		
		K4	BP1K4a	BP1K4b	BP1K4c		
	P2	K1	BP2K1a	BP2K1b	BP2K1c		
		K2	BP2K2a	BP2K2b	BP2K2c		
		K3	BP2K3a	BP2K3b	BP2K3c		
		K4	BP2K4a	BP2K4b	BP2K4c		
	P3	K1	BP3K1a	BP3K1b	BP3K1c		
		K2	BP3K2a	BP3K2b	BP3K2c		
		K3	BP3K3a	BP3K3b	BP3K3c		
		K4	BP3K4a	BP3K4b	BP3K4c		

Keterangan:

D : Daun	P1 : 60 menit	K1 : 5 ppm	a : ulangan ke-1
B : Kulit Batang	P2 : 50 menit	K2 : 10 ppm	b : ulangan ke-2
	P3 : 40 menit	K3 : 20 ppm	c : ulangan ke-3
		K4 : 40 ppm	



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstrak Daun dan Kulit Batang *S. caseolaris*

Proses ekstraksi merupakan suatu cara untuk memisahkan komponen aktif pada sampel daun dan kulit batang *Sonneratia caseolaris* dengan menggunakan bantuan metanol. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu maserasi 3x24 jam dengan perbandingan berat sampel dan metanol adalah 1:3. Rangkaian proses ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil filtrat maserasi digabungkan dan diuapkan menggunakan *Vacuum Rotary Evaporator* pada suhu 44°C. Penguapan atau evaporasi digunakan untuk mendapatkan ekstrak/konsentrat berupa larutan pekat dengan perlakuan lama waktu evaporasi selama 40 menit, 50 menit dan 60 menit sehingga ekstrak yang dihasilkan memiliki berat bobot yang berbeda-beda. Bobot hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 6. Bobot ekstrak digunakan untuk menghitung nilai rendemen pada masing-masing sampel. Hasil ekstrak dengan lama waktu evaporasi 40 menit 50 menit dan 60 menit memiliki warna yang pekat. Pada daun *S. caseolaris* berwarna hijau kehitaman, sedangkan hasil ekstrak kulit batang *S. caseolaris* berwarna coklat kehitaman. Pada lama waktu evaporasi 60 menit ekstrak yang dihasilkan lebih pekat dan lebih sedikit dibandingkan 40 menit dan 50 menit. Hal ini dikarenakan ekstrak pada waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit masih terkandung metanol yang lebih banyak dibandingkan dengan waktu evaporasi 60 menit. Hasil ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* pada perlakuan lama waktu evaporasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil ekstrak lama waktu evaporasi 40 menit (a), 50 menit (b) dan 60 menit (c) pada daun (1) dan kulit batang (2) *S. caseolaris*

Hasil akhir proses ekstraksi dengan menggunakan metanol adalah rendemen ekstrak, dimana rendemen ekstrak digunakan untuk mengetahui nilai komponen senyawa kimia aktif yang dapat terekstraksi oleh pelarut. Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat sampel yang digunakan) kemudian dikali 100%. Faktor yang mempengaruhi rendemen ekstrak adalah metode ekstraksi dan jenis pelarut. Perhitungan rendemen secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil rendemen ekstrak pada daun dan kulit batang *S. caseolaris* pada perlakuan lama waktu evaporasi tersaji pada Tabel 6.

Tabel 6. Rendemen ekstrak

No.	Lama Waktu Evaporasi	Ekstrak Sampel Daun	Ekstrak Sampel Kulit Batang	Rendemen Ekstrak Daun (%)	Rendemen Ekstrak Kulit Batang (%)
1.	40 menit	118 gram	103 gram	59%	51,5%
2.	50 menit	96 gram	72 gram	48%	36%
3.	60 menit	53 gram	47 gram	26,5%	23,5%

Berdasarkan hasil pada Tabel 6 maka dapat diketahui bahwa perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* menghasilkan ekstrak rendemen yang lebih tinggi daripada lama waktu evaporasi 50 menit dan 60 menit. Ekstrak rendemen pada masing-masing lama waktu evaporasi masih mengandung pelarut metanol dengan kadar yang berbeda-beda, pernyataan ini didukung oleh Joharman (2006), semakin lama proses evaporasi maka nilai rendemen ekstrak senyawa semakin rendah, karena semakin banyak pelarut yang teruapkan.

Hasil ekstrak rendemen ekstrak daun *S. caseolaris* lebih besar daripada kulit batang. Berdasarkan penelitian Diniatik *et al.* (2016), rendemen daun lebih besar daripada rendemen kulit batang (29,86% dan 7,80%) sehingga pelarut metanol lebih efektif dalam mengikat komponen senyawa bioaktif pada daun *S. caseolaris* daripada kulit batang *S. caseolaris*. Menurut Senja *et al.* (2014), setiap pelarut memiliki kepolaran yang berbeda-beda sehingga akan mempengaruhi banyaknya senyawa aktif yang terlarut dalam proses ekstraksi. Hal ini dibenarkan oleh Sayuti (2017), dimana senyawa bioaktif yang terkandung di dalam daun dan kulit batang *S. caseolaris* lebih bersifat polar, karena pelarut metanol merupakan pelarut yang bersifat polar, sedangkan menurut Firdiyani *et al.* (2015) semakin besar persen rendemen yang dihasilkan, maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan pada ekstraksi. Rendemen terbesar diperoleh dari ekstrak polar, dimana pelarut yang bersifat polar memiliki kemampuan mengekstrak senyawa dari kisaran senyawa polar hingga semi polar.

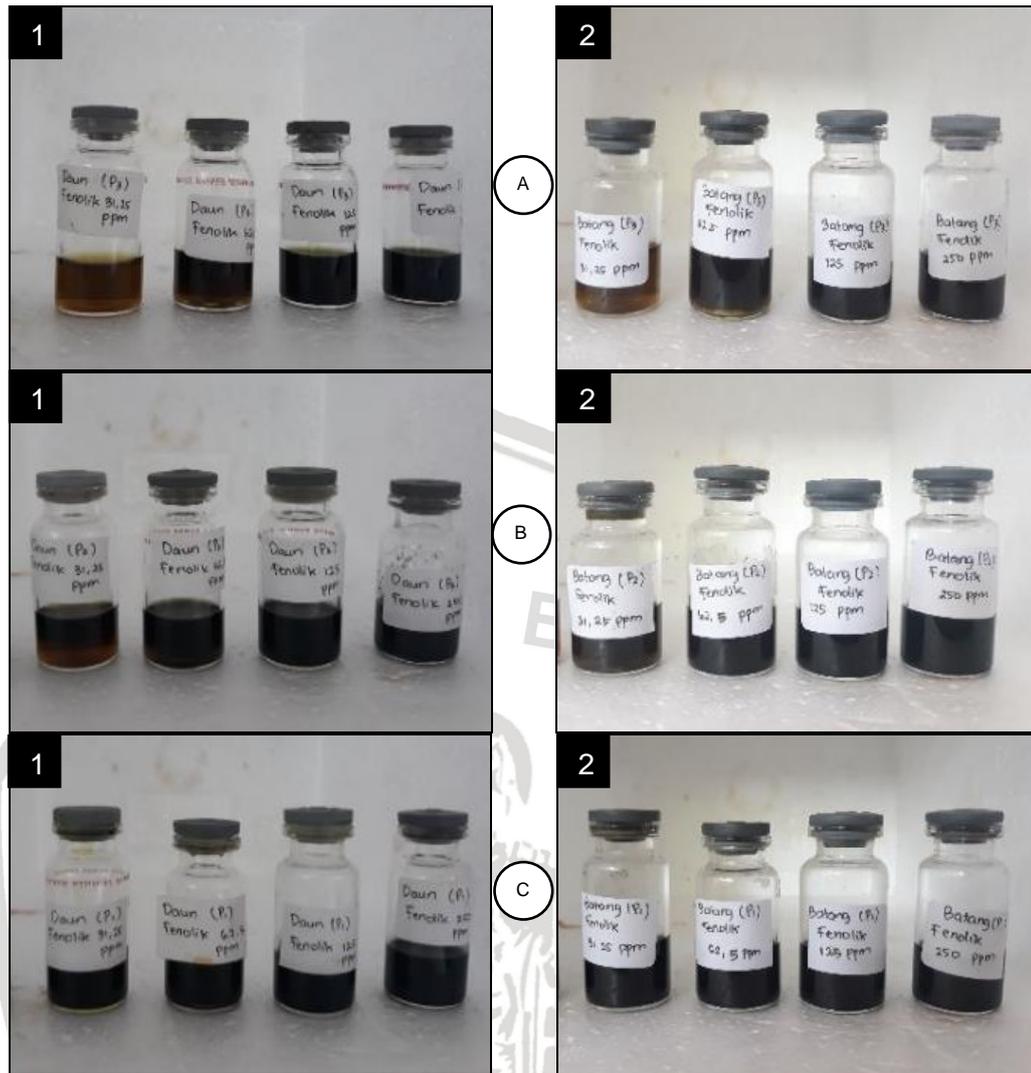
4.2 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris*. Golongan senyawa yang diuji pada penelitian ini adalah fenol dan

steroid/terpenoid. Pada setiap pengujian golongan senyawa menggunakan pereaksi yang berbeda-beda sehingga hasil yang ditimbulkan juga berbeda-beda. Analisa fitokimia pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Indikator positif secara kualitatif yaitu melalui visual berupa perubahan warna, sedangkan secara kuantitatif yaitu melalui pengukuran nilai absorbansi pada Spektrofotometri UV/Vis. Penentuan konsentrasi yang digunakan berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan oleh Rustamaji (2017) sehingga mampu mewakili konsentrasi sangat lemah, lemah, kuat dan sangat kuat (250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm dan 31,25 ppm).

