

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Tanaman Mangrove (*Rhizophora mucronate* Poir.)

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

klasifikasi (*Rhizophora mucronate* Poir.) diambil dari sumber (Lindungihutan)

Kingdom	:Plantea
Phylum	:Magnoliophyta
Kelas	:Magnoliopsida
Ordo	:Rhizophorales
Famili	:Rhizophoraceae Pers.
Genus	:Rhizophora
Spesies	:Rhizophora mucronate Poir.

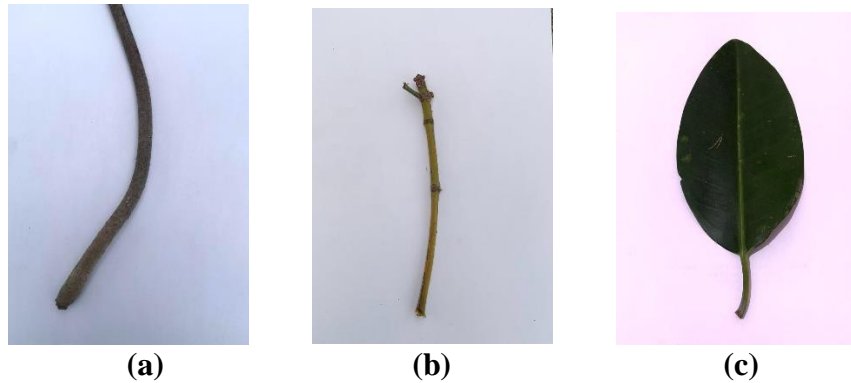


**Gambar 2.1** Tanaman Mangrove (*Rhizophora mucronate* Poir.)

**Sumber:** (Dokumen Pribadi ).

### 2.1.2 Morfologi Tanaman Mangrove

Bagian – bagian tanaman mangrove (*Rhizophora mucronate* Poir.) terdiri dari akar, batang dan daun. Rincia morfologi tanaman mangrove (*Rhizophora mucronate* Poir.) sebagai berikut :



**Gambar 2.2 (a). Akar (b). Batang dan (c). Daun (Dokumen Pribadi).**

#### a. Akar

Tinggi pohon sekitar 20 meter, habitat tumbuhan ini yang tergenang air terus menerus mempunyai jenis akar tunggang dan akar napas (pneumatophor). Akar berwarna coklat, tekstur kasar, akar tunjang yang tingginya kurang dari 1,5 meter. Akar tersebut dapat digunakan sebagai penanda khas *Rhizophora mucronata* di lapangan (Novitasari *et al.*, 2018).

#### b. Batang

Kulit batang *Rhizophora mucronata* berwarna kelabu sampai hitam, diameter batang sekitar 20 cm, kulit batang kasar. Pohon yang masih muda berkulit kelabu, sedangkan pohon yang telah tua kulitnya berangsur-angsur menjadi hitam dengan retakan-retakan yang sangat jelas. Perubahan warna kulit kayu tersebut berhubungan dengan aktivitas anatomi. Warna dan tekstur kulit kayu dikendalikan oleh

periderm selama proses pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan (Idrus et al., 2014)

c. Daun

Daun tipis, ujung daun meruncing (*accuminata*), pangkal daun membulat (*rotundatus*), panjang daun 10-19 cm dan lebar daun 8-10 cm, permukaan atas dan bawah daun licin (*laevis*), dibawah permukaan daun tua terdapat bintik-bintik kecil yang menyebar, bentuk daun elips (*elliptica*), pertulangan daun menyirip (*pinnate*), duduk daun berhadapan bersilang, tepi daun rata (*entire*). Pada ujung ranting terdapat kuncup berwarna hijau muda yang merupakan calon daun (Novitasari *et al.*, 2018).

