

Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*)

Isolation and Antioxidant Activity Test of Secondary Metabolites Compound Methanol Extract of Mangrove Pidada Rind's (*Sonneratia caseolaris*)

¹⁾Ravika Mutiara, ²⁾Muhammad Jasri Djangi, ³⁾Netti Herawati
^{1, 2, 3)}Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya Makassar, Makassar 90224
 Email: Mutiara_ravika@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol kulit buah mangrove pidada (*Sonneratia caseolaris*) dan mengetahui besarnya aktivitas antioksidannya. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap yaitu maserasi dengan menggunakan pelarut metanol, fraksinasi, pemurnian, identifikasi, dan pengukuran besarnya aktivitas antioksidan menggunakan metode *DPPH* (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Diperoleh senyawa yaitu kristal putih berbentuk serbuk dan positif alkaloid pada pereaksi Mayer dan spektrum FTIR. Besarnya aktifitas antioksidan pada ekstrak, isolate, dan vitamin C berturut-turut adalah 56,087 ppm, 52,926 ppm, 18,805 ppm.

Kata kunci: Isolasi, Mangrove pidada, *Sonneratia caseolaris*, Alkaloid, Antioksidan, *DPPH*

ABSTRACT

The purpose of this research was to identified and to know antioxidant activity of the secondary metabolites compound from methanol extract mangrove pidada (*Sonneratia Caseolaris*) Rind's. This research is carried out in several step: maceration using methanol solvent, fractionation, purification, and antioxidant activity was carried out by using *DPPH* (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) method. The compound was obtained white crystal powder and positive alkaloids in Mayer reagent and FTIR spectral. The result of Antioxidant activity from extract, isolate, and vitamin C respectively 56,087 ppm, 52,926 ppm, 18,805 ppm.

Keyword: Isolation, Mangrove pidada, *Sonneratia caseolaris*, Alkaloids, Antioxidant, *DPPH*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman sumber daya alam hayati baik itu yang terdapat di darat dan laut. Iklim yang sangat baik yang ada di Indonesia utamanya curah hujan dan keadaan lingkungan menyebabkan Indonesia memiliki keanekaragaman jenis tumbuhan yang melimpah. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia meliputi 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia (Dephut, 2010). Setiap tumbuh-tumbuhan memiliki karakteristik dan manfaat masing-masing sesuai kegunaannya di masyarakat.

Banyak bagian dari pohon mangrove belum difungsikan secara maksimal hal ini disebabkan kurangnya pengetahuan masyarakat mengenai pemanfaatan tersebut seperti pada buah mangrove pidada merah (*Sonneratia caseolaris*) yang hanya terbuang. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memaksimalkan fungsi pohon mangrove diantaranya adalah batang pohon mangrove *Sonneratia alba* yang telah diteliti dapat berfungsi sebagai antibakteri pada jenis bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi* (Suciati dkk, 2012), asap cair dari batang pohon mangrove juga banyak digunakan sebagai bahan pengawet makanan (Ariyani dkk, 2012).

Isolasi senyawa metabolit sekunder dari biji buah mangrove (*Sonneratia Caseolaris*) menggunakan pelarut metanol. Alasan penggunaan pelarut tersebut adalah untuk mengeksplorasi jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung

dalam ekstrak metanol, sebab diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder ada yang bersifat polar dan ada juga yang bersifat non polar, sehingga diyakini bahwa senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar akan terekstrak oleh pelarut metanol sebagai akibat dari kesamaan sifatnya dengan pelarut tersebut. Alasan pemilihan kulit buah mangrove pidada (*Sonneratia caseolaris*) sebagai objek penelitian ini adalah karena pemanfaatan buah pidada masih sangat kurang diketahui oleh masyarakat karena sebagian besar masyarakat pesisir hanya memanfaatkan buah tersebut sebagai buah yang hanya langsung dimakan saja padahal buah pidada banyak mengandung senyawa kimia yang bermanfaat, selain itu karena jenis mangrove ini sudah jarang ditemukan sehingga perlu dibudidayakan kembali karena kedepannya dapat memberikan manfaat yang lebih besar kepada masyarakat.

Berdasarkan hal tersebut, peneliti menganggap perlu mengadakan suatu penelitian lebih lanjut untuk mengkaji kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol pada kulit buah mangrove (*Sonneratia Caseolaris*).