4.2.1 Hasil Uji Fenol

Pengujian senyawa fenol pada masing-masing ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit berdasarkan uji kualitatif (Gambar 8) dan kuantitatif. Uji senyawa fenol secara kualitatif dapat dikatakan positif mengandung senyawa fenol apabila terbentuk warna hijau kecoklatan, hitam kebiruan atau hitam yang kuat (Putri dan Hidajati, 2015). Pelarut metanol bersifat polar sehingga mampu mengikat senyawa fenol. Hal ini didukung oleh pernyataan Illing *et al.* (2017), senyawa polar akan larut dengan baik pada fase polar dan senyawa nonpolar akan larut dengan baik pada fase nonpolar. Pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* menunjukkan perubahan warna menjadi hitam setelah ditetesi pereaksi FeCl 5% sehingga pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* positif mengandung senyawa fenol. Pengujian senyawa fenol secara kualitatif dengan perlakuan lama waktu evaporasi tidak menunjukkan hasil yang berbeda, perubahan warna pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* yaitu dari warna hijau kecoklatan hingga warna hitam kuat sehingga daun dan kulit batang *S. caseolaris* positif mengandung senyawa fenol.

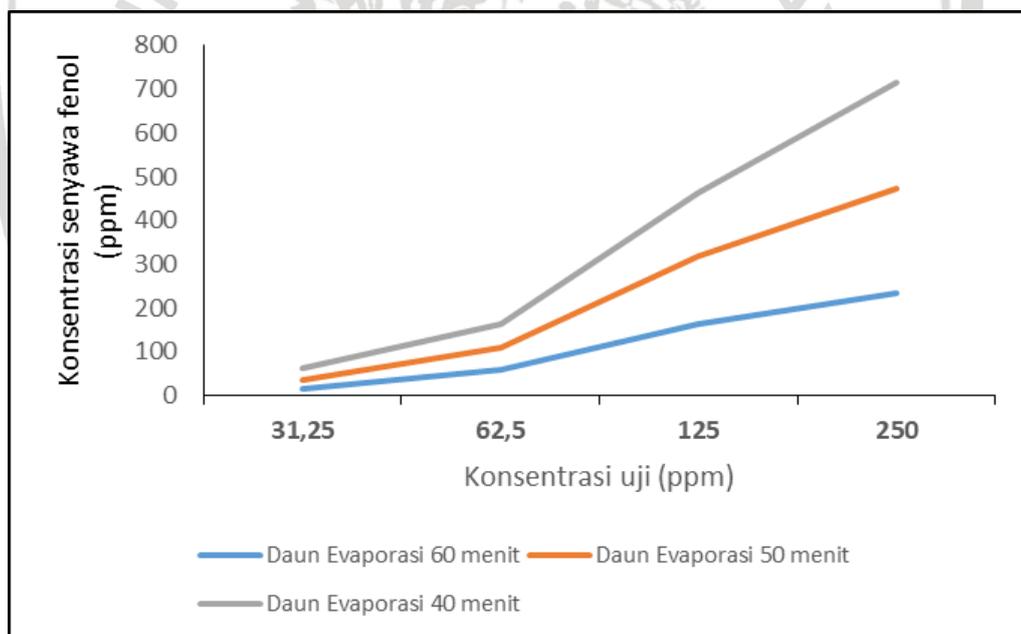


Gambar 8. Hasil uji kualitatif senyawa fenol pada daun (1) dan kulit batang (2) (A: 40 menit, B: 50 menit dan C: 60 menit. Tabung dari kiri ke kanan pada masing-masing gambar adalah konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm dan 250 ppm)

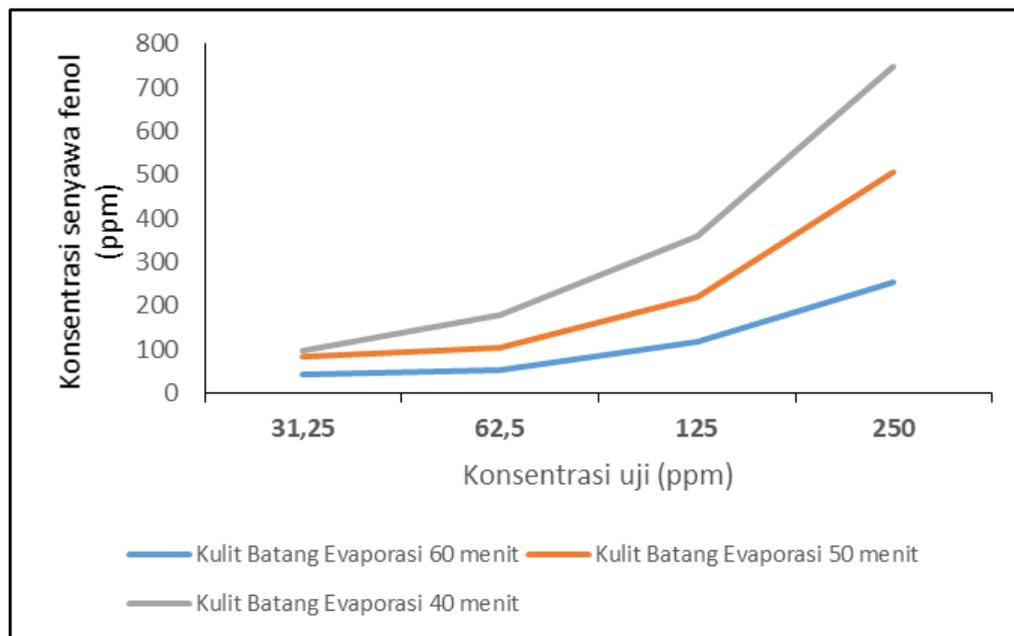
Berdasarkan Gambar 8, dapat dilihat bahwa semakin lama waktu evaporasi maka warna ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* setelah diberi pereaksi akan semakin pekat. Menurut Aji *et al.* (2013) hal ini disebabkan oleh semakin rendahnya kandungan pelarut dan air yang terdapat dalam zat tersebut. Begitu juga pada konsentrasi yang semakin tinggi maka perubahan warna yang dihasilkan akan semakin pekat. Faktor lain yang menyebabkan ekstrak berwarna hitam kuat adalah lama waktu penyimpanan ekstrak hasil evaporasi, dimana apabila ekstrak hasil evaporasi disimpan terlalu lama maka zat warna akan

semakin menghilang dan yang ada hanya getah yang menyebabkan warna menjadi semakin pekat.

Pengujian kuantitatif senyawa fenol pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi dilakukan pada konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm dan 250 ppm. Tujuan dari pengujian tersebut adalah untuk mendapatkan nilai absorbansi pada setiap konsentrasi uji (Lampiran 3), yang kemudian dari grafik regresi linear kurva standar (Lampiran 4) ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* akan menghasilkan nilai konsentrasi senyawa fenol (Lampiran 5). Hasil uji kuantitatif senyawa fenol dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit pada ekstrak daun *S. caseolaris* disajikan pada Gambar 9, sedangkan pada kulit batang *S. caseolaris* disajikan pada Gambar 10.



Gambar 9. Hasil uji kuantitatif senyawa fenol pada ekstrak daun *S. caseolaris*



Gambar 10. Hasil uji kuantitatif senyawa fenol pada ekstrak kulit batang *S. caseolaris*

Berdasarkan Gambar 9 dan 10 dapat dilihat bahwa pada setiap kenaikan konsentrasi uji diiringi dengan kenaikan konsentrasi senyawa fenol sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi uji yang digunakan berbanding lurus terhadap hasil pengujian kandungan senyawa fenol pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* (Lampiran 5). Pada gambar 9 ekstrak daun *S. caseolaris*, konsentrasi senyawa fenol pada lama waktu evaporasi 40 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 27,145 ppm dan 242,29 ppm, pada lama waktu evaporasi 50 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 21,688 ppm dan 238,563 ppm serta pada lama waktu evaporasi 60 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 14,888 ppm dan 235,262 ppm. Pada gambar 10 ekstrak kulit batang *S. caseolaris*, konsentrasi senyawa fenol pada lama waktu evaporasi 40 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 11,556 ppm dan 243,778 ppm, pada lama waktu evaporasi 50 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 40,532 ppm dan 251,755 ppm serta pada

lama waktu evaporasi 60 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 43,580 ppm dan 254,191 ppm. Grafik konsentrasi senyawa fenol dengan lama waktu evaporasi 60 menit lebih tinggi daripada lama waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit. Setiap bahan uji memiliki batas optimum apabila waktu evaporasi melampaui batas optimum, maka dapat mengakibatkan penurunan kandungan senyawa fitokimia dalam bahan uji (Joharman, 2006).

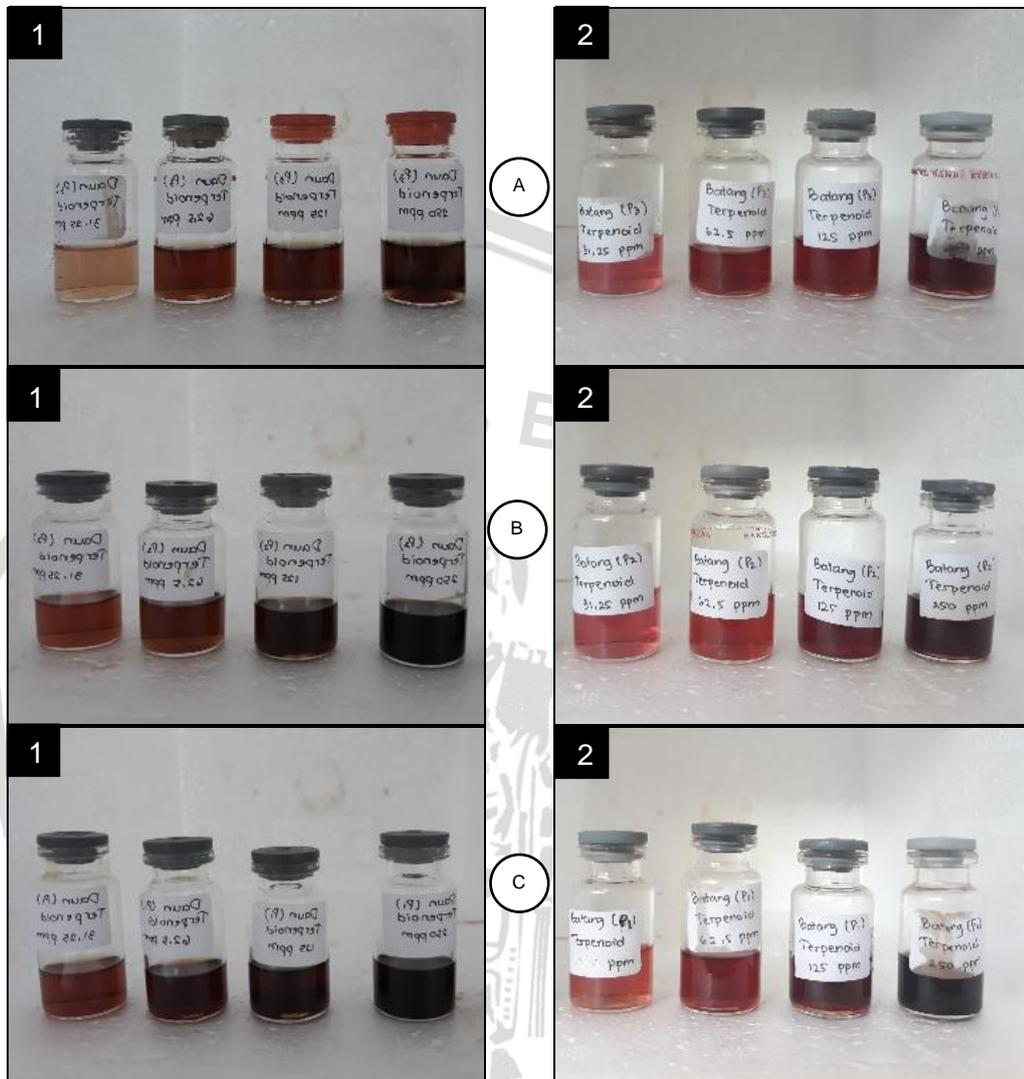
Menurut Firdiyani *et al.* (2015) waktu evaporasi termasuk faktor penting dalam pembentukan ekstrak hasil evaporasi sehingga akan mempengaruhi kualitas hasil pengujian senyawa fenol. Proses evaporasi yang terlalu lama dapat mengakibatkan terjadinya degradasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel sehingga dikhawatirkan senyawa fenol dalam ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* akan rusak jika terlalu lama.