### **2.1.3 Manfaat Tanaman Mangrove**

Tanaman mangrove merupakan tanaman yang tumbuh subur di wilayah pesisir pantai dan memiliki potensi pemanfaatan yang tinggi dalam berbagai bidang disebabkan oleh adanya kandungan senyawa bioaktif. Kebanyakan masyarakat memanfaatkan mangrove dengan mengambil kayu yang digunakan untuk keperluan mulai dari kayu bakar hingga konstruksi rumah. Kegunaan lain dari pohon termasuk makanan (terutama dari propagul), pewarna, dan obat-obatan seperti menyembuhkan sakit kepala, asma, diare, demam, dan TBC (Supriatna *et al.*, 2019).

Pengetahuan tentang ilmu kesehatan semakin luas, salah satunya pemanfaatan mangrove sebagai obat antibakteri, antimalarial, dan antioksidan, setiap bagian tanaman mangrove

memiliki khasiat pengobatan yang berbeda-beda seperti buah, batang, akar dan daun, masyarakat mempercayai penggunaan bahan obat alami akan mengurangi efek samping yang dihasilkan (Abubakar *et al.*, 2019).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Mangrove

Hutan mangrove meruoakan hutan yang khas terdapat di sepanjang pantai atau muara sungai yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Indonesia memiliki kawasan perairan yang luas sehingga tanaman ini tersebar di seluruh wilayah di Indonesia. Mangrove sendiri memiliki berbagai senyawa bioaktif yang disebut sebagai senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari kondisi lingkungannya. Metabolit sekunder pada tumbuhan mangrove meliputi senyawa golongan alkaloid, fenol, steroid, dan terpenoid (Supriatna *et al.*, 2019).

**Tabel 3.1 Kandungan Antioksidan & Senyawa Bioaktif Tanaman Mangrove**

No	Bagian tanaman	Pelarut	Kandungan	Potensi	Kadar	Referensi
1.	Akar	Metanol	Flavonoid, alkaloid dan steroid	Antioksidan	792 mgQE	(Blezensky <i>et al.</i> , 2022)
2.	Batang	Metanol absolut	Flavonoid dan alkaloid	Antioksidan	164,80 mgGAE	(Supriatna <i>et al.</i> , 2019)
3.	Daun	Etanol	Flavonoid dan alkaloid	Antioksidan	878 mgEK	(Ramadhani <i>et al.</i> , 2022)
4.	Daun	Metanol	Flavonoidda	Antioksidan	82,03 mgQE	(Diana <i>et al.</i> , 2021)
5.	Daun	Alkohol	Tanin	Antioksidan	3,91%	(Hasibuan & Sumartini, 2020)

## 2.2 Macam-Macam Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan satu atau beberapa zat yang dapat larut dari suatu kumpulan atau kesatuannya yang tidak bisa larut dengan bantuan bahan pelarut. Jenis-jenis ekstraksi yang sering dilakukan pada bahan alam terdiri dari maserasi, *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*, *Soxhlet*, perkolasi dan *reflux*.

### 2.2.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut, dan ukuran partikel. Senyawa aktif saponin yang terkandung pada daun bidara akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan pelarut metanol, karena metanol bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut dibandingkan pelarut lain. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa, Wartini & Suhendra., 2019).

Faktor lain yang perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi yaitu waktu maserasi. Semakin lama waktu maserasi yang diberikan maka semakin lama kontak antara pelarut dengan bahan yang akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut (Chairunnisa, Wartini & Suhendra., 2019).

### **2.2.2 *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction***

Metode maserasi sonikasi merupakan teknologi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Ultrasonik merupakan suara atau getaran dengan frekuensi yang terlalu tinggi untuk bisa didengar oleh manusia, yaitu kira-kira di atas 20 kHz pada permukaan simplisia. Pada proses tersebut akan mengalami beberapa kondisi diantaranya fragmentasi dan erosi. Fragmentasi terjadi karena pecahnya partikel simplisia menjadi ukuran yang lebih kecil sehingga luas permukaan partikel yang diekstraksi menjadi lebih besar. Hal tersebut menyebabkan meningkatnya transfer massa dari simplisia ke pelarut dan pada akhirnya akan meningkatkan laju ekstraksi dan jumlah rendemen (Sjahid, Aqshari & Sediarmo., 2020). Ekstraksi sonikasi juga dapat mempercepat waktu ekstraksi karena proses ekstraksi yang dibantu oleh getaran ultrasonik dapat menghasilkan energi besar yang menumbuk dinding sel jaringan bahan yang diekstrak. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi. Beberapa keunggulan penggunaan

teknologi ultrasonik yaitu prosesnya simple, murah dan efisien (Mukhriani, 2014).

