

KAPASITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL KULIT BATANG *Sonneratia ovata* Back BERDASARKAN METODE DPPH DAN FRAP

Maria Dewi Astuti^{1,2*}, Hanan Johan Abd Rasyied¹, Aisyah Puteri Azzahra¹, Kholifatu Rosyidah^{1,2}

¹ PS Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

² Kelompok Riset Organik Sintesis dan Produk Alam Prodi Kimia Universitas Lambung Mangkurat

*Penulis korespondensi: mdastuti@ulm.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan menentukan kapasitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang *Sonneratia ovata* Back berdasarkan metode DPPH dan FRAP. Serbuk kulit batang diekstraksi dengan metanol. Kapasitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back ditentukan berdasarkan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) dan FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*) dengan Trolox sebagai senyawa pembanding. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang memiliki kapasitas antioksidan berdasarkan metode DPPH sebesar 1.344,9626 $\mu\text{mol TE/g}$ dan metode FRAP sebesar 206,5220 $\mu\text{mol TE/g}$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kulit batang *S. ovata* berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan.

Kata kunci: *Sonneratia ovata*, kulit batang, antioksidan, DPPH, FRAP

1. PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang banyak dikaji aktivitas antioksidannya adalah tumbuhan dari Genus *Sonneratia*. Tumbuhan *Sonneratia* merupakan salah satu tumbuhan mangrove yang tumbuh di pesisir pantai dan daerah rawa-rawa yang terpengaruh oleh pasang surut air laut. Genus ini terdiri dari 9 spesies, yaitu *S. apetala*, *S. urama*, *S. caseolaris*, *S. gulngai*, *S. hainanensi*, *S. griffithii*, *S. lanceolata*, *S. alba*, dan *S. ovata* (Duke, 2006). Spesies *S. ovata* Back banyak ditemukan tumbuh di daerah pesisir pantai Kotabaru, Kalimantan Selatan. Tumbuhan ini dikenal dengan nama pedada atau rambai (Banjar).

Beberapa penelitian terkait kapasitas antioksidan dari tumbuhan *Sonneratia* telah dilakukan oleh para peneliti dengan metode analisis antioksidan yang berbeda-beda. Ekstrak metanol kulit buah *S. caseolaris* memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan metode DPPH (2,2-diphenyl picrylhydrazyl) dengan nilai IC_{50} 56,087 ppm, sedangkan untuk isolat sebesar 52,926 ppm (Mutia et al., 2016). Ekstrak metanol 80% batang dan daun *S. alba* memiliki aktivitas antioksidan 62,5 and 87,5 $\mu\text{g/mL}$ (Gwali & Jawhal, 2011). Ekstrak etanol daun *S. caseolaris* dan hasil fraksinasi yaitu fraksi non polar, semi polar dan polar memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), yaitu 6,37 mgAAE/g (ekstrak etanol), 5,35 mgAAE/g (fraksi non polar), 6,59 mgAAE/g (fraksi semipolar) dan 5,96 mgAAE/g (fraksi polar) (Raharjo dan Haryoto, 2019).

Kulit batang *S. ovata* Back mengandung golongan senyawa tanin, saponin, phlobatanin, terpenoid, flavonoid, karotenoid, senyawa pereduksi, dan alkaloid (Astuti & Rosyidah., 2020). Sebagian senyawa-senyawa tersebut dipercaya memiliki aktivitas antioksidan. Oleh karena itu maka pada penelitian ini akan dilaporkan kapasitas antioksidan dari kulit batang *S. ovata* berdasarkan metode DPPH dan FRAP, yang dinyatakan dalam satuan Trolox Equivalent (TE).

2. METODE

2.1 Ekstraksi tumbuhan *S. ovata* Back

Kulit batang tumbuhan pedada (*S. ovata* Back.) dipotong-potong dan dikeringkan lalu dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk sampel (150 g) dimasukkan ke dalam maserator lalu diekstraksi dengan metanol, diaduk sesekali. Ekstraksi dilakukan selama 24 jam. Filtratnya disaring dengan kertas saring Whatman no. 1. Ekstraksi diulangi sebanyak 3x. Filtrat dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dilanjutkan dengan pemanasan di atas penangas air hingga diperoleh ekstrak padat metanol (5,22 g).

$$\text{Rendemen (\%)} = (\text{massa ekstrak (g)}) / (\text{massa sampel (g)}) \times 100 \quad \dots (1)$$



2.2 Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH (Modifikasi dari Molyneux, 2004; Nurcholis et al., 2021)

Larutan standar Trolox dengan konsentrasi 2, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 35 dan 40 $\mu\text{mol/L}$ dibuat dari larutan induk Trolox 0,5 mM. Larutan induk ekstrak metanol 1000 ppm disiapkan, lalu diencerkan secara bertahap menjadi 20 ppm. Perlakuan: Sebanyak 2 mL larutan standar Trolox ditambah dengan 2 mL DPPH 0,15 mM, dikocok dengan vortex selama 5 detik, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm. Prosedur yang sama dilakukan pada larutan sampel.