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam preparasi sampel adalah blender, neraca analitik, evaporator, wadah untuk maserasi, corong Buchner, kain penyaring. Alat gelas yang digunakan adalah gelas kimia,

tabung reaksi, corong, pipet tetes, mikropipet, batang pengaduk, pipet ukur, labu tentukur, cawan petri, botol vial dan labu Erlenmeyer. Alat yang digunakan untuk uji senyawa metabolit sekundernya adalah chamber, lampu UV (panjang gelombang 254 nm dan 356 nm), kolom kromatografi cair vakum, spektroskopi IR. Alat yang digunakan untuk mengukur besarnya aktifitas antioksidan adalah inkubator, microplate dan microplate reader (Adaltis) pada panjang gelombang 517 nm.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk kulit buah mangrove pidada, kertas saring biasa, aquades, pelarut organik yaitu methanol (0,7918 gr/ml), pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid), FeCl_3 (flavanoid), Dragendorff (alkaloid), Wagner (alkaloid), etil asetat (0,897 gr/ml), kloroform (1,48 gr/ml), asam sulfat 10%, besi (III) klorida, aluminium foil, kertas saring whatman, tissue, silika gel 60 H Merck dan pelat KLT aluminium berlapis silika gel 60 G F_{254} , dan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (BM 394,32).

B. Prosedur Kerja

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap yaitu preparasi sampel meliputi maserasi dengan menggunakan pelarut methanol selama 3 x 24 jam dan ekstraksi, pemisahan komponen senyawa menggunakan silika gel 60 H Merck dan pelat KLT aluminium berlapis silika gel 60 G F_{254} , pemurnian senyawa ditentukan dengan melakukan KLT sistem tiga eluen, uji titik leleh, uji kelarutan

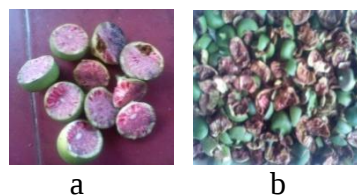
senyawa murni, uji pendahuluan golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan pereaksi Meyer (Alkaloid), LB (steroid), FeCl_3 (flavanoid), Wagner (Alkaloid) dan identifikasi lebih lanjut menggunakan metode spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer infra merah (IR). Aktivitas antioksidan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh diuji dengan menggunakan metode DPPH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Sampel kulit buah mangrove pidada yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Kelurahan Lappa, Kecamatan Sinjai Utara, Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan. Kulit buah mangrove pidada yang dijadikan sampel merupakan kulit buah yang berwarna hijau, kulit buah kemudian dikumpulkan dan dibersihkan dari pengotornya seperti biji dan kelopak buah yang menempel.



Gambar 1. (a) Sampel Utuh, (b) Sampel yang telah dibersihkan dari biji dan kelopak buahnya.

Kulit buah tersebut kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang tanpa terkena cahaya matahari langsung. Sampel yang sudah kering kemudian

dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender menjadi serbuk halus. Serbuk halus kulit buah mangrove pidada sebanyak 1,217 Kg dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam pada suhu kamar. Ekstrak metanol (maserat) yang dihasilkan berwarna hijau pekat sebanyak 6 L.

Maserat kemudian disaring dengan menggunakan corong Buchner dan kertas saring whatman untuk memisahkan zat-zat pengotor yang berukuran sangat kecil. Maserat kemudian dievaporasi yang bertujuan untuk menguapkan pelarut organiknya dengan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 30°C.

Hasil evaporasi diperoleh ekstrak kental berwarna hijau pekat sebanyak 17,539 gram. Ekstrak kental kemudian dibiarkan pada suhu kamar untuk menguapkan semua pelarut yang tersisa sehingga diperoleh ekstrak kering yang berbentuk seperti pasta.

