

Media Eksakta

Journal available at: <http://jurnal.fkip.untad.ac.id/index.php/jme>
 e-ISSN: [2776-799x](http://dx.doi.org/10.22487/me.v20i1.3037) p-ISSN: 0216-3144

Pengaruh Variasi pH Terhadap Kadar Flavonoid pada Ekstraksi Akar Mangrove (*Rhizophora sp*) sebagai Antioksidan *Effect of pH Variation on Flavonoid Levels in Mangrove Root Extraction (*Rhizophora sp*) as Antioxidants*

*R. A. Ilyas¹, Suherman¹, P. Ningsih¹

¹Program Studi Pendidikan Kimia, FKIP, Universitas Tadulako, Indonesia

*e-mail: rahmayani9048@gmail.com

Article Info

Article History:

Received: 27 July 2022

Accepted: 01 August 2022

Published: 31 May 2024

Keywords:

Mangrove root
 (*Rhizophora sp*),
 Flavonoids,
 Antioxidants

Abstract

Mangrove plant parts such as leaves, fruits, roots have been known as traditional medicine by some people. The purpose of this study was to determine the effect of pH variation on the flavonoid content of mangrove root extraction and its characterization as antioxidants. Extraction was carried out by maceration technique of mangrove root powder using 96% ethanol. Flavonoids were measured by the UV-Vis spectrophotometry method with pH variations of 2, 4, 6, 8 and 9.5. The highest flavonoid content was obtained using a pH 8 water solvent of 2.3103 ppm. Antioxidant activity as an inhibitor of free radicals from mangrove roots in water solvent pH 8 is around 29.965%. Antioxidant activity on the roots of *Rhizophora sp* was measured by the DPPH method and expressed with an IC₅₀ value of 53,56 ppm and based on the antioxidant power table which is in the range of 50-100, namely its benefits as an antioxidant are declared Strong.

DOI : <https://doi.org/10.22487/me.v20i1.3037>

PENDAHULUAN

Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti inflamasi, kardioprotektif, anti diabetes, anti kanker, anti penuaan, antioksidan, dan lain-lain. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Flavonoid ditemukan pada tanaman, yang berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, orange, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun [1].

Antioksidan dapat melindungi sel dari molekul yang tidak stabil atau radikal bebas. Molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat [2].

Keseimbangan antara kandungan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh merupakan salah satu faktor yang

mempengaruhi kesehatan manusia. Secara alami tubuh menghasilkan senyawa antioksidan, namun tidak cukup kuat untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh sendiri setiap harinya [3].

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang jika masuk kedalam tubuh dapat merusak sistem imunitas tubuh. Radikal bebas tersebut dapat timbul akibat berbagai proses kimia yang kompleks dalam tubuh, polutan lingkungan, zat-zat kimia, racun, makanan cepat saji, dan makanan yang digoreng dengan suhu tinggi. Jika jumlahnya berlebih, radikal bebas akan memicu efek patologis. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang apa saja terutama yang rentan seperti lipid, protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif. Oleh karena itu pembedaan radikal bebas harus dihalangi atau dihambat dengan antioksidan [4].

Manusia sebagai makhluk hayati dan budaya, membutuhkan air untuk kehidupan sehari-hari. Air diperlukan untuk mengangkut zat makanan dari organ tubuh

satu ke organ tubuh lainnya. Air penting bagi kehidupan manusia, oleh karena itu secara kuantitas dan kualitas harus memenuhi kebutuhan manusia. Air secara kuantitas dan kualitas fisik, kimia, dan biologi apabila tidak memenuhi persyaratan kesehatan akan mengganggu pemakai [5].

Air alkali yang disarankan boleh diminum berkisar antara pH 7.0 - pH 9,5. Konsumsi air alkali dengan pH 9,5 maupun kombinasi antara air alkali pH 9,5 dan strong water alkali pH 11,5 terbukti efektif untuk menurunkan GDA (gula darah acak) bagi penderita diabetes melitus tipe 2 [6]. Air alkali bermuatan listrik negatif dan tereduksi, yaitu bersifat low micro clustering (memiliki ukuran partikel yang kecil) dari molekul air biasa sehingga mengurangi tegangan permukaan air tersebut dan memiliki daya larut dan daya serap sel yang lebih besar.