Persen penghambatan dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{persen penghambatan} = (\text{Ak} - \text{As}) / \text{Ak} \times 100 \quad \dots\dots (2)$$

Dimana: Ak = Absorbansi kontrol (DPPH+metanol)

As = Absorbansi larutan standar/sampel pada konsentrasi

Kemudian dibuat kurva baku yang menghubungkan konsentrasi larutan standar Trolox dengan persen penghambatan sehingga diperoleh persamaan regresi, $y = ax + b$. Kapasitas antioksidan sampel diperoleh dengan memasukkan nilai persen penghambatan sampel dalam persamaan regresi linier lalu diikuti konversi perhitungan konsentrasi, dinyatakan dalam μmol Trolox Equivalen/g atau dituliskan $\mu\text{mol TE/g}$.

2.3 Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode FRAP (Modifikasi dari Selawa et al., 2013 ; Zhao et al., 2017).

Reagen FRAP dibuat dengan mencampurkan 2,5 mL reagen TPTZ 10 mM, 25 mL buffer asetat pH 3,6 dan 2,5 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20mM lalu ditambahkan aquades hingga tepat 100 mL dalam labu takar. Larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dibuat dengan konsentrasi 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 $\mu\text{mol/L}$. Larutan standar Trolox dibuat dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 $\mu\text{mol/L}$. Larutan induk ekstrak metanol 1000 ppm disiapkan, lalu diencerkan secara bertahap menjadi 30 ppm. Perlakuan: sebanyak 1 mL larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ditambah dengan 3 mL reagen FRAP, dikocok dengan vortex selama 5 detik, diinkubasi dalam ruang gelap selama 15 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 597 nm. Prosedur yang sama dilakukan pada larutan standar Trolox dan larutan sampel.

Dari kurva baku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ akan diperoleh persamaan regresi (1) $y = ax + b$, dengan memasukkan nilai A sampel maka akan diperoleh nilai Fe^{2+} dalam sampel eq FeSO_4 ($\mu\text{mol/L}$). Dari kurva baku Trolox akan diperoleh persamaan regresi (2) $y = ax + b$, dengan memasukkan nilai A $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ akan diperoleh nilai Fe^{2+} eq trolox. Selanjutnya untuk menghitung kapasitas antioksidan sampel dengan satuan Trolox Equivalent maka dibuat kurva antara konsentrasi $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sumbu Y) dan nilai Fe^{2+} eq trolox (sumbu x) sehingga diperoleh persamaan regresi (3) $y = ax + b$, dengan memasukkan nilai Fe^{2+} dalam sampel FeSO_4 Equivalen dalam persamaan 3 maka akan diperoleh kapasitas antioksidan, dinyatakan $\mu\text{mol TE/g}$ sampel.

Satu baris spasi tunggal kosong disediakan antara kalimat akhir abstrak dan kata kunci, antara bab/anak-bab/cucu bab dan alinea di bawahnya, serta antara bab dan anak bab. Dua baris spasi tunggal kosong disediakan antara judul dan nama penulis, antara baris terakhir afiliasi dan abstrak, antara kata kunci dan bab pertama makalah.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi

Ekstraksi senyawa-senyawa pada kulit batang *S. ovata* menggunakan pelarut metanol. Metanol dapat mengekstraksi hampir semua senyawa metabolit sekunder (Harborne, 2004). Rendemen ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back. diperoleh sebesar 3, 48%.