4.2.2 Hasil Uji Steroid/Terpenoid

Pengujian senyawa steroid/terpenoid secara kualitatif pada masing-masing ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit dapat dilihat dari perubahan warna setelah ditetesi pereaksi Chloroform, asam asetat dan H₂SO₄. Hasil uji senyawa fitokimia steroid/terpenoid secara kualitatif dapat dilihat pada Gambar 11.

Hasil pengujian secara kualitatif senyawa steroid/terpenoid pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi, setelah ditetesi menggunakan Chloroform, asam asetat dan H₂SO₄ menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan, hal ini sesuai dengan penelitian Danata dan Yamindago (2014), ekstrak dikatakan positif terdapat senyawa terpenoid apabila mengalami perubahan warna menjadi merah kecoklatan setelah ditetesi pereaksi. Ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris*

pada perlakuan lama waktu evaporasi menunjukkan hasil negatif pada uji fitokimia golongan steroid, karena pada uji kualitatif sampel tidak mengalami perubahan warna menjadi biru keunguan.

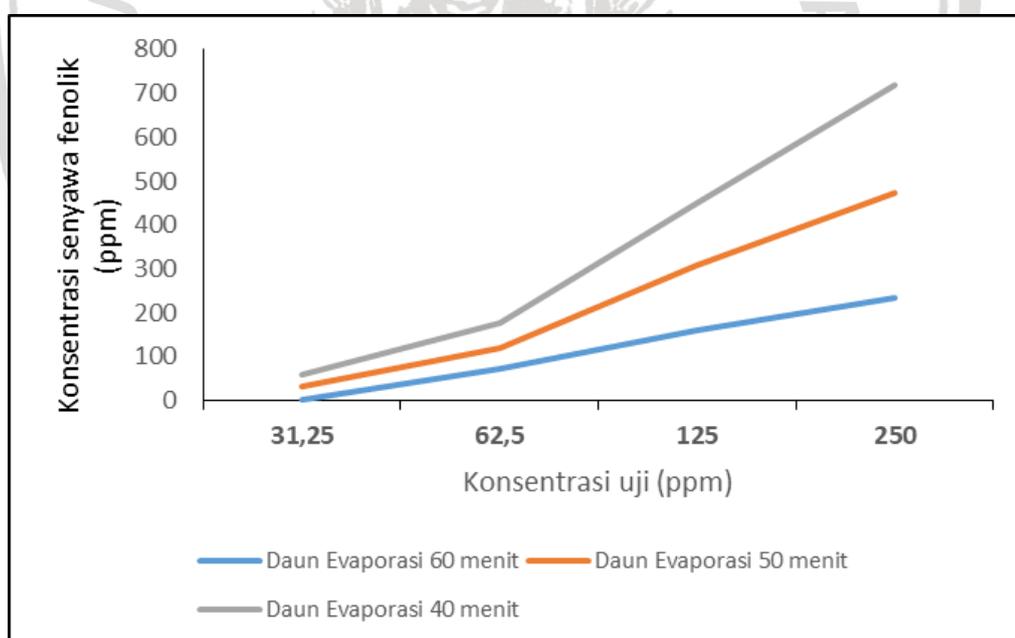


Gambar 11. Hasil uji kualitatif senyawa terpenoid pada daun (1) dan kulit batang (2) (A: 40 menit, B: 50 menit dan C: 60 menit. Tabung dari kiri ke kanan pada masing-masing gambar adalah konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm dan 250 ppm)

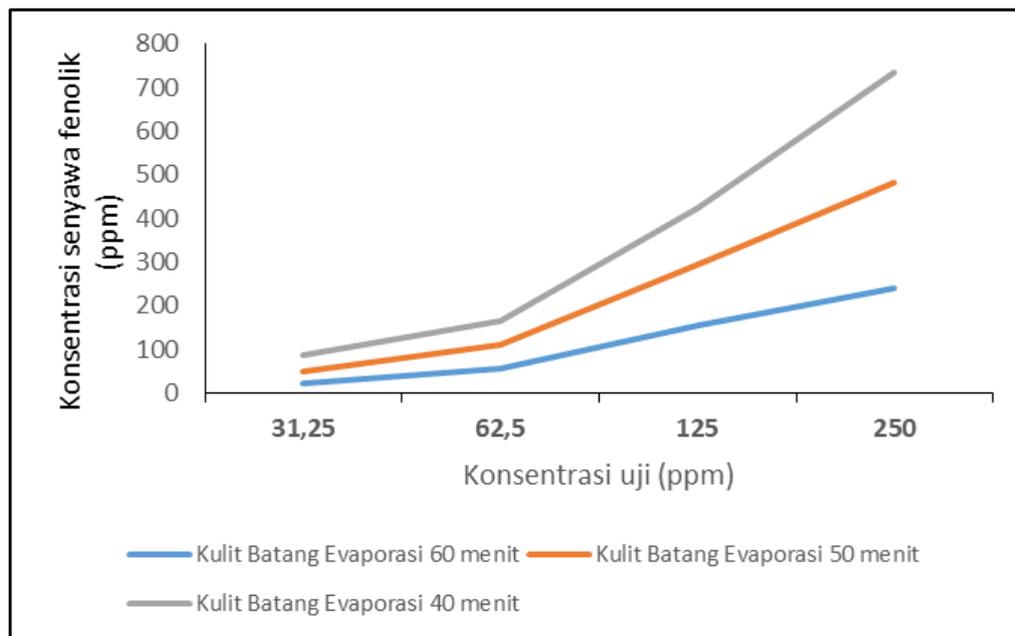
Berdasarkan Gambar 11, dapat dilihat bahwa semakin lama waktu evaporasi maka warna ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* setelah diberi pereaksi akan semakin pekat. Menurut Aji *et al.* (2013) hal ini disebabkan oleh semakin rendahnya kandungan pelarut dan air yang terdapat dalam zat tersebut.

Begitu juga pada konsentrasi yang semakin tinggi maka perubahan warna yang dihasilkan akan semakin pekat.

Berdasarkan pengujian secara kualitatif ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi, hasil menunjukkan positif terdapat senyawa terpenoid sehingga dilakukan pengujian secara kuantitatif pada konsentrasi 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm dan 250 ppm. Tujuan dari pengujian tersebut adalah untuk mendapatkan nilai absorbansi pada setiap konsentrasi uji (Lampiran 3), yang kemudian dari grafik regresi linear kurva standar (Lampiran 6) ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* akan menghasilkan nilai konsentrasi senyawa terpenoid (Lampiran 7). Hasil uji kuantitatif senyawa terpenoid dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit.pada ekstrak daun *S. caseolaris* disajikan pada Gambar 12, sedangkan pada kulit batang *S. caseolaris* disajikan pada Gambar 13.



Gambar 12. Hasil uji kuantitatif senyawa terpenoid pada ekstrak daun *S. caseolaris*



Gambar 13. Hasil uji kuantitatif senyawa terpenoid pada ekstrak kulit batang *S. caseolaris*

Pada Gambar 12 dan 13 dapat dilihat bahwa pada setiap kenaikan konsentrasi uji diiringi dengan kenaikan konsentrasi senyawa terpenoid. Seperti halnya pada konsentrasi senyawa fenol, konsentrasi senyawa terpenoid berbanding lurus terhadap hasil pengujian kandungan senyawa terpenoid pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* (Lampiran 7). Pada gambar 12 ekstrak daun *S. caseolaris*, konsentrasi senyawa terpenoid pada lama waktu evaporasi 40 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 26,895 ppm dan 243,291 ppm, pada lama waktu evaporasi 50 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 30,117 ppm dan 240,981 ppm serta pada lama waktu evaporasi 60 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 2,206 ppm dan 233,476 ppm. Pada gambar 13 ekstrak kulit batang *S. caseolaris*, konsentrasi senyawa terpenoid pada lama waktu evaporasi 40 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 36,1 ppm dan 250,1 ppm, pada lama waktu evaporasi 50 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 28,902

ppm dan 244,663 ppm serta pada lama waktu evaporasi 60 menit dengan konsentrasi uji 31,25 ppm dan 250 ppm adalah sebesar 20,728 ppm dan 239,098 ppm. Grafik konsentrasi senyawa terpenoid dengan lama waktu evaporasi 60 menit lebih tinggi daripada lama waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit. Hal ini dikarenakan pada setiap bahan uji memiliki batas optimum, apabila waktu evaporasi melampaui batas optimum, maka dapat mengakibatkan penurunan kandungan senyawa fitokimia dalam bahan uji (Joharman, 2006).

