

Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Mangrove *Sonneratia alba* Dengan Menggunakan Metode DPPH

Sony Larumpaa^{1*}, Jeane Mongi¹, Hariyadi², Ferdy A. Karuwan², Yessie K. Lengkey²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

²Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi; larumpaasony@gmail.com

Diterima : 23 Juli 2022 Disetujui : 24 Oktober 2022

ABSTRAK

Antioksidan merupakan suatu kemampuan untuk menghambat, menekan, serta mencegah terjadinya rantai oksidasi yang dapat menghasilkan radikal bebas. Salah satu tumbuhan yang menarik untuk digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman mangrove *Sonneratia alba* yang berpotensi sebagai antioksidan. Akar *Sonneratia alba* mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak akar mangrove *Sonneratia alba*. Penelitian ini menggunakan metode DPPH untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan. Hasil penelitian ini didapatkan bahwa pada konsentrasi 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm akar mangrove *Sonneratia alba* memiliki aktivitas antioksidan. Namun yang memiliki aktivitas antioksidan lebih baik adalah pada konsentrasi 50ppm dengan persen penghambatan radikal DPPH pada ekstrak kasar sebesar 71,556% dan pada fraksi n-heksan sebesar 79,625%.

Kata kunci: *Sonneratia alba*, antioksidan, DPPH (2,2 diphenyl – 1 picryhidrazyl)

ABSTRACT

*Antioxidants are the ability to inhibit, suppress, and prevent the occurrence of oxidation chains that can produce free radicals. One of the interesting plants to be used as traditional medicine is the mangrove *Sonneratia alba* which has the potential as an antioxidant. *Sonneratia alba* root contains flavonoid secondary metabolite compounds that can act as antioxidants, the purpose of this study was to determine the antioxidant activity of *Sonneratia alba* mangrove root extract. This study used the DPPH method to determine the presence of antioxidant activity. The results of this study showed that at concentrations of 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm *Sonneratia alba* mangrove roots had antioxidant activity. However, the one with better antioxidant activity was at a concentration of 50ppm with the percentage of DPPH radical inhibition in crude extract of 71.556% and n-hexane fraction of 79.625%.*

Keywords: *Sonneratia alba*, antioxidant, DPPH (2,2 diphenyl – 1 picryhidrazyl)

1. PENDAHULUAN

Berbagai macam spesies tumbuhan di negara Indonesia dijadikan sebagai sumber obat-obatan alami. Salah satu kelompok tumbuhan yang menarik adalah tumbuhan mangrove. Mangrove mempunyai banyak sekali manfaat yang bersinggungan langsung dengan kehidupan manusia di daratan, mulai dari manfaat ekologi sampai dengan sebagai sumber pangan dan obat. Sebagian besar bagian dari tumbuhan ekstrak dan bahan mentah dari mangrove telah banyak

dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk keperluan obat-obatan alamiah¹.

Salah satu tanaman mangrove yang sangat penting bagi pengobatan ialah *Sonneratia alba*. *Sonneratia alba* adalah tanaman yang tumbuh dipesisir pantai yang termasuk dalam keluarga lythraceae dan dikenal luas di Indonesia dengan nama Pidada putih dan tersebar luas di wilayah pesisir Asia Tenggara dan Samudera Hindia².

Antioksidan merupakan suatu kemampuan untuk menghambat, menekan, serta mencegah terjadinya rantai oksidasi yang dapat menghasilkan radikal bebas³. Radikal bebas

diartikan sebagai molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya sehingga relative tidak stabil⁴. Radikal bebas ini dapat menimbulkan kerusakan pada jaringan sel tubuh seperti lipid, protein, karbohidrat dan DNA, sehingga keberadaan radikal bebas dapat menimbulkan penyakit kronik, akut, kanker, penuaan dini dan sebagainya⁵.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun dan akar dari tanaman *Sonneratia alba* ialah senyawa flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin⁶. Dan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid⁷.

Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian skrining fitokimia kembali sebagai penegasan terhadap metabolit sekunder yang ada pada akar *Sonneratia alba* dan melakukan uji aktivitas antioksidan.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah sarung tangan, masker, beker gelas, labu Erlenmeyer, kertas saring, batang pengaduk, toples, aqua 1 liter, labu destilasi 1000 ml, timbangan analitik, rotary evaporator, corong, pipet, kapas 25gr, aluminium foil, buret, klem, statif, pompa udara aquarium, sapu lidi, botol vial, gelas kertas plat KLT, mikropipet, penggaris, gunting, pensil, label, kuvet, cawan petri, UV-Vis Spektrofotometer UV – 1800. Bahan yang digunakan adalah Sampel akar *Sonneratia alba* sebanyak 2kg, etanol 95%, es batu, aquades, *n*-heksan dan methanol.