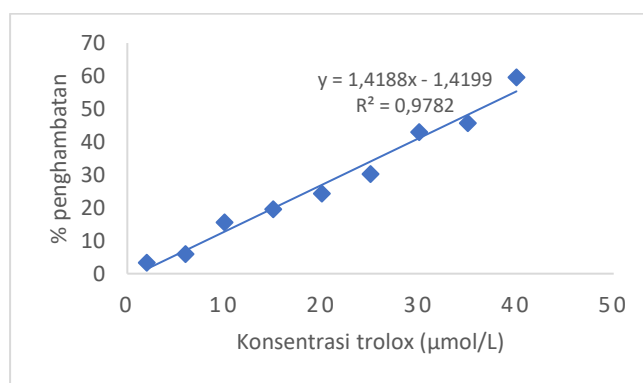
3.2. Kapasitas Antioksidan Berdasarkan Metode DPPH dan FRAP

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada prinsip peredaman radikal bebas DPPH oleh senyawa yang bersifat antioksidan sehingga akan membentuk DPPH-H (2,2-difenilpikrilhidrazin) pada. Pengurangan warna ungu DPPH menunjukkan adanya aktivitas peredaman oleh senyawa antioksidan (Munteanu & Apetrei, 2021). Panjang gelombang pengukuran dilakukan pada 515 nm sesuai data absorbansi

maksimum DPPH saat pencarian panjang gelombang. Hal ini sesuai dengan kisaran panjang gelombang gelombang pengukuran DPPH, yaitu 515-520 nm (Molyneux, 2004). Sebagai standar digunakan senyawa Trolox (*6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid*). Kapasitas antioksidan dinyatakan dalam satuan $\mu\text{mol TE/g}$. Persen penghambatan radikal bebas DPPH oleh Trolox disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Persen penghambatan radikal DPPH oleh Trolox

Konsentrasi Trolox ($\mu\text{mol/L}$)	% penghambatan DPPH
2	3,33
6	5,92
10	15,54
15	19,48
20	24,29
25	30,21
30	42,91
35	45,62
40	59,55

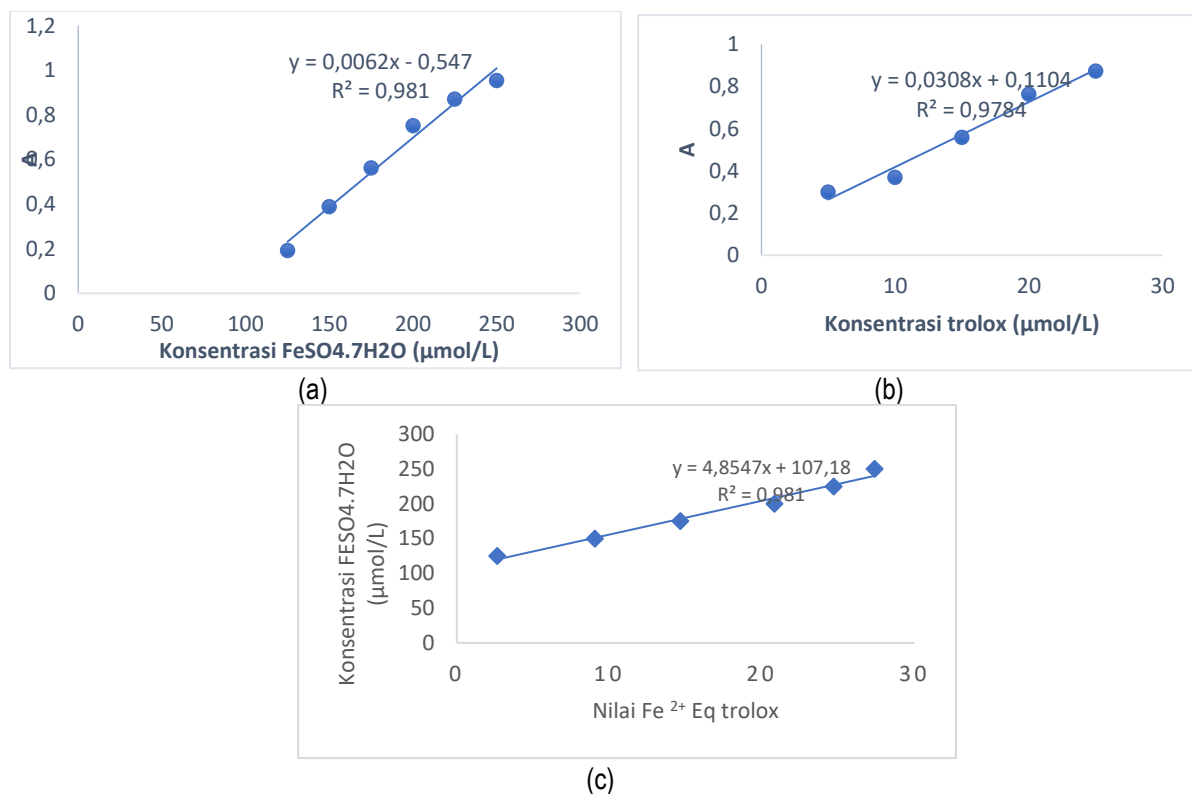


Gambar 1. Kurva baku Trolox (Metode DPPH)