2. Uji Pendahuluan dan Fraksinasi

Tabel 1. Hasil dan Uji Pendahuluan Ekstrak Kulit Buah mangrove

No	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
1	LB	Hijau	+ Steroid
2	FeCl ₃	Hijau Pekat	+ Favonoid
3	Meyer	Endapan Putih	+ Alkaloid
4	Wagner	Endapan Cokelat	+ Alkaloid

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom yang terdiri atas kromatografi kolom cair vakum (KKCV). Sebanyak 6,3437 gram ekstrak kental metanol difraksinasi dengan metode KKCV. Sebelum dilakukan KKCV terlebih dahulu dilakukan analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Berdasarkan hasil KLT, diperoleh bahwa eluen n-heksan: etil asetat dengan perbandingan 5:5 menunjukkan kromatogram yang baik seperti yang terlihat pada gambar



Gambar 2. Kromatogram sebelum KKV Eluen: n-heksan: etil asetat (5:5)

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan silika gel G₆₀ sebagai fase diam dan fase geraknya berupa eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksan 100%, n-heksan:etil asetat dengan perbandingan (19:1; 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 1:19), etil asetat 100%, dan metanol 100%. fraksi ditampung hingga diperoleh 24 fraksi.

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari hasil KKCV kemudian dianalisis dengan metode KLT menggunakan eluen n-heksan:etil asetat dengan perbandingan 8:2, 4:6 dan 1:9. Fraksi dengan kromatogram sama

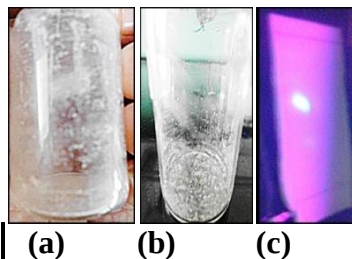
digabungkan sehingga diperoleh fraksi gabungan sebanyak 12 fraksi.

Fraksi gabungan H_1 , H_2 dan H_3 membentuk isolat berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan. Ketiga fraksi H tersebut kemudian direkristalisasi. Isolat yang diperoleh direkristalisasi dengan menggunakan n-heksan kemudian di-KLT menggunakan eluen n-heksan:etil asetat dengan perbandingan 4:6. Berdasarkan hasil KLT maka fraksi H_1 , H_2 dan H_3 digabungkan karena memiliki pola noda yang sama, dan dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram hasil rekristalisasi Eluen: n-heksan: etil asetat (4:6)

Isolat gabungan yang berwarna putih kekuningan dari fraksi H_1 , H_2 dan H_3 sebanyak 12,951 mg kemudian direkristalisasi kembali dengan menggunakan pelarut n-heksan. Setelah dilakukan rekristalisasi diperoleh isolat murni berbentuk serbuk berwarna putih dengan bobot sebanyak 2,861 mg. Hal ini ditunjukkan dengan kromatogram berupa noda tunggal seperti yang terlihat pada gambar 4.

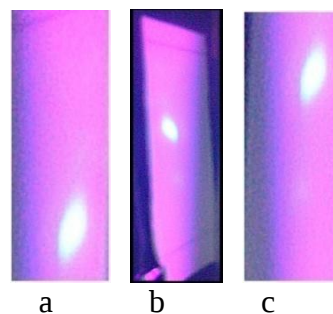


Gambar 4. Hasil KKV (fraksi gabungan H_1 , H_2 dan H_3)

- a. Isolat sebelum direkristalisasi
- b. Isolat murni
- c. Kromatogram isolat murni

3. Uji Kemurnian

Isolat yang diperoleh uji kemurniannya dengan menggunakan metode tiga sistem eluen dan uji titik leleh. Adapun tiga jenis eluen yang digunakan yaitu n-heksan:kloroform (7:3), n-heksan:etil asetat (9:1), dan kloroform:etil asetat (8:2) dan hasil diperoleh berupa noda tunggal



Gambar 5. Kromatogram KLT tiga sistem eluen

- a. n-heksan:kloroform (7:3)
- b. n-heksan : Etil asetat (9:1)
- c. Kloroform : Etil asetat (8:2)

4. Identifikasi

Tabel 2. Hasil uji golongan isolat murni

No	Pereaksi	Steroid	Alkaloid	Flavonoid
1	LB	-	-	-
2	Wagner	-	-	-
3	Meyer	-	+	-
4	FeCl ₃	-	-	-

Keterangan :

(+) = Mengandung golongan senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung golongan senyawa metabolit sekunder

Hasil uji golongan yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat murni menunjukkan senyawa golongan alkaloid. Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer IR Shimadzu Prestige-21.