### **2.2.3 Soxhlet**

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan diatas labu dan dibawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan kedalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini yaitu proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

### **2.2.4 Perkolasi**

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini yaitu sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

### **2.2.5 Reflux**

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini yaitu senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

### **2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (uniform) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik meskipun demikian, kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom (Gandjar & Rohman, 2017).

Fase gerak merupakan medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Fase gerak bergerak dalam fase diam karena adanya gaya kapiler. Pelarut yang digunakan sebagai fase gerak hanyalah pelarut



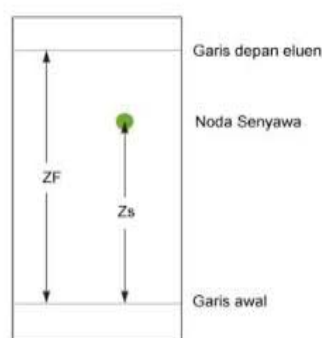
bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan sistem pelarut multikomponen. Pemisahan pada KLT dapat dimodifikasi dengan mengubah komposisi pada fase gerak dengan memperhatikan kekuatan elusi dan polaritasnya ( Gandjar & Rohman., 2012). Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembangan akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (ascending) atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (descending) (Gandjar & Rohman, 2017).

Faktor retardasi (*Retardation factor*= Rf) adalah parameter yang digunakan untuk menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Nilai Rf merupakan parameter yang menyatakan posisi noda pada fase diam setelah dielusi. Penentuan harga Rf analit, yaitu membandingkan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak/eluen (Gambar 2.3) Retardasi faktor dapat dihitung sebagai rasio (Wulandari, 2011).:

$$Rf = \frac{\text{Jarak migrasi analit}}{\text{Jarak migrasi eluen}} = \frac{Z_s}{Z_f}$$

Nilai Rf berkisar antara 0 dan 1 dan nilai Rf terbaik antara 0,2-0,8 untuk deteksi UV, dan 0,2-0,9 untuk deteksi visibel, serta 20-80 untuk Rf relatif pada deteksi UV Pada Rf kurang 0,2 belum terjadi kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sedangkan pada Rf diatas 0,8 noda analit akan diganggu oleh absorbansi pengotor lempeng fase diam yang teramati pada visualisasi dengan lampu UV. Sedangkan pada deteksi visibel Rf dapat

lebih tinggi dari deteksi UV, hal ini disebabkan pengotor fase diam tidak bereaksi dengan penampak noda sehingga noda yang berada pada  $R_f$  0,2-0,9 masih dapat diamati dengan baik, dengan mengontrol kondisi pengembangan seperti kejenuhan chamber, komposisi campuran pelarut yang konstan, temperatur dan lain-lain akan didapat nilai  $R_f$  yang reproduibel (Wulandari, 2011).



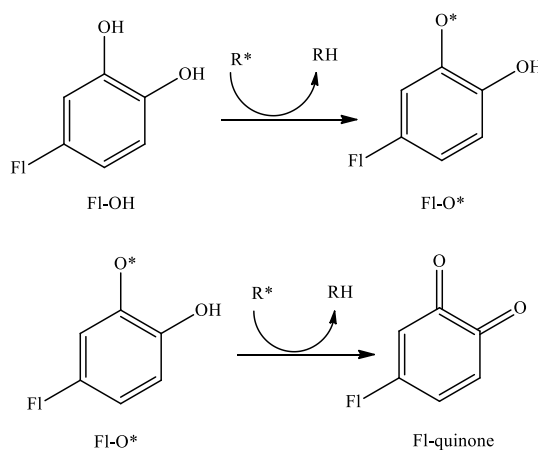
**Gambar 2.3 Ilustrasi migrasi analit dan eluen pada lempeng KLT (Wulandari, 2011).**