Gambar 1 menunjukkan persamaan regresi kurva standar Trolox (Metode DPPH) $y = 1,4188x - 1,4199$. Persen penghambatan ekstrak metanol 20 ppm sebesar 36,74%. Berdasarkan persamaan garis tersebut diikuti oleh konversi satuan maka diperoleh kapasitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back. sebesar $1.344,9626 \mu\text{mol TE/g}$.

Pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan metode FRAP didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi kompleks Fe^{3+} -TPTZ (Reagen FRAP) menjadi Fe^{2+} -TPTZ yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru (Halvorsen et al, 2002). Trolox (*6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid*) digunakan sebagai standar. Kapasitas antioksidan dinyatakan dalam satuan $\mu\text{mol TE/g}$.

Pengukuran kapasitas antioksidan standar dan sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum 597 nm sesuai data pencarian panjang gelombang maksimum. Literatur menunjukkan kisaran panjang gelombang maksimum pengukuran antioksidan berdasarkan metode FRAP berkisar dari 593-600 nm (Liao et al, 2021; Halvorsen et al, 2002). Kurva baku ferro sulfat, Trolox dan Fe^{2+} eq Trolox disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva standar a) Ferro sulfat, b) Trolox, c) Fe²⁺ Eq Trolox, berdasarkan metode FRAP.

Gambar 2 menunjukkan persamaan regresi (1) untuk kurva baku Ferro sulfat $y=0,0062x - 0,547$, persamaan regresi untuk kurva baku Trolox $y= 0,0308x + 0,1104$, dan persamaan regresi Fe²⁺ Ekvivalen Trolox $y=4,8547x + 107,18$. Ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back 30 ppm memiliki A pengukuran sebesar 0,304. Dengan memasukkan nilai A sampel ke dalam persamaan regresi (1), dilanjutkan ke persamaan regresi (2), dan (3) diikuti oleh konversi satuan maka diperoleh kapasitas antioksidan berdasarkan metode FRAP sebesar 206,5220 μmol TE/g.

Kapasitas antioksidan yang dimiliki ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back, lebih tinggi dibandingkan tanaman okra (*Abelmoschus esculentus*) dan buah kapulaga (*Cardamon Amomum compactum* Sol. Ex Maton). Liao *et al* (2011) melaporkan ekstrak metanol 80% buah okra mengandung kapasitas antioksidan berdasarkan metode DPPH $6,9396 \pm 0,1634$ mgTrolox/g dan berdasarkan metode FRAP $21,5908 \pm 0,0828$ mgTrolox/g. Kapasitas antioksidan ekstrak etanol buah kapulaga dari berbagai daerah berkisar 0,19-0,25 μmolTE/g (Nurcholis *et al.*, 2021).

Kemampuan antioksidan yang ditunjukkan oleh ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back, baik berdasarkan penghambatan radikal bebas DPPH atau berdasarkan kemampuan mereduksi Fe³⁺ dapat disebabkan oleh berbagai senyawa yang terdapat di tumbuhan tersebut. Astuti & Rosyidah (2020) melaporkan terdapat senyawaan fenolat, seperti golongan flavonoid, tanin, phlobotanin dan golongan terpenoid (karetonenoid) pada kulit batang *S. ovata* Back. Golongan senyawa fenolat merupakan golongan fitokimia utama yang banyak berperan dalam meredam radikal bebas (Tili *et al.*, 2011). Penelitian-penelitian sebelumnya telah melaporkan senyawa-senyawa fenolat yang telah diisolasi dari tumbuhan *S. ovata* Back. Nguyen *et al.* (2015) telah mengisolasi senyawa-senyawa fenolat, antara lain *sonnerphenolic A*, *sonnerphenolic B*, *(-)-(R)-nyasol*, *(7S,8R)-5-methoxydehydroconiferyl alcohol*, *(7S,8R)urolignoside*, *lingueresinol*, *(-)-episyngaresinol*, *6-O-galloyl-D-glucopyranose*. Wu *et al.* (2009) melaporkan senyawa fenolat dari buah *S. ovata*, yaitu *(-)-(R)-nyasol*, *(-)-(R)-4-O-methylnyasol*, *3,8-Dihydroxy-6H-benzo[b,d]pyran-6-one*, dan *3-hydroxy-6H-benzo[b,d]pyran-6-one*. Tidak menutup kemungkinan bahwa senyawa-senyawa fenolat tersebut juga terdapat di bagian kulit batang *S. ovata* Back dan berperan dalam aktivitas antioksidan. Berdasarkan uraian diatas maka kulit batang *S. ovata* Back berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan.