Penelitian ini menggunakan metode DPPH untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel diambil di daerah pesisir pantai Tongkaina Kecamatan Bunaken Sulawesi Utara. *Sonneratia alba* diambil pada bagian akar kemudian dimasukkan kedalam kantong plastik. Sampel kemudian dicuci dengan air mengalir untuk mengeluarkan pasir dan kotoran yang melekat. Sampel yang telah dibersihkan kemudian dikering anginkan selama 14 hari,

tujuan dari pengeringan ini untuk mengurangi kadar air dari akar sebagai sampel penelitian.

Pembuatan Ekstraksi

Sampel ditimbang sebanyak 2kg dan kemudian dimaserasi dengan etanol 95%. Sampel yang sudah direndam dengan etanol disimpan selama 5 hari (120 jam) dan sesekali diaduk, proses ini dilakukan Sebanyak 2 kali dan di filtrasi menggunakan kertas saring. Setelah di saring akan menghasilkan filtrat pertama, kedua dan ketiga yang selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary vaccum evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

Skrining Fitokimia Kandungan Kimia Ekstrak *Sonneratia alba*

Pemeriksaan dilakukan menggunakan beberapa pereaksi kimia untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid, tanin, flavonoid, saponin dan fenolik.

Uji Antioksidan

Uji Antioksidan Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Dalam pengujian antioksidan kualitatif metode yang tepat digunakan adalah metode KLT dibuat batas atas dan batas bawah dengan menggunakan pensil⁸. Sampel ditotolkan pada plat KLT kemudian dimasukkan pada gelas kaca yang berisi larutan pengembangan yaitu etil asetat dan *n*-heksan dengan Perbandingan yang berbeda. Setelah itu KLT dibiarkan hingga larutan pengembangan bergerak mencapai garis batas atas pada plat KLT dan diamati spot pemisahan senyawa yang terbentuk secara kasat mata serta menggunakan *spectrophotometry*. KLT dilakukan hingga didapatkan Perbandingan pelarut.

Kemudian diamati bercak lampu UV 254 dan 366. Sistem aromatik yang terkonjugasi akan menunjukkan pita serapan yang kuat pada sinar UV. Pada uji antioksidan kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pertama-tama ekstrak kasar dan fraksi *n*-heksan dipisahkan dengan menggunakan KLT, kemudian plat KLT disemprot menggunakan larutan DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Setelah itu plat KLT disemprot dengan larutan DPPH.

Uji antioksidan Kuantitatif Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Pembuatan Larutan DPPH 0.1 mM

Serbuk DPPH (BM 394, 32) 0.39432gram dilarutkan dengan methanol p.a 10 ml. Larutan DPPH 0.1mM dipipet 100 μ l dimasukkan ke dalam labu ukur 100ml dicukupkan dengan methanol p.a sampai tanda batas (DPPH 0.1mM).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan methanol p.a 2ml, divortex hingga homogen lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang maksimum 517nm.

Larutan Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan methanol p.a 2ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 26 menit (bertujuan agar tidak mudah teroksidasi, sehingga mencegah terjadinya pengulangan). Selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517nm.

Pembuatan Larutan Induk Ekstrak dan Vitamin C (Konsentrasi 1000ppm)

Sebanyak 100mg sampel dilarutkan dengan etanol p.a. lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100ml, volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda batas.

Pengukuran Serapan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 2 ml sampel hasil KLT masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan kedalam botol vial, ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0.15mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, serapan diukur pada panjang gelombang 517nm.

Penentuan Persen Inhibisi

Konsentrasi ekstrak *Sonneratia alba* yang digunakan adalah 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm. Larutan DPPH yang telah dicampur dengan methanol dan ekstrak kem

udian setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombangnya 517nm. Aktivitas penangkal radikal bebas diekspresikan sebagai % inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi DPPH} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi tahan uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀. Harga IC₅₀ ditentukan dengan rumus:

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

Keterangan:

a: nilai x pada kurva linear

b: nilai y pada kurva linear

Analisis Data

Data antioksidan dianalisis dengan persamaan *regresi linear* menggunakan program *Microsoft Excel* untuk melihat hubungan variasi konsentrasi dengan persen inhibisi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembahasan Dari hasil penelitian yang dilakukan didapat ekstrak kental sebanyak 191,39gram.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Akar Mangrove *Sonneratia alba*