## 2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai suatu atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital paling luar, termasuk diantaranya adalah atom hidrogen, logam-logam transisi dan molekul oksigen. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil karena kehilangan elektronnya. Untuk menjadi stabil, radikal bebas akan mengambil elektron dari molekul atau sel lain dalam tubuh kita. Proses pengambilan elektron dari sel-sel tubuh kita menyebabkan kerusakan sel. Peranan reaksi radikal bebas pada makhluk hidup telah menjadi objek penelitian yang banyak diminati. Secara garis

besar yang banyak dipahami, radikal bebas berperan penting pada kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup. Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dapat berupa hidroksil, anion superoksida, hidrogen peroksida, asam hipoklorat, oksigen singlet, dan peroksil (Mailandari, 2012).

Pembentukan radikal bebas adalah mekanisme penting yang diterima secara luas yang menyebabkan penuaan kulit. Radikal bebas memiliki molekul reaktif sangat tinggi dengan elektron tak berpasangan yang dapat secara langsung merusak berbagai struktur membran seluler, lipid, protein, dan DNA. Efek merusak dari senyawa oksigen reaktif ini diinduksi secara internal selama metabolisme normal dan eksternal melalui berbagai tekanan oksidatif. Produksi radikal bebas meningkat seiring bertambahnya usia sementara mekanisme pertahanan endogen yang menghambatnya menurun. Ketidakseimbangan ini mengarah pada kerusakan progresif struktur seluler sehingga menghasilkan penuaan yang dipercepat (Allemann & Baumann 2008).



**Gambar 2.4 Reaksi Pembentukan Radikal Bebas (Arifin & Ibrahim, 2018).**

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan diartikan sebagai suatu zat yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Antioksidan dapat digolongkan ke dalam dua kelas, yaitu antioksidan preventif dan antioksidan pemutus rantai. Antioksidan preventif bekerja dengan mengurangi kecepatan inisiasi (permulaan) rantai reaksi. Sedangkan antioksidan pemutus rantai bekerja dengan cara memotong perbanyakkan reaksi berantai (Mailandari, 2012).

Antioksidan dalam tubuh dibedakan menjadi 3 kelompok, antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier. Antioksidan primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut merupakan transferin, ferritin, albumin. Antioksidan sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut merupakan *Superoxide Dismutase* (SOD), *Glutathion Peroxidase* (GPx) dan katalase. Antioksidan tersier atau repair enzyme merupakan antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut yaitu metionin sulfosida reduktase, metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase dan lipase (Parwata, 2016).

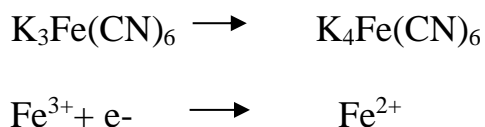
## 2.6 Metode Uji Antioksidan

Terdapat beberapa uji aktivitas antioksidan secara in-vitro, diantaranya metode FRAP, metode DPPH, metode CUPRAC, aktivitas penghambatan radikal hidroksil, metode xantin oksidase, aktivitas penghambatan radikal superoksida .

### 2.6.1 Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidan Power*)

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidan Power*) adalah metode yang dapat menentukan suatu kandungan antioksidan total berdasarkan kemampuan senyawa antioksidannya mereduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  (ferri) menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  (ferro) sehingga kekuatan antioksidan tersebut dapat dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Maryam *et al.*, 2016).

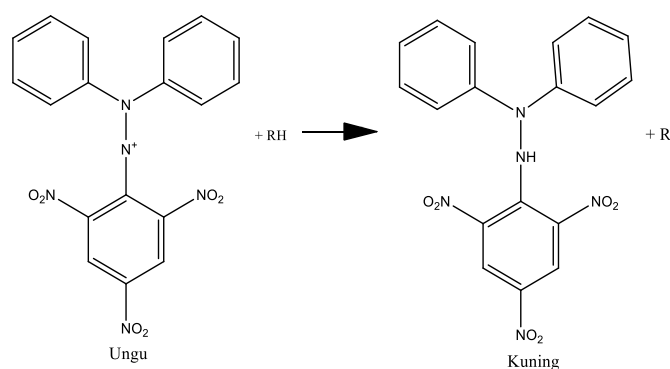
Reaksi yang terjadi :