5. Pengujian Antioksidan

Pengukuran antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Tahapan pertama dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah menentukan besarnya aktivitas antioksidan dengan memfariasikan konsentrasi sampel (isolate dan ekstrak) menggunakan pelarut metanol p.a. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH menggunakan konsentrasi masing-masing 60,40,20 dan 10 ppm pada masing-masing sampel, konsentrasi tersebut juga digunakan pada Vitamin C yang berfungsi sebagai pembanding atau kontrol positif. Hasil Absorbansi, % peredaman dan IC₅₀ pada masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 3-5.

Tabel 3. Nilai Absorbansi DPPH, % Peredaman dan IC₅₀ pada ekstrak methanol kulit buah mangrove pidada (*Sonneratia Caseolaris*)

Konsentrasi (ppm)	Absoransi			% Peredaman			IC ₅₀ (ppm)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
DPPH	0,725	0,757	0,781	0,725	0,757	0,781	59,041	57,841	51,087
60	0,266	0,234	0,227	63,310	69,088	70,930			
40	0,576	0,590	0,589	20,552	22,061	24,584			
20	0,598	0,601	0,623	17,517	20,607	20,230			
10	0,687	0,651	0,636	5,241	14,063	18,566			
Rata-rata % IC ₅₀ (ppm)								56,087	

Tabel 4. Nilai Absorbansi DPPH , % Peredaman dan IC₅₀ pada fraksi H (isolate) kulit buah mangrove pidada (*Sonneratia Caseolaris*)

Konsentrasi (ppm)	Absoransi			% Peredaman			IC ₅₀ (ppm)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
DPPH	1,097	1,097	1,097	1,097	1,097	1,097			
60	0,076	0,081	0,076	66,759	57,728	58,643			
40	0,083	0,303	0,083	41,241	23,448	25,352			
20	0,517	0,662	0,517	14,759	20,340	25,350	43,700	56,640	58,44
10	0,789	0,899	0,789	2,483	11,625	7,426			
Rata-rata % IC ₅₀ (ppm)							52,926		

Tabel 5. Nilai Absorbansi DPPH, % Peredaman dan IC₅₀ pada Vit C

Konsentrasi (ppm)	Absoransi			% Peredaman			IC ₅₀ (ppm)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
DPPH	1,097	1,097	1,097	1,097	1,097	1,097			
60	0,241	0,320	0,323	93,072	92,616	93,072			
40	0,426	0,587	0,583	92,433	72,379	92,433			
20	0,618	0,603	0,583	52,871	39,653	52,871	17,840	22,284	16,292
10	0,707	0,669	0,723	28,076	18,049	28,076			
Rata-rata % IC ₅₀ (ppm)							18,805		

B. Pembahasan

1. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Sebanyak 1,217 Kg sampel kulit buah mangrove pidada yang sudah kering kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender menjadi serbuk halus dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam pada suhu kamar. Tujuannya untuk mengekstrak kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam kulit buah mangrove pidada. Perendaman sampel

dengan menggunakan pelarut organik dimaksudkan agar sampel tumbuhan tersebut mengalami pemecahan dinding dan membran sel sebagai akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sel akan terlarut dalam pelarut organik tersebut. Ekstrak metanol (maserat) yang dihasilkan berwarna hijau pekat sebanyak 6 L.

Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan corong buchner dan

diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 30°C. Hasil penguapan diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu kamar sehingga diperoleh ekstrak kering yang berbentuk seperti pasta.

2. Uji Pendahuluan

Pengujian ini dilakukan dengan beberapa pereaksi yaitu pereaksi Lieberman-Burchard (LB) untuk mengidentifikasi adanya steroid yang memberikan perubahan warna hijau sampai biru, pereaksi wagner untuk menguji adanya senyawa golongan alkaloid yang memberikan hasil dengan terbentuknya endapan cokelat, pereaksi FeCl_3 1% untuk menguji adanya golongan flavonoid yang memberikan perubahan warna hijau sampai hitam. Dan pereaksi Meyer untuk menguji adanya senyawa golongan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih.

Berdasarkan hasil pengujian beberapa pereaksi, maka diperoleh beberapa pengujian yang positif yang dapat dilihat pada Tabel 2. Ekstrak kental diuji dengan pereaksi LB menunjukkan hasil yang positif adanya senyawa golongan steroid yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau. Pereaksi FeCl_3 1% menunjukkan hasil positif adanya golongan flavonoid yang memberikan perubahan warna menjadi hijau pekat. Pereaksi Meyer menunjukkan hasil positif adanya golongan alkaloid dengan terbentuk endapan putih. Pereaksi Wagner menunjukkan hasil positif adanya golongan alkaloid yang

ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat.

3. Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom yang terdiri atas kromatografi kolom cair vakum (KKCV) dan kromatografi kolom flash (KKF). Sebelum dilakukan KKCV terlebih dahulu dilakukan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) tujuannya untuk mengetahui jenis eluen yang cocok untuk digunakan pada saat KKCV dan untuk mengetahui jumlah komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak yang dapat dilihat dari jumlah noda yang tampak pada plat KLT. Berdasarkan hasil KLT, diperoleh bahwa eluen n-heksan:etil asetat dengan perbandingan 5:5 menunjukkan kromatogram yang baik seperti yang terlihat pada gambar 2.

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan silika gel G_{60} sebagai fase diam dan fase geraknya berupa eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien dimulai dari n-heksan 100%, n-heksan:etil asetat. Hal ini dimaksudkan agar semua senyawa nonpolar maupun polar dapat terfraksinasi dengan baik. Fraksi ditampung hingga diperoleh 24 fraksi.

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari hasil KKCV kemudian dianalisis dengan metode KLT menggunakan eluen n-heksan:etil asetat. Fraksi dengan kromatogram sama digabungkan sehingga diperoleh fraksi gabungan sebanyak 12.

Fraksi gabungan H₁, H₂ dan H₃ membentuk isolat berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan. Ketiga fraksi H tersebut kemudian direkristalisasi untuk memisahkan isolat dari pengotornya. Proses rekristalisasi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang dapat melarutkan zat pengotor dari isolat yang diperoleh. Isolat yang diperoleh direkristalisasi dengan menggunakan n-heksan. Isolat yang diperoleh kemudian di-KLT menggunakan eluen n-heksan:etil asetat. Berdasarkan hasil KLT maka fraksi H₁, H₂ dan H₃ digabungkan karena memiliki pola noda yang sama, dan dapat dilihat pada gambar 3. Setelah dilakukan rekristalisasi diperoleh isolat murni berbentuk serbuk berwarna putih dengan bobot sebanyak 2,861 mg. Hal ini ditunjukkan dengan kromatogram berupa noda tunggal seperti yang terlihat pada gambar 4.

4. Uji Kemurnian

Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya dengan menggunakan metode tiga sistem eluen. Pada metode tiga sistem eluen, kemurnian isolat dapat ditandai dengan munculnya noda tunggal pada setiap plat KLT. Adapun tiga jenis eluen yang digunakan yaitu n-heksan:kloroform (7:3), n-heksan:etil asetat (9:1), dan kloroform:etil asetat (8:2) dan hasil diperoleh berupa noda tunggal seperti yang ditunjukkan oleh gambar 5.

5. Identifikasi

Isolat murni yang diperoleh diidentifikasi lebih lanjut dengan uji

golongan dan uji kelarutan Uji golongan dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wagner, Meyer, FeCl₃ 1%, dan LB. Hasil uji golongan dapat dilihat pada tabel 2. Hasil uji golongan yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat murni menunjukkan senyawa golongan alkaloid. Hal ini ditunjukkan dengan reaksi positif antara isolat murni dengan Mayer yang ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan.

6. Pengujian Antioksidan

Pengukuran antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode ini adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan pada larutan uji dalam hal ini berupa isolat murni, ekstrak methanol kulit buah mangrove pidada dan kontrol positif vitamin C.

DPPH merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu yang digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik dengan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm dan serapan terkuatnya berada pada panjang gelombang 517 nm. Setelah DPPH bereaksi dengan antioksidan warna ungu DPPH akan berkurang dan berubah menjadi kuning. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning ini disebabkan karena adanya reaksi yang menyebabkan berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya proses penghambatan

DPPH oleh antioksidan melalui proses donor hidrogen untuk membentuk DPPH stabil (Molyneux, 2004).

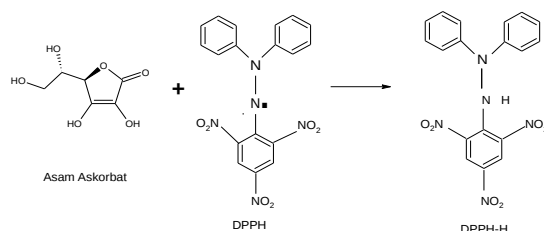
Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning terjadi ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dengan senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH tereduksi. Pengujian aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH menggunakan sampel dan Vitamin C yang berfungsi sebagai pembanding atau kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 3-5.