Kualitas hasil pengujian senyawa terpenoid salah satunya dipengaruhi oleh pembentukan ekstrak hasil evaporasi. Jika proses evaporasi terlalu lama dapat mengakibatkan terjadinya degradasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel sehingga dikhawatirkan senyawa terpenoid dalam ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* akan mengalami kerusakan (Firdiyani *et al.*, 2015).

4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

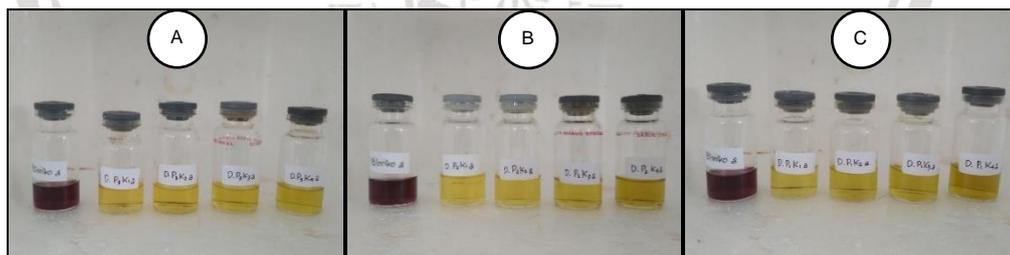
Antioksidan merupakan substansi yang digunakan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan (Christijanti *et al.*, 2010). Antioksidan mampu menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh penyebab penyakit karsinogenik, kardiovaskuler ataupun penuaan dini. Antioksidan dibutuhkan karena tubuh manusia tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang berlebihan sehingga apabila terjadi paparan radikal bebas berlebihan, maka tubuh akan membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar seperti asupan makanan atau vitamin (Waji dan Sugrani, 2009).

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ekstrak metanol daun dan kulit batang *S. caseolaris* ditentukan dengan metode Rustamaji (2017) dan modifikasi pada perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit serta konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm. Indikator positif ditandai dengan berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning, dengan

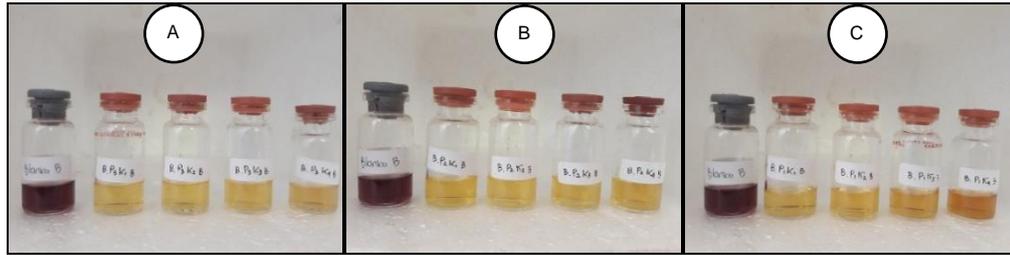
warna awal larutan DPPH adalah ungu gelap. Kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* adalah asam askorbat (vitamin C). Pada pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Hasil uji secara kualitatif diperoleh dari pengamatan perubahan warna, sedangkan hasil uji secara kuantitatif didapatkan dari nilai absorbansi yang diukur menggunakan Spektrofotometer UV/Vis pada masing-masing konsentrasi untuk setiap perlakuan lama waktu evaporasi sehingga diperoleh persentase inhibisi dan nilai IC₅₀ pada masing-masing perlakuan.

4.3.1 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif

Pada pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dapat dilakukan dengan cara melihat adanya perubahan warna pada sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris*. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif pada *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit untuk sampel daun dapat dilihat pada Gambar 14 dan sampel kulit batang pada Gambar 15, sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 14. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif pada sampel daun *Sonneraria caseolaris* (A: 40 menit, B: 50 menit dan C: 60 menit. Tabung dari kiri ke kanan pada masing-masing gambar adalah blanko sampel dan hasil uji aktivitas antioksidan dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm)



Gambar 15. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif pada sampel kulit batang *Sonneraria caseolaris* (A: 40 menit, B: 50 menit dan C: 60 menit. Tabung dari kiri ke kanan pada masing-masing gambar adalah blanko sampel dan hasil uji aktivitas antioksidan dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm)



Gambar 16. Hasil uji kualitatif antioksidan asam askorbat

Berdasarkan Gambar 14, 15 dan 16 dari hasil uji secara kualitatif dapat diketahui bahwa penambahan DPPH 0,5 mM sebanyak 1 ml mampu menghasilkan reaksi yang berbeda pada setiap konsentrasi larutan ekstrak. Sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap agar tidak terkena sinar ultraviolet yang dapat menyebabkan kerusakan pada sampel. Setelah diinkubasi sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Hal ini didukung oleh pernyataan Kusyana (2014) bahwa adanya perubahan warna pada sampel yang diberi larutan DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm dan 20 ppm perubahan warna kuning terlihat lebih pudar dibandingkan pada konsentrasi 40 ppm yang terlihat kuning pekat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widyasanti (2016), semakin tinggi konsentrasi uji yang digunakan, maka semakin tinggi pula nilai persentase inhibisinya. Ketika jumlah

sampel yang digunakan semakin banyak, maka semakin tinggi pula kandungan antioksidannya sehingga mampu meningkatkan proses penghambatan radikal bebas, sedangkan menurut Aji *et al.* (2013) semakin tinggi konsentrasi uji yang digunakan maka semakin rendah kadar pelarut yang terkandung dalam ekstrak tersebut sehingga warna yang dihasilkan akan semakin pekat.

Pengujian aktivitas antioksidan pada daun dan kulit batang *S. caseolaris* menandakan bahwa terdapat reaksi antara senyawa antioksidan yang mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas yaitu larutan DPPH 0,05 mM. Berdasarkan perubahan warna yang terjadi maka ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit pada seluruh konsentrasi, positif memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Pada Gambar 14 dan 15, dapat dilihat berdasarkan perubahan warna yang terjadi bahwa semakin lama waktu evaporasi pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* warna yang dihasilkan akan semakin pekat. Menurut Aji *et al.* (2013) hal ini disebabkan oleh semakin rendahnya kandungan pelarut dan air yang terdapat dalam zat tersebut setelah proses evaporasi. Pernyataan tersebut didukung oleh Joharman (2006), bahwa semakin lama proses evaporasi maka semakin tinggi kekentalan ekstrak yang dihasilkan sehingga menyebabkan warna ekstrak semakin pekat.

Vitamin C atau asam askorbat adalah antioksidan yang larut dalam air. Vitamin C merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam sel. Sifat yang paling utama dari vitamin C adalah kemampuan mereduksi yang kuat (Purwoko *et al.*, 2017). Hasil uji antioksidan asam askorbat secara kualitatif pada konsentrasi 2 ppm dan 4 ppm berwarna ungu yang lebih pudar dibandingkan dengan warna larutan blanko, sedangkan pada konsentrasi 6 ppm dan 8 ppm perubahan warna menjadi kuning (Gambar 16), hal ini berarti pada konsentrasi tersebut terdapat aktivitas antioksidan. Tidak

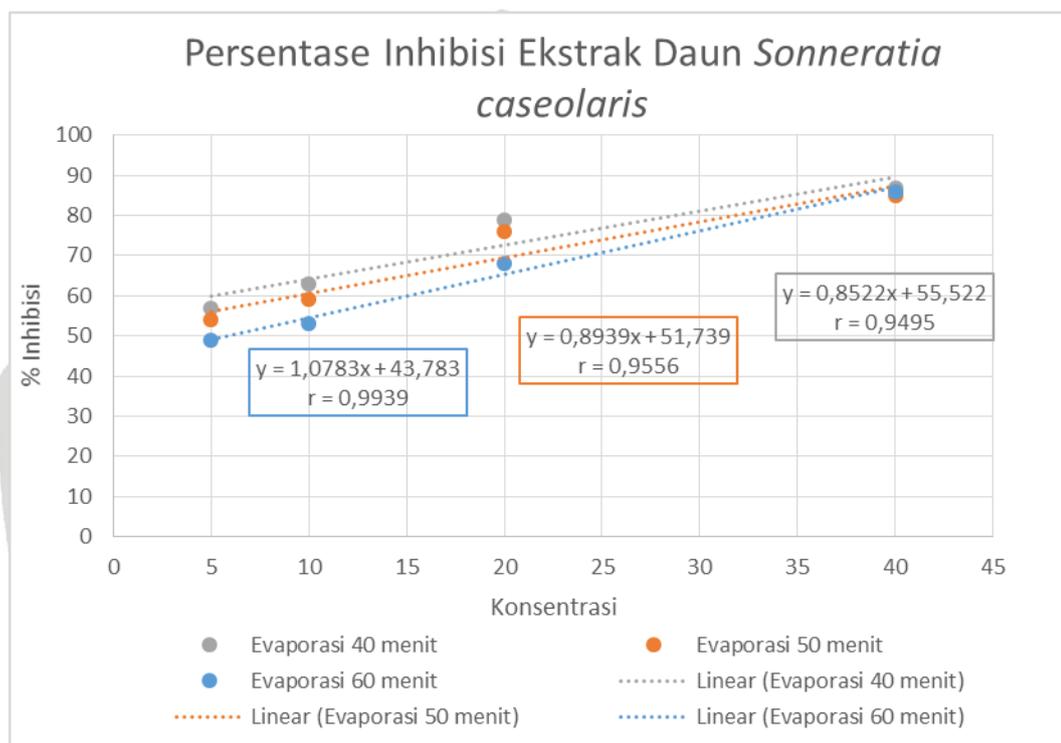
terjadinya perubahan warna kuning secara sempurna atau lemahnya aktivitas antioksidan diduga karena kecilnya konsentrasi uji yang digunakan untuk meredam radikal DPPH sebanyak 50%.