Metode FRAP dilakukan berdasarkan kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi kalium ferrisianida ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) menjadi kalium ferrosianida ( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ). Antioksidan dalam sampel akan mereduksi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  dengan memberikan sebuah elektron. Jumlah kompleks  $\text{Fe}^{2+}$  dapat diketahui dengan mengukur sampel pada panjang gelombang 700 nm (Septiana, 2021).

### 2.6.2 Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrihidrazil*)

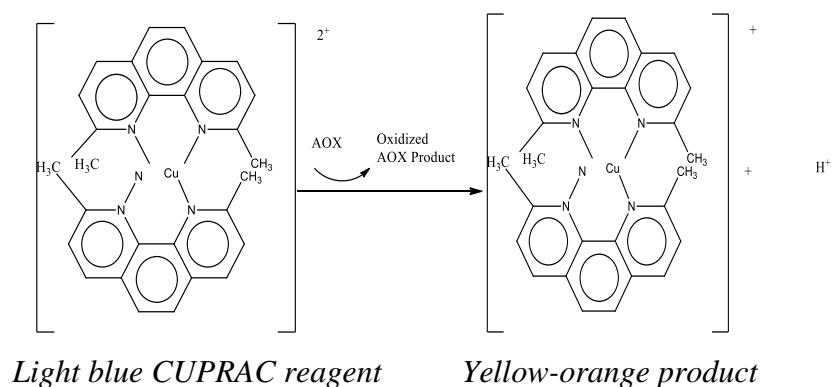
Metode ini menggunakan *1,1-difenil-2-pikrihidrazil* sebagai sumber radikal bebas. Pengukuran antioksidan secara efek perendaman radikal bebas DPPH' merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat, dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya uji lain (xantin- xantin oksidase, metode tiosianat, antioksidan total). Hasil pengukuran menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum tidak berdasar jenis radikal yang dihambat. DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji, dimana DPPH akan bereaksi dengan antioksidan tersebut membentuk *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*. Reaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak pada 517 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh dapat ditentukan (Juniarti, Osmeli & Yuhemita., 2010).



**Gambar 2.5 Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Jannah *et al.*, 2022).**

### 2.6.3 Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Metode ini menggunakan pereaksi Cu(II)-neocuproin (Cu(II)-(Nc)<sub>2</sub>) sebagai oksidator/agen pengkkelat, adanya aktivitas antioksidan secara kualitatif ditandai dengan terjadinya perubahan warna kuning kecoklatan hasil reaksi reduksi ion Cu<sup>2+</sup> dapat diukur pada panjang gelombang 450 nm, kelebihan dari metode CUPRAC yaitu pereaksi CUPRAC cukup selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, cepat, pereaksi lebih stabil, bisa didapat dari pereaksi. Prinsip metode CUPRAC yaitu berdasarkan reaksi reduksi-oksidasi sederhana antara antioksidan dengan radikal bebas, yang dapat diukur melalui reduksi ion cupric (Cu<sup>2+</sup>) menjadi cuprous (Cu<sup>+</sup>) dengan cara donor elektron oleh Antioksidan (Aryanti, Perdana & Syamsudin., 2021).



**Gambar 2.6** Reaksi Metode CUPRAC (Latifah *et al.*, 2023).

### 2.6.4 Aktivitas Penghambatan Radikal Hidroksil

Kapasitas penghambatan radikal hidroksil ekstrak secara langsung berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Metode tersebut melibatkan pembentukan secara in-vitro dari radikal