4. SIMPULAN

Ekstrak metanol kulit batang *S. ovata* Back. memiliki kapasitas antioksidan berdasarkan metode DPPH sebesar 1.344,9626 $\mu\text{mol TE/g}$ dan berdasarkan metode FRAP sebesar 206,5220 $\mu\text{mol TE/g}$. Kulit batang *S. ovata* Back. berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan Penelitian ini dibiayai Universitas Lambung Mangkurat sesuai dengan Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Lambung Mangkurat Nomor : SP DIPA – 023.17.2.677518/2022 tanggal 17 November 2021.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, M.D. & K.Rosyidah. (2020). Eksplorasi Potensi Tumbuhan Pedada (*Sonneratia*) Asal Kalimantan Selatan: Fitokimia dan Bioaktivitas. Laporan Penelitian, Universitas Lambung Mangkurat.
- Duke, N.C. (2006). *Australia's Mangroves. The Authoritative Guide to Australia's Mangrove Plants*. University of Queensland, Brisbane.
- Gawali, P and B.L. Djadav. (2011). Antioxidant activity and antioxidant phytochemical analysis of mangrove species *Sonneratia alba* and *Bruguiera cylindrica*, *Asian Jr. Of Microbiol. Biotech. Env. Sc.* Vol. 13, No. (2) : 257-261
- Halvorsen, B. L., K. Holte, M. C. W. Myhrstad, I. Barikmo, E. Hvattum, S. F. Remberg, A-B. Wold, K. Haffner, H. Baugerød, L. F. Andersen, J.O. Moskaug, D. R. Jacobs, Jr & R. Blomhoff. (2002). A Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants. *J. Nutr.* 132: 461– 471.
- Liao, H, W. Dong, X. Shi, H. Liu, K. Yuan. (2011). Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. *Pharmacognosy Magazine* 8: 156-161
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science and Technology*. 26 (2): 211-219.
- Munteanu, I.G., & C. Apetrei. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 3380.
- Mutiara, R., M. J. Djangi, N. Herawati. (2016). Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pedada (*Sonneratia caseolaris*). *Jurnal Chemica* 17 (2) 52-62
- Nguyen, T.H.T., H. V.T. Pham, N. K. T Pham, N. D. P. Quach, K. Pudhom, P. E. Hansen, K.P. P. Nguyen. (2015). Chemical Constituents from *Sonneratia ovata* Backer and their in vitro Cytotoxicity and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 25: 2366-2371
- Nurcholis, W., D. N. S. Putri, H. Husnawati, S. I. Aisyah, and B. P. Priosoeryanto. 2021. "Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts from Accessions of *Amomum Compactum* Fruits." *Annals of Agricultural Sciences* 66 (1): 58–62.
- Raharjo, D & Haryoto. (2019). Antioxidant Activity of Mangrove *Sonneratia caseolaris* L using the FRAP Method. *Proceeding. International Summit on Science Technology and Humanity (ISETH2019) Advancing Scientific Thought for Future Sustainable Development*.
- Selawa, W., M. Revolva, J. Runtuwene, & G. Citraningtyas. (2013). Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.]. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*, 2(01), 2302–2493.
- Tlili, N., Elfalleh, W., Hannachi, H., Yahia, Y., Khaldi, A., Ferchichi, A., Nasri, N. (2013). Screening of Nature Antioxidants from Selected Medical Plants. *International Journal of Food Properties*, 16 (5): 1117-1126.
- Wu S.B., Y. Wen, X.W. Li, Y. Zhao, Z. Zhao, J. F. Hu. (2009). Chemical constituents from the fruits of *Sonneratia caseolaris* and *Sonneratia ovata* (Sonneratiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 1-5
- Zhao, G., Zhang, R., Liu, L., Deng, Y., Wei, Z., Zhang, Y., Zhang, M. (2017). Different thermal drying methods affect the phenolic profiles, their bioaccessibility and antioxidant activity in *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk berries. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 260–266.