4.3.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif

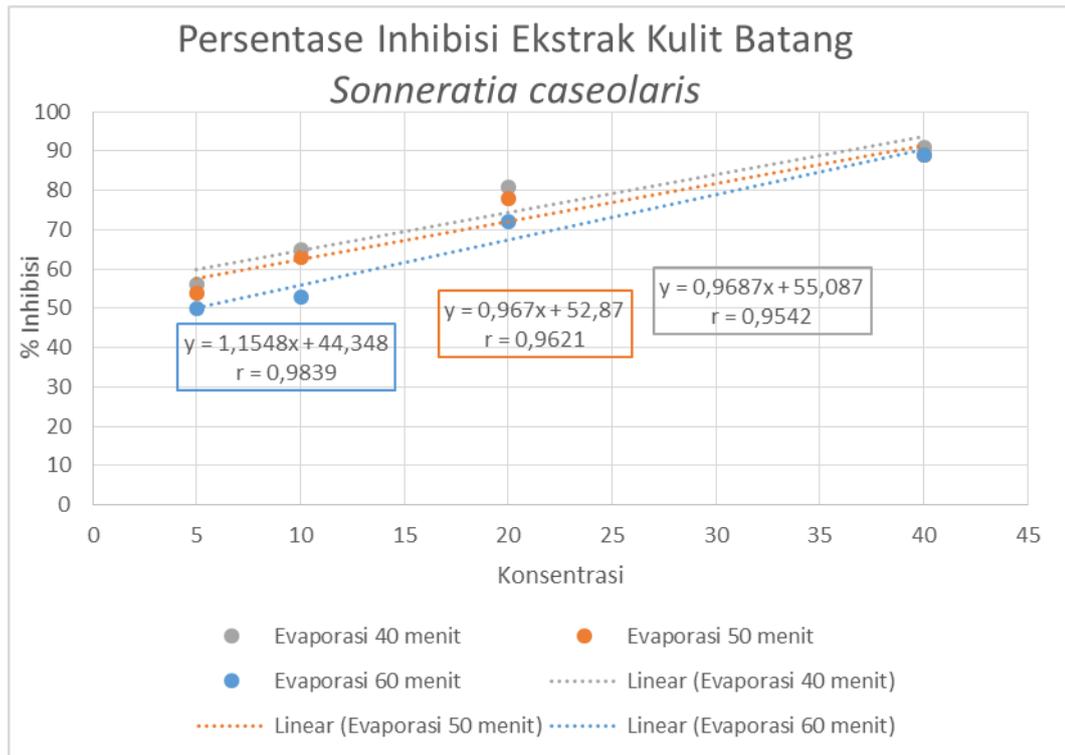
Pada pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dapat dilakukan setelah dilihat perubahan warna ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit. Pengujian tersebut dilakukan dengan cara pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan Spektrofotometri UV/Vis pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimal untuk serapan warna DPPH (Da'i *et al.*, 2011). Uji kuantitatif bertujuan untuk mengetahui nilai persentase inhibisi dan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proses oksidasi (IC_{50}).

Absorbansi pertama merupakan blanko DPPH yang berisi 3 ml metanol dan 1 ml larutan DPPH 0,5 mM. Pada penelitian ini didapatkan rata-rata nilai absorbansi blanko sebesar 0,88. Nilai blanko DPPH berfungsi untuk menghitung persentase inhibisi sampel. Nilai absorbansi diukur pada masing-masing konsentrasi pada setiap sampel dengan perlakuan lama waktu evaporasi. Kemudian nilai blanko dan nilai absorbansi dimasukkan ke dalam perhitungan untuk memperoleh persentase inhibisi masing-masing konsentrasi pada setiap sampel dan perlakuan (Lampiran 8). Persentase inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Persentase inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas (Ghozaly dan Safitri, 2016). Dari persentase inhibisi dapat diketahui persamaan regresi linear antara konsentrasi sampel (simbol X) terhadap aktivitas antioksidan (simbol Y) untuk menghitung nilai IC_{50} , pada konsentrasi dimana sampel dapat menangkap

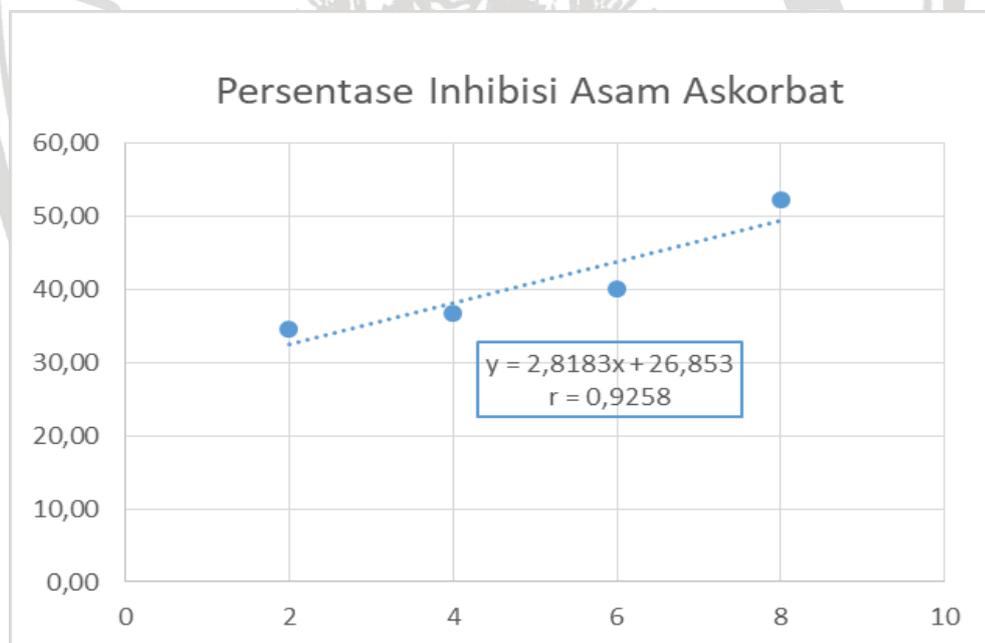
radikal bebas sebesar 50%. Perhitungan IC_{50} ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dapat dilihat pada Lampiran 9 dan 10). Grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan nilai inhibisi daun dan kulit batang *S. caseolaris* pada lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit dapat dilihat pada Gambar 17 dan 18 serta grafik hubungan antara konsentrasi dengan nilai inhibisi asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 17. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi daun *S. caseolaris*



Gambar 18. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi kulit batang *S. caseolaris*



Gambar 19. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi vitamin C

Berdasarkan Gambar 17 dan 18 grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi dapat diketahui koefisien korelasi (r) pada

ekstrak daun *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit ($r=0,9495$), 50 menit ($r=0,9556$) dan 60 menit ($r=0,9939$) memiliki nilai mendekati 1 dan juga kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit ($r=0,9542$), 50 menit ($r=0,9621$) dan 60 menit ($r=0,9839$) memiliki nilai mendekati 1. Menurut Widayanti (2014) koefisien korelasi yang mendekati 1 menunjukkan tingkat hubungan antar variabel tergolong sangat kuat sehingga dapat disimpulkan bahwa persentase inhibisi (Y) memiliki korelasi yang sangat kuat terhadap konsentrasi ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* (X), sedangkan pada Gambar 19 grafik hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi asam askorbat dapat diketahui koefisien korelasi (r) mendekati 1 sehingga kesimpulan sama yaitu persentase inhibisi (Y) memiliki korelasi yang sangat kuat terhadap konsentrasi asam askorbat (X). Untuk menghitung konsentrasi ekstrak daun, kulit batang *S. caseolaris* dan asam askorbat (X) yaitu dengan mengganti nilai Y pada persamaan regresi linear menjadi 50 sehingga didapatkan nilai X yaitu nilai IC_{50} dalam satuan ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* secara kuantitatif pada perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit, 50 menit dan 60 menit serta hasil uji aktivitas antioksidan kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 7.

Apabila nilai IC_{50} sampel uji <1000 ppm maka sampel tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan, jika nilai intensitas antioksidan <50 ppm maka zat tersebut berpotensi sebagai zat antioksidan yang tergolong kuat (Putri dan Hidajati, 2015). Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin kuat, karena konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas semakin rendah (Kasitowati *et al.*, 2017). Berdasarkan Tabel 7 nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan persentase inhibisi suatu sampel. Semakin rendah nilai IC_{50} suatu sampel, maka persentase inhibisi sampel akan semakin tinggi, hal ini berarti sampel tersebut menunjukkan

aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena panjang gelombang Spektrofotometri diatur pada panjang gelombang maksimal untuk mengukur absorbansi warna DPPH (ungu) (Amanah dan Aznam, 2016).

Tabel 7. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* secara kuantitatif

Sampel	Perlakuan		Absorbansi rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
	Waktu Evaporasi	Konsentrasi (ppm)			
Daun <i>S. caseolaris</i>	40 menit	5	0,376	57,273	-6,480
		10	0,328	62,765	
		20	0,183	79,167	
		40	0,117	86,667	
	50 menit	5	0,403	54,242	-1,945
		10	0,361	58,927	
		20	0,213	75,758	
		40	0,135	84,697	
	60 menit	5	0,446	49,264	5,766
		10	0,411	53,317	
		20	0,274	68,826	
		40	0,120	86,364	
Kulit Batang <i>S. caseolaris</i>	40 menit	5	0,385	56,212	-5,251
		10	0,306	65,209	
		20	0,165	81,250	
		40	0,076	91,364	
	50 menit	5	0,407	53,765	-2,968
		10	0,326	62,955	
		20	0,194	77,955	
		40	0,095	89,205	
	60 menit	5	0,439	50,125	4,894
		10	0,411	53,351	
		20	0,249	71,667	
		40	0,100	88,598	
Vitamin C	-	2	0,992	34,528	8,213
		4	0,957	36,859	
		6	0,907	40,180	
		8	0,724	52,210	