hidroksil menggunakan  $\text{Fe}^{3+}$  askorbat/ EDTA/  $\text{H}_2\text{O}_2$  dengan menggunakan reaksi fenton. Dalam salah satu metode radikal hidroksil yang terbentuk secara oksidasi dibuat untuk bereaksi dengan DMSO (*dimethyl sulphoxide*) untuk menghasilkan formaldehida. Formaldehida yang terbentuk menghasilkan warna kuning yang intens dengan reagen Nash (amonium asetat 2 M dengan asam asetat 0,05 M dan aseton asetil 0,02 M dalam akuades). Intensitas warna kuning yang terbentuk diukur pada 412 nm dengan spektrofotometri terhadap blanko negatif. Aktivitas ini dinyatakan sebagai % penghambatan radikal hidroksil (Shivaprasad, *et al.*, 2005). Radikal hidroksil dihasilkan dari sistem Fe-EDTA-DMSO-asam askorbat. Intensitas warna kuning yang terbentuk diukur pada  $\lambda$  412 nm setelah 15 menit. Nilai penghambatan radikal hidroksil yaitu (%) dihitung berdasarkan  $= [(AC-AS)/AC] \times 100 \%$ , dengan AC adalah absorbansi kontrol dan AS adalah absorbansi sampel (Widyawati *et al.*, 2012).

#### **2.6.5 Metode ORAC ( *Oxygen Radical Absorbance Capacity* )**

Prinsip dasar metode ORAC ini yaitu mengukur kemampuan antioksidan dengan cara donor hidrogen dalam meredam radikal peroksil yang dilihat berdasarkan penurunan intensitas molekul fluoresen selama waktu reaksi. Mekanisme kerja metode pengujian ini yaitu menggunakan inisiator bis azida/AAPH (*2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride*) sebagai pembentuk radikal peroksil lewat oksidasi, yang akan bereaksi dengan molekul



fluoresen seperti fluorescein atau  $\beta$ -pikoeritrin dan menyebabkan hilangnya kemampuan berfluorosensi sebagai interpretasi dari kemampuan peredaman senyawa antioksidan terhadap radikal bebas. Intensitas fluoresen akan menurun seiring berlangsungnya degenerasi oksidatif sebagai indikator dekomposisi fluoresen yang akan direkam selama setengah jam setelah penambahan AAPH, dan dapat diukur pada panjang gelombang 520 nm pada saat emisi dan 480 nm pada saat eksitasi (Aryanti *et al.*, 2021).

## 2.7 Nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50% atau IC<sub>50</sub> dapat dikatakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% (Annisa *et al.*, 2021). Berikut merupakan klasifikasi kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 3.1 berikut ini (Annisa *et al.*, 2021).

**Tabel 3.2 Klasifikasi Aktivitas Antioksidan Berdasarkan AAE Mg/g Ekstrak (Wong *et al.*, 2006).**

<b>AAE Mg/g Ekstrak</b>	<b>Antioksidan</b>
>500 AAE Mg/g Ekstrak	Sangat kuat
100-500 mg AAE/g Ekstrak	Kuat
10-100 mg AAE/g Ekstrak	Sedang
<10 mg AAE/g Ekstrak	Lemah

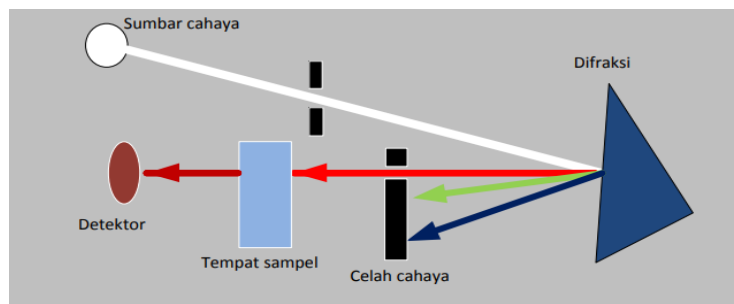
## 2.8 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-VIS merupakan salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat

menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm – 700 nm) biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya. Unsur diidentifikasi melalui senyawa kompleksnya. Persyaratan kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran spektrofotometer dalam analisis kimia (Irawan, 2019).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat untuk analisa suatu unsur yang berkadar rendah baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif, pada penentuan secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan spektrum dari suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan secara kuantitatif berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum dengan adanya senyawa pengompleks sesuai unsur yang dianalisisnya (Yanlinastuti & Fatimah, 2016).