Zaman dahulu, rakyat Indonesia telah mengenal berbagai jenis obat dan memanfaatkannya untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit. Pengobatan tersebut didapat berdasarkan pengetahuan secara empiris dan diteruskan secara turun temurun [7]. Begitu juga dengan pemanfaatan akar pada tanaman mangrove digunakan sebagai obat bagi sebagian orang yang mengetahui khasiat dan manfaat dari tanaman tersebut. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian pada bagian akar mangrove untuk mengetahui Stabilitas dari kadar flavonoid akar mangrove terhadap variasi pH dengan menggunakan pelarut air yang belum diketahui hingga saat ini.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di dua tempat yang berbeda yaitu, Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako Sulawesi Tengah.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, rotary vacuum evaporator, sentrifuge, neraca analitik, vortex, pipet tetes, pH meter, kertas saring, erlenmeyer, corong, spatula, labu ukur, pipet volume, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas beker dan spektrofotometer UV-vis. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, aluminium klorida (AlCl_3), quersetin, kalium

asetat, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin), dan pereaksi fitokimia.

Preparasi Sampel

Sampel akar mangrove (*Rhizophora sp*) yang segar diambil dari pesisir pantai kemudian dikumpulkan, semua sampel yang dikumpulkan lalu dicuci hingga bersih. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil, dikering anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung dan dihaluskan dengan menggunakan blender (serbuk akar).

Ekstraksi sampel

Ditimbang sebanyak 250 gram serbuk kering akar mangrove (*Rhizophora sp*), kemudian dimeserasi selama 3 hari dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 1000 ml. Hasil meserasi selanjutnya disaring hingga didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat etanol akar mangrove. Uji fitokimia flavonoid dilakukan dengan mengambil sejumlah ekstrak pekat etanol akar mangrove kemudian dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi lalu ditambahkan dua pereaksi berbeda yaitu Mg-HCl yang memberikan warna yang spesifik untuk tiap golongan tertentu [8]. Sampel positif mengandung flavonoid jika berubah warna orange hingga merah.

Uji kuantitatif Flavonoid

a. pembuatan larutan standar quersetin

Sebanyak 10 mg baku standar quersetin dilarutkan ke dalam labu ukur sebanyak 10 ml, kemudian ditambahkan larutan etanol 96% sampai tanda batas. selanjutnya dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm. Dari masing-masing larutan standar quersetin dimasukkan sebanyak 1 ml kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml larutan aluminium klorida (AlCl_3) 10%. Larutan selanjutnya dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit.

b. penentuan kadar flavonoid

Ekstrak pekat etanol akar mangrove ditimbang sebanyak 0,3 di beri label sesuai variasi pH. Dari masing-masing variasi pH dimasukkan sebanyak 1 ml kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml larutan aluminium klorida (AlCl_3). Analisis kadar flavonoid menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm, dan menggunakan pereaksi AlCl_3 . Kemudian melakukan

pengulangan pada sampel sebanyak 3 kali pengujian, agar didapatkan nilai abs dari masing-masing sampel, setelah itu dapat dihitung kadar total flavonoid dalam sampel (f) dengan menggunakan rumus sebagai berikut [9]:

$$f = \frac{Abs - a}{b}$$

Abs = Absorbansi sampel

f = Kadar total flavonoid sampel (µg/mL)

a = Intersep dari kurva standar

b = Slope dari kurva standar

c. *Aktivitas Antioksidan*

Pembuatan Larutan DPPH (1,1- diphenyl- 2-picrylhidrazin) ditimbang 1 mg padatan DPPH kemudian dilarutkan dengan etanol secukupnya dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml lalu di cukupkan volumenya hingga tanda batas. Ekstrak etanol akar mangrove dengan kandungan flavonoid kemudian dimasukkan sebanyak 2 mL kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH. Selanjutnya, larutan tersebut dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 516 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai presentasi aktivitas antioksidan IC₅₀ dihitung dengan rumus sebagai berikut [10]:

$$\%inhibisi = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A₀ = Absorbansi Kontrol

A₁ = Absorbansi Sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun, dan kulit luar batang. Flavonoid merupakan senyawa alam yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang berperan pada timbulnya penyakit degeneratif melalui mekanisme perusakan sistem imunitas tubuh, oksidasi lipid dan protein [11].