Persentase inhibisi pada ekstrak daun, kulit batang *S. caseolaris* menunjukkan peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi sehingga

menghasilkan hubungan yang berbanding lurus antara konsentrasi dengan persentase inhibisi. Ketika konsentrasi semakin meningkat maka persentase inhibisi juga akan semakin naik. Pernyataan ini didukung oleh Mardawati *et al.* (2008), semakin banyak sampel maka kandungan antioksidan akan semakin tinggi sehingga berdampak pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Hasil uji berdasarkan Tabel 7 menunjukkan bahwa pada ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 60 menit masing-masing jenis sampel menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 5,766 ppm dan 4,894 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Nilai tersebut tidak berbeda jauh dengan nilai kontrol positif yaitu sebesar 8,213 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Putri dan Hidajati (2015), intensitas antioksidan tergolong sangat kuat apabila nilai IC_{50} di bawah 50 ppm. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan antioksidan, semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin tinggi kemampuan untuk menghambat radikal bebas (Ulfa *et al.*, 2014), sedangkan pada perlakuan lama waktu evaporasi 50 menit ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* masing-masing menghasilkan nilai IC_{50} negatif yaitu sebesar -1,945 ppm dan -2,968 ppm. Pada perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* masing-masing juga menghasilkan nilai IC_{50} negatif yaitu sebesar -6,480 dan -5,251. Hasil klasifikasi sifat antioksidan berdasarkan data di atas terdapat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil klasifikasi sifat antioksidan daun dan kulit batang *S. caseolaris*

Perlakuan Waktu Evaporasi	Sampel	Nilai IC_{50}	Nilai Standar (Putri dan Hidajati, 2015)	Keterangan
40 menit	Daun <i>S. caseolaris</i>	-6,480	-	Tidak terdefinisi
	Kulit batang <i>S. caseolaris</i>	-5,251	-	Tidak terdefinisi

Tabel 8. Lanjutan

Perlakuan Waktu Evaporasi	Sampel	Nilai IC ₅₀	Nilai Standar (Putri dan Hidajati, 2015)	Keterangan
50 menit	Daun <i>S. caseolaris</i>	-1,945	-	Tidak terdefinisi
	Kulit batang <i>S. caseolaris</i>	-2,968	-	Tidak terdefinisi
60 menit	Daun <i>S. caseolaris</i>	5,766	<50 ppm	Sangat kuat
	Kulit batang <i>S. caseolaris</i>	4,894		Sangat kuat

Pada Tabel 8 perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit diperoleh hasil IC₅₀ yang negatif. Nilai tersebut dapat diartikan terdapat aktivitas antioksidan namun tidak dapat terdefinisikan. Hal ini diduga karena aktivitas antioksidan yang tinggi pada konsentrasi tertentu sehingga Spektrofotometri UV/Vis tidak dapat mendeteksi nilai absorbansi. Selain itu konsentrasi larutan yang digunakan pada lama waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit terlalu besar, hal ini sesuai dengan pernyataan Herawati (2011), bahwa peningkatan aktivitas antioksidan seiring bertambahnya konsentrasi pada kulit batang *Sonneratia alba* setelah melewati konsentrasi 5-20 µg/ml hasilnya tidak signifikan. Perbedaan hasil pada lama waktu evaporasi tersebut disebabkan oleh jumlah pelarut metanol, karena ekstrak kasar masih berbentuk liquid. Berdasarkan hasil penelitian Joharman (2006), perlakuan lama waktu evaporasi saling berbeda nyata terhadap kadar pelarut dalam ekstrak hasil evaporasi, ketika waktu evaporasi semakin lama maka pelarut dan air yang diuapkan akan semakin banyak. Menurut Mardawati *et al.* (2008) apabila kandungan sampel semakin banyak maka aktivitas antioksidan akan semakin tinggi.

Firdiyani *et al.* (2015) melakukan uji aktivitas antioksidan pada *Spirulina plantesis* dengan menggunakan pelarut yang berbeda. Hasil ekstraksi dari pelarut yang bersifat polar memiliki rendemen yang lebih besar. Hal ini didukung

oleh penelitian Tristante (2014) yang melakukan pengujian antioksidan pada daun lamun *Thalassia hemprichii* dengan pelarut metanol tidak menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik. Hal tersebut diduga karena proses evaporasi yang terlalu singkat, sedangkan menurut Muhlisin *et al.* (2015) ketika suhu evaporator yang digunakan rendah maka waktu yang dibutuhkan untuk evaporasi akan semakin lama sehingga menyebabkan masih terdapat pelarut dalam ekstrak tersebut. Berdasarkan penelitian Rustamaji (2017) mengenai aktivitas antioksidan *S. caseolaris* di lokasi yang sama juga menghasilkan nilai IC_{50} yang negatif. Rumouw (2017) menyatakan bahwa metode dan pelarut ekstraksi dapat mempengaruhi hasil ekstrak, karena setiap tumbuhan memiliki kandungan kimia aktif yang berbeda.

Pada bagian kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada bagian daun. Hal ini sesuai dengan penelitian Herawati (2012) yang mendapatkan nilai IC_{50} kulit batang *S. caseolaris* sebesar 12,45 ppm dan penelitian Suprianto (2013) yang mendapatkan nilai IC_{50} daun *S. caseolaris* sebesar 21,62 ppm. Selain itu, menurut Saifudin (2014), daun memiliki kompleksitas jaringan yang menyebabkan sulitnya penarikan senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya, sedangkan pada kulit batang memiliki jaringan lebih sederhana.

4.4 Analisa Pengaruh Perbedaan Konsentrasi dan Jenis Sampel Terhadap Aktivitas Antioksidan

Analisa data yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Hasil pengujian menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu evaporasi 60 menit pada sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat dibandingkan dengan perlakuan lama waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit yang memiliki aktivitas

antioksidan tidak terdefinisi sehingga analisa data yang digunakan adalah dari sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* dengan perlakuan lama waktu evaporasi 60 menit. Tabel deskriptif RAL Faktorial tersaji pada Tabel 9.

Tabel 9. Deskriptif RAL Faktorial

Descriptive Statistics				
Dependent Variable: Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Pada Daun dan Kulit Batang Pada Perlakuan Waktu Evaporasi 60 menit				
Konsentrasi	Jenis sampel	Mean	Std. Deviation	N
5 ppm	Daun	4.92640E1	5.367668	3
	Kulit Batang	5.01250E1	4.776910	3
	Total	4.96945E1	4.568882	6
10 ppm	Daun	5.33173E1	6.022421	3
	Kulit Batang	5.33507E1	3.006950	3
	Total	5.33340E1	4.257329	6
20 ppm	Daun	7.22830E1	8.934749	3
	Kulit Batang	7.45827E1	8.451239	3
	Total	7.34328E1	7.879582	6
40 ppm	Daun	8.65357E1	1.549643	3
	Kulit Batang	8.90130E1	.594203	3
	Total	8.77743E1	1.715501	6
Total	Daun	6.53500E1	16.503320	12
	Kulit Batang	6.67678E1	17.178327	12
	Total	6.60589E1	16.489867	24

Asumsi yang harus dipenuhi dalam uji *Two Way Anova* adalah data harus terdistribusi normal dan homogenitas ragam antar kelompok harus homogen sehingga dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas ragam menggunakan SPSS 16 (Nainggolan, 2009). Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* terdapat pada Tabel 10 dan hasil uji homogenitas ragam terdapat pada Tabel 11.

Tabel 10. Uji Normalitas

Tests of Normality			
	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Hasil	.953	24	.314

Berdasarkan Tabel 10 uji normalitas diperoleh nilai signifikan *Shapiro-Wilk* sebesar 0,314 (lebih dari 0,05), maka dapat disimpulkan bahwa nilai residual standar berdistribusi normal sehingga normalitas *standardized residual* dalam *Two Way* ANOVA sudah terpenuhi.

Tabel 11. Uji homogenitas ragam

F	df1	df2	Sig.
2.085	7	16	.106

Berdasarkan Tabel 11 uji homogenitas ragam diketahui bahwa nilai signifikansi adalah sebesar 0,106 (lebih dari 0,05), maka dapat disimpulkan bahwa data variabel hasil uji aktivitas antioksidan pada daun dan kulit batang *S. caseolaris* pada variabel konsentrasi dan jenis sampel mempunyai ragam yang sama (homogen).

Pada hasil uji aktivitas antioksidan daun dan kulit batang *S. caseolaris* (Tabel 8), perlakuan lama waktu evaporasi 60 menit memberikan pengaruh terhadap hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* sehingga dilakukan Uji *Two Way* ANOVA pada lama waktu evaporasi 60 menit. Untuk memperkuat hal tersebut dilampirkan hasil uji BNT dengan perlakuan lama waktu 40 menit, 50 menit dan 60 menit pada Lampiran 11, yang kemudian didapatkan hasil bahwa secara kuantitatif (nilai IC_{50}) dan statistik ternyata perlakuan lama waktu evaporasi 60 menit memberikan pengaruh terhadap hasil uji aktivitas antioksidan. Hasil uji *Two Way* ANOVA dengan perlakuan lama waktu evaporasi 60 menit dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji *Two Way* ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Pada Daun dan Kulit Batang					
Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5752.162 ^a	7	821.737	26.196	.000
Intercept	104730.731	1	104730.731	3.339E3	.000

Tabel 12. Lanjutan

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Konsentrasi	5733.910	3	1911.303	60.930	.000
Sampel	12.062	1	12.062	.385	.544
Konsentrasi * Sampel	6.191	3	2.064	.066	.977
Error	501.899	16	31.369		
Total	110984.792	24			
Corrected Total	6254.061	23			

a. R Squared = ,920 (Adjusted R Squared = ,885)

Hasil analisa data *Two Way* ANOVA pada Tabel 12, menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* memberikan pengaruh sangat nyata (Sig. 0,000) terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan. Pada pengujian aktivitas antioksidan didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi uji yang digunakan maka nilai persentase inhibisi yang dihasilkan akan semakin besar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mardawati *et al.* (2008), bahwa konsentrasi memiliki pengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan, seiring dengan penambahan konsentrasi maka persentase inhibisi juga semakin meningkat. Apabila sampel yang digunakan semakin banyak maka kandungan aktivitas antioksidan pada sampel yang diujikan akan semakin tinggi.