Secara umum komponen spektrofotometer terdiri dari sumber radiasi, monokromator tempat sampel dan detektor yang dihubungkan dengan printer atau komputer, seperti terlihat pada gambar 2.6.



**Gambar 2.7 Skema Peralatan Spektrofotometer UV-Vis (Tukadi, 2016).**

### 2.8.1 Sumber Cahaya

Panjang gelombang yang tepat untuk mengukur dan mempertahankan intensitas sinar yang permanen pada pengukuran. Sumber radiasi yang digunakan untuk spektrofotometer UV-Vis yaitu lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar yang tampak sampai inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm sampai sekitar 250 nm. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm (Worono & Syamsudin, 2013).

### 2.8.2 Monokromator

Monokromator merupakan alat yang paling umum dipakai untuk menghasilkan berkas radiasi dengan suatu Panjang gelombang. Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar (Worono & Syamsudin, 2013).

### 2.8.3 Kuvet

Kuvet merupakan tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca

tembus sinar tetapi bisa pula terbuat dari plastik. Sel yang terbuat dari kuarsa baik untuk spektroskopi UV-VIS. Kuvet dari bahan kaca silikat biasa tidak dapat digunakan untuk spektroskopi ultraviolet karena bahan kaca ilikat dapat menyerap ultraviolet (Worono & Syamsudin, 2013).

#### 2.8.4 Display

*Display* atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis. Berdasarkan hukum Lambert-Beer spektrofotometer memiliki prinsip kerja seberkas sinar dilewatkan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan. Besarnya sinar ( $A$ ) berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap ( $C$ ) dan jarak yang ditempuh sinar ( $a$ ) dalam larutan (tebal larutan,  $b$ ). Hukum Lambert-Beer

$$A = a.b.C$$

Keterangan:

$A$  = Serapan (absorbans)

$C$  = Konsentrasi

$a$  = Koefisiensi serapan spesifik

$b$  = Tebal larutan

Pada spektrofotometer UV-VIS, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna adalah analit yang memiliki sifat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna merupakan analit yang

tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna untuk zat atau senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara oksidasi sehingga analit menjadi berwarna (Worono & Syamsudin, 2013).

## 2.9 Landasan Teori

Berdasarkan penelitian Raharjo,., (2022) mengenai uji antioksidan ekstrak etanol dan fraksi akar *Rhizophora stylosa* metode ABTS dan FRAP, menyatakan bahwa memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai masing-masing  $18,553 \pm 1,440$  ppm dan  $33,048 \pm 0,424$  mgAAE/g. Berdasarkan penelitian uji antioksidan ekstrak etanol dan fraksi akar *Rhizophora stylosa* metode ABTS dan FRAP termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat.

Usman, Fildzania and Fauzi (2022) menyatakan bahwa pada penelitian hasil uji aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronate* total diklorometana dan etil asetat, diperoleh hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak diklorometana nilai  $IC_{50}$  sebesar 70,38 ppm dan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat total diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 59,89 ppm. Berdasarkan hasil penelitian dapat dikatakan bahwa ekstrak total diklorometana dan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat.

Berdasarkan penelitian Supriatna *et al.*, (2019) mengenai uji aktivitas antioksidan kadar total flavonoid dan fenol ekstrak metanol kulit

batang mangrove, menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  dari sampel kulit batang mangrove sebesar  $65,59 \mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan penelitian aktivitas antioksidan kadar total flavonoid dan fenol ekstrak metanol kulit batang mangrove termasuk dalam kategori antioksidan yang kuat.

### **2.10 Hipotesis**

Berdasarkan tinjauan Pustaka diatas, maka dibuat hipotesis sebagai berikut:

1. Memiliki nilai rendemen yang baik pada aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar, batang, dan daun tanaman mangrove (*Rhizophora mucronate* Poir )
2. Memiliki nilai antioksidan sangat kuat pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar, batang, dan daun tanaman mangrove (*Rhizophora mucronate* Poir )