Nama Sampel	Bobot Sampel Bassah (gr)	Bobot Ekstrak Kental (gr)	Rendemen Ekstrak (%)
(1)	(2)	(3)	(4)
Ekstrak Etanol	2.000	191,39	9,5695

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji tabung rekasi yaitu mereaksi sampel dengan larutan pereaksi

spesifik untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan dapat dilihat pada tabel berikut ini:

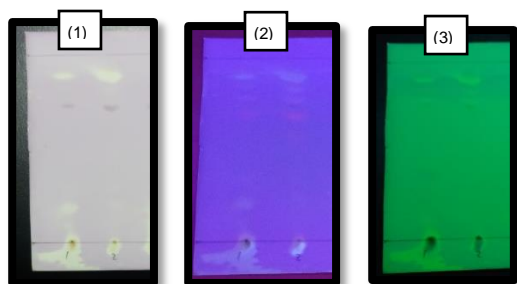
Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Akar *Sonneratia alba*

Golongan Senyawa (1)	Pereaksi (2)	Hasil (3)	Perubahan Warna (4)
Alkaloid	Dragendorff	+	Terbentuk endapan merah jingga
	Wagner	+	Terbentuk endapan cokelat
	Mayer	+	Terbentuk endapan putih
Flavonoid	HCl pekat dan Mg	+	Merah
	Etanol dan FeCl ₃	+	Hitam kebiruan
Saponin	Aquades	+	Terbentuk gelembung/buih
Steroid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	-	Tidak terbentuk warna
Triterpenoid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	+	Menghasilkan warna merah
Fenolik	FeCl ₃ 5%	+	Terbentuk warna hitam kehijauan

Hasil Fraksinasi

Fraksi dari akar mangrove *Sonneratia alba* dilakukan dengan prinsip perbedaan tingkat kepolaran dan massa jenis antara fraksi. Fraksi yang digunakan adalah pelarut *n*-heksan yang bersifat polar dan memiliki massa jenis lebih kecil dari etanol. Sehingga diperoleh hasil fraksinasi *n*-heksan sebanyak 2.2gram melalui proses partisi cair-cair dan evaporasi. Tujuan dari fraksinasi yaitu pemisahan pelarut polaritas yang berbeda sehingga senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar sedangkan semi polar ke pelarut semi polar dan senyawa non polar ke pelarut non polar.

Hasil Uji Antioksidan Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 2. Hasil KLT Pada Ekstrak Kasar dan Fraksi *n*-Heksan (1) Setelah Disinari UV 366 (2) dan 254 (3).

Pada Fraksi *n*-heksan yang ditotolkan pada plat KLT terdapat spot berwarna kuning. Jika terdapat spot berwarna kuning hal ini

menandakan pada ekstrak *Sonneratia alba* terdapat aktivitas antioksidan, uji antioksidan kualitatif ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antioksidan dari ekstrak *Sonneratia alba*. KLT merupakan suatu metode isolasi yang berdasarkan perbedaan daya serap (adsorbs) dan daya partisi serta kelarutan dari komponen-komponen kimia yang bergerak mengikuti kepolaran eluen⁹.

Perhitungan nilai Rf ekstrak kasar :

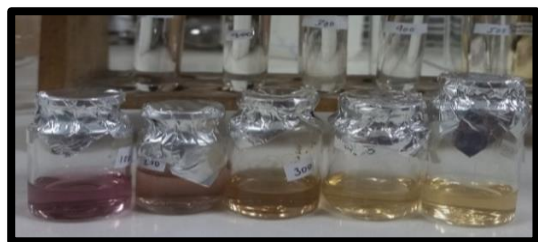
- 1) Spot 1 Nilai Rf = $\frac{2}{8} = 0.25$
- 2) Spot 2 Nilai Rf = $\frac{5.3}{8} = 0.66$
- 3) Spot 3 Nilai Rf = $\frac{6}{8} = 0.75$
- 4) Spot 4 Nilai Rf = $\frac{6.6}{8} = 0.82$
- 5) Spot 5 Nilai Rf = $\frac{7.4}{8} = 0.92$

Perhitungan nilai Rf *n*-heksan :

- 1) Spot 1 Nilai Rf = $\frac{5.3}{8} = 0.66$
- 2) Spot 2 Nilai Rf = $\frac{6}{8} = 0.75$
- 3) Spot 3 Nilai Rf = $\frac{6.6}{8} = 0.82$
- 4) Spot 4 Nilai Rf = $\frac{7.4}{8} = 0.92$

Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil analisis uji antioksidan secara kumulatif dapat dilihat pada gambar 3 di bawah ini:



Gambar 3. Perubahan Warna DPPH Menjadi Warna Kuning

Penentuan % inhibisi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran absorbansi dari blanko DPPH diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum berada pada 517nm. Dari nilai absorbansi yang diperoleh dapat ditentukan nilai persentase penghambatan radikal DPPH (%Inhibisi). Data dari nilai %inhibisi baik terhadap ekstrak kasar maupun fraksi *n*-heksan dapat dilihat pada tabel 3, tabel 4 dan tabel 5.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Akar Mangrove *Sonneratia alba*

Konsentrasi (ppm) (1)	Ulangan			Rata-rata Absorbansi (3)	% Inhibisi (4)	IC ₅₀ (5)
	U1	U2	U3			
10	0.483	0.51	0.456	0.483	40.954	18,737
20	0.334	0.384	0.408	0.375	54.116	
30	0.286	0.37	0.37	0.342	58.191	
40	0.253	0.253	0.309	0.272	66.789	
50	0.236	0.236	0.226	0.233	71.557	
Kontrol DPPH	0.815	0.82	0.82	0.818		

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi *n*-Heksan Akar Mangrove *Sonneratia alba*

Konsentrasi (ppm) (1)	U1	Ulangan		Rata-rata Absorbansi (3)	% Inhibisi (4)	IC ₅₀ (5)
		U2	U3			
10	0.541	0.436	0.413	0.463	43.358	16.505
20	0.417	0.38	0.311	0.369	54.849	
30	0.351	0.351	0.291	0.331	59.535	
40	0.238	0.185	0.185	0.203	75.224	
50	0.156	0.173	0.171	0.167	79.625	
Kontrol DPPH	0.815	0.82	0.82	0.818		

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

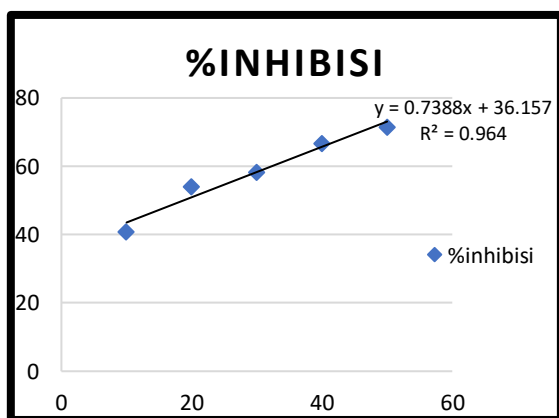
Konsentrasi (ppm) (1)	U1	Ulangan		Rata-rata Absorbansi (3)	% Inhibisi (4)	IC ₅₀ (5)
		U2	U3			
1	0.287	0.288	0.287	0.287	64.874	3.22
2	0.276	0.276	0.276	0.276	66.259	
3	0.253	0.252	0.252	0.252	69.152	
4	0.224	0.224	0.223	0.224	72.657	
5	0.181	0.181	0.181	0.181	77.873	
Kontrol DPPH	0.815	0.82	0.82	0.818		

Nilai IC₅₀ ekstrak akar *Sonneratia alba*, fraksi *n*-heksan dan vitamin C didapat dari hasil perhitungan persamaan regresi linier pada tabel

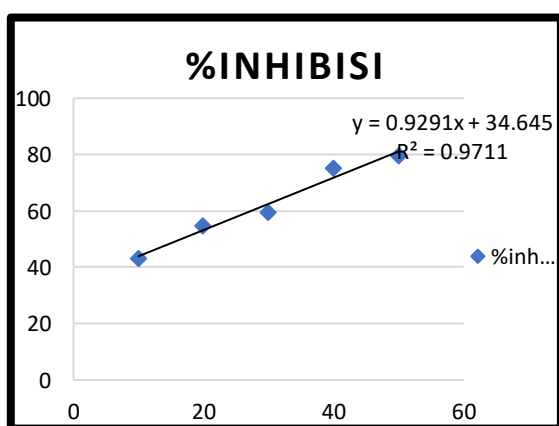
3, 4 dan 5 di atas, dimana persamaan regresi dari ekstrak kasar yang didapat pada tabel diatas adalah $y = 0.7388x + 36.157$ dan $r = 0.964$, fraksi

n-heksan $y = 0.9291x + 34.645$ dan $r = 0.9711$ dan vitamin C $y = 3.239x + 60.444$ dan $r = 0.955$.