Berdasarkan Tabel 12 perlakuan jenis sampel (daun dan kulit batang *S. caseolaris*) tidak memberikan pengaruh yang signifikan (Sig. 0,544) terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} pada daun dan kulit batang *S. caseolaris* adalah sebesar 5,766 ppm dan 4,894 ppm. Meskipun nilai IC_{50} memberikan hasil yang berbeda tetapi secara statistik tidak ada perbedaan aktivitas antioksidan dari kedua jenis sampel (tergolong sebagai antioksidan yang sangat kuat). Pada subjek interaksi didapatkan bahwa tidak terdapat interaksi antara konsentrasi uji dengan jenis sampel yang digunakan (daun dan kulit batang *S. caseolaris*) terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan (Sig.

0,977). Hal tersebut dikarenakan pada kedua jenis sampel (daun dan kulit batang *S. caseolaris*) nilai IC_{50} yang dihasilkan tidak berbeda jauh dan masih tergolong sebagai antioksidan yang sangat kuat.

Mengacu pada hasil di atas maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi uji memberikan pengaruh nyata terhadap hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris* (Sig. $0,000 < 0,05$) sehingga perlu dilakukan uji lanjutan BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui konsentrasi mana saja yang memberikan pengaruh nyata terhadap hasil uji aktivitas antioksidan. Uji BNT atau yang dikenal dengan uji LSD (*Least Significance Different*) adalah metode yang diperkenalkan oleh Fisher yang digunakan sebagai acuan dalam menentukan apakah rata-rata dua/lebih perlakuan berbeda secara statistik atau tidak (Nainggolan, 2009). Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Uji BNT

Multiple Comparisons						
Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Pada Daun dan Kulit Batang LSD						
(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5 ppm	10 ppm	-3.63950	3.233610	.277	-10.49445	3.21545
	20 ppm	-23.73833 [*]	3.233610	.000	-30.59328	-16.88339
	40 ppm	-38.07983 [*]	3.233610	.000	-44.93478	-31.22489
10 ppm	5 ppm	3.63950	3.233610	.277	-3.21545	10.49445
	20 ppm	-20.09883 [*]	3.233610	.000	-26.95378	-13.24389
	40 ppm	-34.44033 [*]	3.233610	.000	-41.29528	-27.58539
20 ppm	5 ppm	23.73833 [*]	3.233610	.000	16.88339	30.59328
	10 ppm	20.09883 [*]	3.233610	.000	13.24389	26.95378
	40 ppm	-14.34150 [*]	3.233610	.000	-21.19645	-7.48655
40 ppm	5 ppm	38.07983 [*]	3.233610	.000	31.22489	44.93478
	10 ppm	34.44033 [*]	3.233610	.000	27.58539	41.29528
	20 ppm	14.34150 [*]	3.233610	.000	7.48655	21.19645

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

Hasil uji BNT pada Tabel 13 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm pada sampel daun dan kulit batang *S. caseolaris* tidak berbeda secara signifikan terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan, sedangkan pada konsentrasi yang lain (20 ppm dan 40 ppm) memiliki perbedaan yang sangat signifikan terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan. Berdasarkan nilai *mean difference* yang merupakan nilai persen inhibisi, konsentrasi yang memiliki pengaruh tertinggi adalah konsentrasi 40 ppm.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh lama waktu evaporasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak mangrove *S. caseolaris* dari Pesisir Pantai Serang, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Perlakuan lama waktu evaporasi memiliki pengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun dan kulit batang *S. caseolaris*. Perlakuan waktu evaporasi 60 menit memberikan pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan waktu evaporasi 40 menit dan 50 menit.
2. Konsentrasi ekstrak sampel (daun dan kulit batang) *S. caseolaris* memiliki pengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan. Pada konsentrasi 40 ppm memiliki pengaruh tertinggi dibandingkan yang lain.
3. Pada ekstrak sampel (daun dan kulit batang) *S. caseolaris* tidak terdapat perbedaan jenis senyawa bioaktif yang ditemukan, yaitu fenol dan terpenoid.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Jenis sampel yang digunakan untuk penelitian lebih baik daun dengan pertimbangan produktivitas daun yang lebih banyak daripada kulit batang serta kriteria pengambilan sampel yang lebih mudah sehingga tidak terlalu mengeksploitasi mangrove *Sonneratia caseolaris*.
2. Perlu ditambahkan perlakuan bebas pada sampel yang diuji, seperti bentuk atau tekstuk ekstrak yang optimal (pasta) sehingga ada patokan atau acuan yang signifikan pada ekstrak hasil evaporasi.

3. Menurunkan konsentrasi ekstrak sampel dan memilih pelarut yang sesuai dengan target ekstraksi untuk menghindari hasil pengujian antioksidan yang tidak terdefinisi serta mengkaji lama penyimpanan ekstrak hasil evaporasi.



DAFTAR PUSTAKA

- Aji, A., Ferani, A., Meriatna, M. 2013. Pembuatan Pewarna Makanan Dari Kulit Buah Manggis Dengan Proses Ekstraksi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. **2** (2): 1-15.
- Akhmadi, I. 2012. Rancangan Acak Lengkap Untuk Mengetahui Pengaruh Jenis Bahan Bakar Terhadap Banyaknya Konsumsi Bahan Bakar Kendaraan Bermotor. *Thesis*. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Amanah, I. dan Aznam, N. 2016. Penentuan Kadar Total Fenol dan Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) dan Ekstrak Kencur (*Kaempferia galanga* linn.) Dengan Metode B-Carotene Bleaching. *J. Kim. Das. UNY*. **5** (2): 1-9.
- Anwar, K dan Triyasmono, L. 2016. Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu. *Jurnal Pharmascience*. **3** (1): 83-92.
- Avenido, P. dan Serrano, A.E., 2012. Effects of The Apple Mangrove (*Sonneratia caseolaris*) on Growth, Nutrient Utilization and Digestive Enzyme Activities of The Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* Postlarvae. *European Journal of Experimental Biology*. **2** (5): 1603-1608.
- Ayu, V., Nugraheni, E.R., Purwoko, T., 2010. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan Waktu Penyimpanan Terhadap Kualitas Daging Ikan Tongkol. *Jurnal Biofarmasi*. **8** (2): 58-65.
- Christijanti, W., Utami, N.R., Iswara, A., 2010. Efek Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Alletherin. *Jurnal Biosaintifika*. **2** (1): 18-26.
- Da'i, M., Wulandari, R., Utami, W. 2011. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dpph Analog Kurkumin Siklik dan N-Heterosiklik Monoketon. *Pharmacol*. **12** (1): 19-25.
- Danata, R.H. dan Yamindago, A., 2014. Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove *Avicenna marina* dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan Universitas Brawijaya*. **7** (1): 11-17.
- Darminto, A.A. dan Dini, I., 2009. Potensi Ekstrak Etanol Kulit Batang Tumbuhan Mangrove *Avecennia* dalam Menghambat Pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophyla*. *Jurnal Kajian, Penelitian dan Pengajaran Biologi "Bionature"*. **10** (2): 56-59.
- Diniatik, S., Anggraeni, D., Amar, I. 2016. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Manggis *Garcinia mangostana* L. *Jurnal Pharmacia*. **6** (1): 21-30.
- Firdiyani, F., Agustini, T.W., Ma'ruf, W, 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami *Spirulina platensis* Segar Dengan Pelarut

- yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **18** (1): 28-37.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, dan *Nannochloropsis sp.* *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. **10** (2): 101-109.
- Gaidhani, K., Harwalkar, M., Bhambere, D. 2016. Lyophilization/Freeze Drying A Review. *World Journal of Pharmaceutical Research*. **4** (8): 516-543.
- Ghozaly, M. dan Safitri, E. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari Varietas Umbi Wortel (*Daucus Carota L.*) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Sainstech Farma*. **9** (2): 13-18.
- Gunawan, A., Sasongko, A., Sabila, R. 2017. Perbandingan Metode Pemekatan Kuderna Danish dan Rotary Evaporator dalam Penentuan Total Petroleum Hydrocarbon(TPH) Secara Kromatografi Gas. *Jurnal Sains Terapan*. **3** (2): 40-48.
- Hanani, E., Mun'im, A., Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia sp.* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. **2** (3): 127 - 133.
- Handayani, S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicenna marina*) Sebagai Senyawa Aktif Antioksidan. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Harborne, J.B., 1987. *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Menganalisa Tumbuhan*. Edisi 2. ITB: Bandung.
- Herawati, N. 2011. Identifikasi Senyawa Bioaktif Tumbuhan Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Chemica*. **12** (2): 54 - 58.
- Herawati, N. 2012. Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Kulit Batang *Sonneratia alba*. *Jurnal Oceania*. **13** (1):43-67.
- Herfianto, P., Nurhuda, M., Yuana, F. 2014. Pengaruh Durasi Evaporasi Etanol Low Grade Terhadap Kadar Etanol Pada Residu Hasil Evaporasi. *Skripsi*. Jurusan Fisika FMIPA Universitas Brawijaya.
- Illing, I., Safitri, W., Erfiana, E. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*. **8** (1): 66-84.
- Jacob, A.M., 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.
- Joharman, T. 2006. Studi Pengaruh Suhu dan Lama Evaporasi Pada Proses Pemekatan Glatin. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Kannan, A., Hettiarachchy, N., Narayan, S. 2009. Colon and Breast Anti-Cancer Effects Of Peptide Hydrolysates Derived From Rice Bran. *The Open Bioactive Compounds Journal*. **2**:17-20

- Kasitowati, R.D., Yamindago, A. Safitri, M., 2017. Potensi Antioksidan dan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*, Pilang Probolinggo. *Journal of Fisheries and Marine Science*. **1** (1): 72-77.
- Kemit, N., Widarta, I.W.R., Nocianitri, K.A., 2017. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*). *Jurnal Simbiosis Universitas RIAU*. **7** (1): 33-46.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami*. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Kusyana, D. Y., 2014. Eksplorasi Potensi Bahan Aktif Berkhasiat Antioksidan Pada Daun dan Buah Mangrove Jenis *Sonneratia alba*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Latief, M., Nazarudin, N., 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Buah Prepat (*Sonneratia Alba*) Asal Tanjung Jabung Timur Propinsi Jambi. *Prosiding SEMIRATA 2015* bidang MIPA BKS-PTN Barat. Universitas Tanjungpura, Pontianak. Hal. 112 - 117.
- Lestari, A. 2017. Isolasi Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris*) Terhadap Sel Kanker Serviks. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Liu, Y., Zhao, D.M., Zu, Y.G., 2011. Effects of Low Light on Terpenoid Indole Alkaloid Accumulation and Related Biosynthetic Pathway Gene Expression in Leaves of *Catharanthus roseus* seedlings. *Botanical Studies*. **52**: 191-196.
- Manalu, R., Salamah, E., Kurniawati., N. 2013. Kandungan Zat Gizi Makro dan Vitamin Produk Buah Pepada (*Sonneratia caseolaris*). *Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan*. **36** (2): 135-140.
- Mardawati, E., Achyar, C.S., Marta, M.D.H., 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Skripsi*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., Suyono, S., 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.
- Meydia, M., Suwandi, R., Suptijah, P. 2016. Isolasi Senyawa Steroid Dari Teripang Gama (*Stichopus variegatus*) dengan Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **19** (3): 362-369.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioksidan Activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*. **26** (2): 211-219
- Muhlisin, A., Hendrawan, Y., Yulianingsih, R. 2015. Uji Performansi dan Keseimbangan Massa Evaporator Vakum Double Jacket Tipe Water Jet dalam Proses Pengolahan Gula Merah Tebu (*Saccharum officinarum L.*). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. **3** (1): 24-36.

- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. **7** (2): 361-367
- Nainggolan, B. 2009. Perbandingan Uji Tukey (Uji Beda Nyata Jujur (BNJ)) Dengan Uji Fisher (Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)) dalam Uji Lanjut Data Rancangan Percobaan. *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara*. Edisi 7, Juli-Desember 2009. Hal. 11-17
- Najoan, J., Runtuwene, W. 2016. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus cobbe* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Universitas Sam Ratulangi*. **5** (1): 266-274.
- Narulita, R. 2018. Pengaruh Lama Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Batang *Sonneratia caseolaris* dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
- Nirwana, A.P., Astirin, O.P., Widiyani, T., 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophloe pentandra* L. Miq.). *EL-VIVO*. **3** (2): 9-15.
- Noor, Y.R., Khazali, M., Suryadiputra, I.N.N., 2006. Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia. Ditjen Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam : Wetlands International, Indonesia Programme, Bogor.
- Nurdia. 2017. Isolasi dan Identifikasi Antioksidan Terhadap Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris* L.). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, S., Handayani, F. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **3** (1): 91-95.
- Nurjanah, J. dan Agoes, T. 2015. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Lindur Stem Bark (*Bruguiera gymnorrhiza*). *Internasional Journal of Plant Science and Ecology*. **1** (5): 182-189.
- Nurmalasari, F., Ersam, T., Fatmawati, F. 2016. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Kulit Batang *Sonneratia ovata* Backer. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. **5** (2): C149-C153.
- Paputungan, Z., Wonggo, D., Kasege, B.E., 2017. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Buah Mangrove *Sonneratia alba* Di Desa Nunuk Kecamatan Pinolosian Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. **5** (3): 190-195
- Permatasari, R.D., 2015. Pengaruh Jenis Pelarut pada Analisa Zat Anthosianin dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Metode Spektrofotometer Visible Genesys 20. *Skripsi*. Universitas Diponegoro.
- Prabowo, Y., Irawan, H., Pratomo, A. 2014. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder yang Terdapat Pada Daun Mangrove *Xylocarpus granatum* dengan Pelarut yang Berbeda. *Skripsi*. Universitas Maritim Raja Ali Haji.

- Purwaningsih, S., Salamah, E., Sukarno, A., Deskawati, E. 2013. Aktivitas Antioksidan Dari Buah Mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk.) Pada Suhu Yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **16** (3): 199-206.
- Purwoko, I., Santosa, B., Anggraini, H. 2017. Perbedaan Hasil Pemeriksaan Glukosa Urine Sebelum dan Sesudah Mengonsumsi Vitamin C. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Putri, I.J., Fauziyah, E., 2013. Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Buah Nipah (*Nypafruticans*) Asal Pesisir Banyuasin Sumatera Selatan Dengan Metode DPPH. *Maspari Journal*. **5** (1): 16-21.
- Putri, A.A., Hidajati, N., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry*. **4** (1): 1-6.
- Radam, R., Purnamasari, E. 2016. Uji Fitokimia Senyawa Kimia Aktif Akar Nipah (*Nyfa fruticans* Wurbm) Sebagai Tumbuhan Obat di Kalimantan Selatan. *Jurnal Hutan Tropis*. **4** (1): 28-34.
- Rais, I. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Andrographis paniculata* Ness Dengan Dua Perbedaan Penguapan. *Jurnal Pharmacia*. **6** (1): 95-100.
- Rastuti, U. dan Purwati. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kalba (*Albizia falcataria*) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekundernya. *Molekul*, **7** (1): 33-42.
- Ridho, E.A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Skripsi*. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Ridlo, A., Pramesti, R., Koesoemadji, K., Supriyantini, E. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizopora mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*. **6** (2): 110–116.
- Rumouw, D. 2017. Identifikasi dan Analisis Kandungan Fitokimia Tumbuhan Alam Berkhasiat Obat yang Dimanfaatkan Masyarakat Sekitar Kawasan Hutan Lindung Sahedaruman. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. **4** (2): 53-66.
- Rustamaji, T. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Bioaktif Pada Daun dan Kulit Batang Mangrove *Sonneratia caseolaris* dari Pesisir Pantai Serang, Kabupaten Blitar. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, konsep, dan teknik pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta.
- Sapri, R.P. dan Faizal, M., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tumbuhan Singgah Perempuan (*Loranthus sp.*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Seminar Nasional Kimia*, 9 November 2013. Ballroom Hotel Radja, Samarinda, Kalimantan Timur.

- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Bambu Laut. *Jurnal Teknosains dan Teknik*. **1** (3): 166-174.
- Senja, Y.R., Issusilaningtyas, E., Nugroho, A.K., Setyowati, E.P., 2014. Perbandingan 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.
- Senjaya, Y. dan Surakusumah, W. 2008. Potensi Ekstrak Daun Pinus Sebagai Bioherbisida Penghambat Perkecambah *Echinochloa colonum L.* dan *Amaranthus viridis*. *Jurnal Perennial Universitas Hasanuddin*. **4** (1): 1-5.
- Setyanto, N., Himawan, R., Arifianto, E. 2012. Perancangan Alat Pengereng Mie Ramah Lingkungan. *Jurnal Rekayasa Mesin*. **3** (3): 411-420.
- Simamora, A. 2011. Flavonoid Dalam Apel dan Aktivitas Antioksidannya. *Thesis*. Universitas Kristen Krida Wacana.
- Sindora, G., Allimudin, A., Harlia, H. 2017. Identifikasi Golongan Senyawa Antraquinon Pada Fraksi Kloroform Akar Kayu Mengkudu (*Morinda citrifolia, L.*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa Universitas Tanjungpura*. **6** (1): 37-41.
- Soehendro, A., Manuhara, G., Nurhartadi, E. 2015. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia Ekstrak Biji Melinjo Dengan Pelarut Etanol dan Air. *Jurnal Teknosains Pangan*. **4** (4): 15-24.
- Soepardjo, Harsono. 2004. Fabrikasi Thin Film Quartenair CuGaSeTe dan CuGa_{0.5}In_{0.5}Te₂ Dengan Evaporasi Flash. *Makara Teknologi*. **8** (9-16).
- Sukardjo, S. 1984. Ekosistem Mangrove. *Jurnal Oseana*. **9** (4): 102-115.
- Sulandi, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum Dengan Metode DPPH. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Suprianto, H. 2013. Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (*Sonneratia Caseolaris*) Sebagai Antioksidan. *Seminar Nasional Kimia*. 9 November 2013. Ballroom Hotel Radja, Samarinda, Kalimantan Timur.
- Tahir, I., Wijaya, K., Widyaningsih, D. 2003. Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavonol. *Seminar on Chemometrics*. Yogyakarta, Departemen Kimia Universitas Gajah Mada.
- Triani, W., Pangastuti, A., Astirin, O. 2004. Populasi Bakteri Pengoksidasi Sulfur Anorganik dan Kadar H₂S di Tambak Udang Putih (*Penaeus vannamei Boone*) Sistem Intensif. *BioSMART*. **7** (1): 23-26.
- Tristanto, R., Putri, M., Situmorang, A., Suryanti. 2014. Optimalisasi Pemanfaatan Daun Lamun *Thalassia hemprichii* Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Sains dan Teknologi Perikanan*. **10** (1): 26-29.
- Ulfa, F.S., Anggo, A.D., Romadhon, R., 2014. Uji Potensi Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ekstraksi Bertingkat Pada Lamun Dugong (*Thalassia hemprichii*) dari Perairan Jepara. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. **3** (3): 32-39.

- Utomo, D.P., 2012. Analisis Matematis dan Ekonomis Penggunaan Metanol dan Etanol pada Kompor "HD". FKIP Universitas Muhammadiyah Malang. *Jurnal Teknik Industri*. **11** (1): 50–55.
- Waji, R.A, Sugani, A., 2009. Makalah Kimia Organik Bahan Alam: Flavonoid. Makassar: Program S2 Kimia, FMIPA. Universitas Hasanuddin
- Widayanti, Y.I., 2014. Hubungan Gaya Komunikasi Universitas Muhammadiyah Lampung Dengan Peningkatan Kinerja Layanan Prima. *Thesis*. Fakultas Ilmu Sosial dan Ilmu Politik, Universitas Lampung.
- Widyasanti, A., Rohdiana, D., Ekatama, N., 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih dengan Metode DPPH. *Jurnal EDUFORTECH*. **1** (1): 1-9.
- Wiratno, A.S., Johan, V.S., Hamzah, F., 2017. Pemanfaatan Buah Pedada (*Sonneratia caseolaris*) Dalam Pembuatan Minuman Instan. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Fakultas Pertanian Universitas Riau*. **4** (1): 1-13.
- Zipcodezoo. 2018. *Sonneratia caseolaris*. http://zipcodezoo.com/index.php/Sonneratia_caseolaris. Diakses pada tanggal 13 Februari 2018 pukul 14.38 WIB.