Berdasarkan nilai % peredaman pada masing-masing sampel ekstrak dan isolat terlihat bahwa semakin rendah konsentrasi sampel maka % peredaman juga semakin rendah. Hal tersebut menunjukkan bahwa perubahan konsentrasi memberikan pengaruh terhadap radikal bebas DPPH. Berdasarkan nilai IC_{50} pada tabel 4 dan 5 terlihat bahwa besarnya IC_{50} rata-rata pada ekstrak methanol kulit buah mangrove pidada adalah 56,087 ppm yang artinya dengan konsentrasi sebesar 56,087 ppm dapat menghambat proses oksidasi DPPH sebesar 50%, pada sampel isolat adalah 52,926 ppm artinya dengan konsentrasi sebesar 52,926 ppm dapat menghambat proses oksidasi DPPH sebesar 50 %. Dari nilai IC_{50} tersebut terlihat bahwa nilai IC_{50} isolat lebih besar daripada nilai IC_{50} ekstrak, perbedaan nilai IC_{50} ini kemungkinan disebabkan karena adanya berbagai senyawa kimia yang saling mempengaruhi pada sampel utamanya pada sampel ekstrak karena pada

sampel tersebut masih terdapat berbagai jenis senyawa kimia sedangkan pada sampel isolat merupakan senyawa murni hasil isolasi.

Dari nilai IC_{50} tersebut terlihat bahwa nilai keefektifan IC_{50} isolat < ekstrak yang berarti keefektifan antioksidan isolat lebih besar dari pada ekstrak namun kedua sampel ini termasuk sebagai antioksidan kuat karena nilai IC_{50} < 100 ppm. Nilai IC_{50} ini merupakan kapasitas antioksidan untuk senyawa murni, tetapi untuk ekstrak, parameter ini dapat digunakan sebagai indikasi kelayakan suatu ekstrak sebagai sumber senyawa antioksidan dan dapat dipakai sebagai panduan untuk purifikasi dan isolasi.

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa besarnya % Peredaman radikal bebas Vitamin C sebagai kontrol positif menurun sebanding dengan penurunan konsentrasi sampel hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh konsentrasi terhadap nilai % peredaman. Besarnya IC_{50} rata-rata pada vitamin C adalah 18,805 ppm artinya dengan konsentrasi 18,805 ppm dapat menghambat proses oksidasi DPPH sebesar 50%, karena nilai IC_{50} rata-rata pada vitamin C < 50 (ppm) maka vitamin C yang digunakan termasuk dalam antioksidan yang sangat kuat. Antioksidan tergolong sebagai antioksidan yang sangat kuat ketika nilai IC_{50} < 50 (ppm) (Miryanti dkk, 2011). Mekanisme reaksi Vitamin C sebagai penangkal radikal bebas dapat dilihat pada mekanisme berikut.



Gambar 6. Mekanisme Reaksi Penangkalan Radikal Bebas oleh Vitamin C

IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol kulit buah mangrove pidada yang merupakan senyawa murni berupa kristal berwarna putih berbentuk serbuk yang diidentifikasi sebagai senyawa golongan alkaloid yang didukung oleh beberapa data antara lain: uji pereaksi dan uji KLT. Besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak methanol kulit buah mangrove pidada maka nilai IC₅₀ pada masing-masing sampel adalah 56,087 ppm pada ekstrak metannol, pada isolat fraksi H sebesar 52,926 ppm dan pada Vitamin C adalah 18,805ppm.

B. Saran

Hal-hal yang disarankan untuk menyempurnakan penelitian ini yaitu melanjutkan identifikasi untuk fraksi-fraksi yang lain, melakukan uji antioksidan terhadap ekstrak metanol maupun terhadap kristal yang diperoleh, dan melanjutkan untuk penentuan struktur dari senyawa yang diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

- Dephut. 2010. Tumbuhan Indonesia. <http://www.dephut.go.id>. Diakses pada tanggal 27 Januari 2013. Makassar.
- Miryanti dkk. 2011. Ekstraksi Antioksidan Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.). Bandung: Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas katolik parahyangan Bandung.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journals Songklanakarin Science Technology* 26: 212-219.