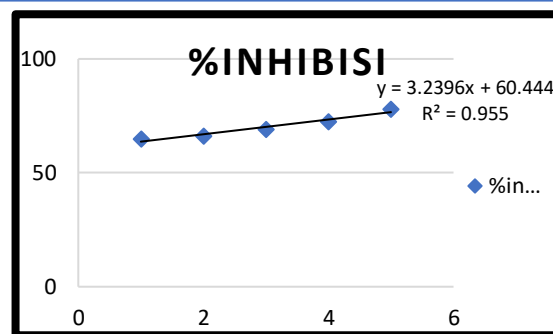
Koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai IC_{50} , sedangkan koefisien x pada persamaan ini adalah konsentrasi dari ekstrak kasar dan fraksi *n*-heksan yang akan dicari nilainya, dimana nilai x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam radikal DPPH. Nilai R yang mendekati 1 bernilai positif, nilai R memiliki nilai maksimum 1 tidak pernah lebih dari 1 yang menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan dan vitamin C maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari kurva hubungan konsentrasi ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan dan vitamin C terhadap persen inhibisi pada gambar berikut ini.



Gambar 4. Kurva %Inhibisi Ekstrak Kasar



Gambar 5. Kurva %Inhibisi Fraksi *n*-Heksan



Gambar 6. Kurva %Inhibisi Vitamin C

Pada penelitian ini, termasuk kategori sangat kuat yang dinyatakan dalam IC_{50} . Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan antioksidannya dikarenakan IC_{50} menunjukkan besarnya konsentrasi suatu senyawa dalam menghambat radikal DPPH sebanyak 50%¹⁰. Nilai IC_{50} dari fraksi *n*-heksan lebih rendah dibandingkan nilai IC_{50} dari ekstrak kasar, dan dari nilai IC_{50} fraksi *n*-heksan dan ekstrak kasar lebih rendah dari nilai IC_{50} dari vitamin C.

Aktivitas antioksidan berdasarkan penangkapan radikal DPPH memiliki hubungan dengan kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang terdapat pada tanaman. Telah ditemukan bahwa senyawa-senyawa fenol mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat yang dapat menyumbangkan elektronnya. Senyawa fenol bereaksi sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengelat logam yang potensial.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Ekstrak akar mangrove *Sonneratia alba* memiliki Kandungan senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan fenolik. Ekstrak akar mangrove *Sonneratia alba* memiliki aktivitas sangat kuat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} ekstrak kasar 18,737 dan fraksi *n*-heksan 16,505.

5. DAFTAR PUSTAKA

1. Purnobasuki H. No Title. *Jurnal Potensi Mangrove Sebagai Tanam Obat (Prospect Mangrove As Herb Med Biota*. 2014;9 (2):1-6.

2. Musa J.A.W DS dan BS. No Title. *Isol Charact Triterpenoid Compd from Leaves Mangrove Plants (Sonneratia alba) ad Antibact Act Test Int Res J Pharmacy Indones.* 2018;9(3):85-89.
3. Ridlo, A., Pramesti, R., Supriyantini, E., dan Soenardjo N. No Title. *J Akt Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove Rhizopora Mucronata, Bul Oseanografi Mar.* 2017;6(2):1 – 8.
4. AM A. No Title. *Radik Bebas dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan Med.* 2011;Vol. 4, No:48-52.
5. J S. No Title. *Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L) Pengeringan Matahari Langsung dan Free Drying J Ilm Mhs Univ Surabaya.* 2013;2(1):1-19.
6. Nadya, R., Herpandi. R. No Title. *. Uji Fitokimia Mangrove Avicennia alba, Rhizopora apiculata dan Sonneratia alba dari Muara Sungai Musi, Sumatera Selatan J Penelit Biol BIOVALENTIA.* 2018;4(2): 3-6.
7. Shinta R. Dewi, Nailly Ulya BDA. No Title. *Kandung Flavonoid dan Akt Antioksidan Ekstrak Pleurotus ostreatus J Rona Tek Pertanian.* 2018;11 (1).
8. Devi, G., John, A, Devi R. S. dan Prabhakaran VA. *Pharmacognostical Studies On Acacia Catechu Wild dan Indentification of Antioxidant Principles. International Journal of Pharmacy dan Pharmaceutical Science.* 2011;1(3):108-111.
9. Suryadarma P. No Title. *Kinet Dehidrasi Miny Jarak Dengan Katalis Campuran Natrium Bisulfat dan Atapulgit, J Tek Ind Pert.,* 2014;14(2);:51-55.
10. Saifudin A. No Title. *Senyawa Alam Metab Sekunder Teor Konsep, dan Tek Pemurnian Deep Ed.* Published online 2014:1. Yogyakarta.