Ekstrak akar mangrove diperoleh dari hasil menggunakan metode maserasi dengan variasi pH 2, pH 4, pH 6, pH 8, pH 9,5. ekstrak yang di hasilkan Pada ekstrak akar mangrove pH 4 dan pH 6 memiliki warna yang sama yaitu orens muda,

sedangkan ekstrak propolis pH 2, pH 8, dan pH 9,5 memiliki warna orens yang lebih pekat. Hasil pengukuran absorbansi sampel dengan metode AlCl₃ dan menggunakan alat Spektrofotometri UV-Visible, hasil analisis sampel ekstrak akar mangrove dengan menggunakan beberapa variasi pH 2, pH 4, pH 6, pH 8, pH 9,5 untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid dan didapatkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 1

Tabel 1. Ekstrak pekat etanol akar mangrove

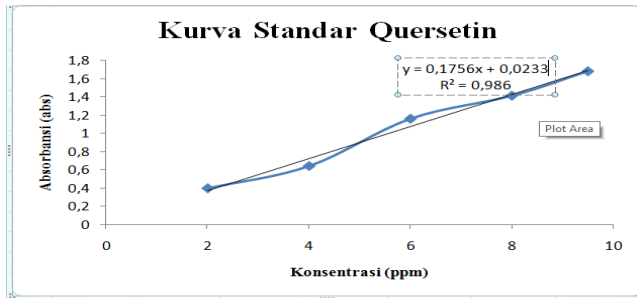
Pelarut	Absorbansi (abs)			Rata-rata
	Uji 1 (abs)	Uji 2 (abs)	Uji 3 (abs)	
pH 2	0,296	0,296	0,288	0,293
pH 4	0,388	0,388	0,388	0,389
pH 6	0,418	0,417	0,432	0,422
pH 8	0,440	0,444	0,449	0,444
pH 9,5	0,438	0,443	0,443	0,438

Salah satu kelompok senyawa flavonoid adalah Quersetin yang memiliki lima gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas DPPH [12]. Hasil pengukuran absorbansi pada kuersetin dengan metode AlCl₃ menggunakan alat Spektrofotometri UV-Visible, pada penelitian ini kuersetin digunakan sebagai larutan standar untuk menentukan kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak akar mangrove yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Larutan Standar kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi (abs)	Rata-rata
	0,387	
2 ppm	0,410	0,399
	0,400	
	0,644	
4 ppm	0,641	0,643
	0,645	
	1,175	
6 ppm	1,153	1,161
	1,155	
	1,414	
8 ppm	1,409	1,413
	1,418	
	1,680	
10 ppm	1,676	1,681

Konsentrasi	Absorbansi (abs)	Rata-rata
	1,687	



Gambar 1. Kurva deret standar quersetin

Dari kurva deret standar quersetine dan absorbansi variasi pH tersebut maka dapat dihitung kadar flavonoid total. Nilai slope (b) yang didapatkan sebesar 0,1756 dan intersep (a) nya sebesar 0,0233 serta R^2 sebesar 0,9869. Maka setelah dihitung menggunakan rumus perhitungan kadar flavonoid didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Kadar flavonoid total

Pelarut	Kadar flavonoid (ppm)/ml			Rata-rata
	Uji 1	Uji 2	Uji 3	
pH 2	1,552	1,552	1,507	1,544
pH 4	2,076	2,105	2,076	2,085
pH 6	2,247	2,242	2,327	2,272
pH 8	2,373	2,395	2,434	2,400
pH 9,5	2,361	2,390	2,390	2,380

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil kadar flavonoid total dari akar mangrove. Hasil penelitian ini dapat diketahui ekstrak akar mangrove yang memiliki warna yang lebih pekat adalah pada pH 6, pH 8, dan pH 9,5. Akan tetapi, ekstrak akar mangrove yang memiliki kadar paling tinggi terdapat pada pH 8, meskipun perbedaan kadar flavonoid pada pH 8 dan pH 9,5 tidak terlalu berbeda, Hal tersebut disebabkan oleh perbedaan konstanta dielektrik pada variasi pH air yang digunakan untuk ekstraksi akar mangrove. Semakin tinggi pH air maka semakin menurun polaritasnya, hal tersebut dapat diketahui dari konstanta dielektriknya. Hasil kadar flavonoid pada ekstrak pH 9,5 menunjukkan penurunan bila dibandingkan dengan ekstrak pH 8, Hal tersebut dikarenakan penurunan polaritas air cukup signifikan pada pH 9,5 sehingga menyebabkan ada senyawa polar dalam akar mangrove yang tidak bisa terekstrak dan menyebabkan kadar flavonoid menurun. Data yang terjadi menunjukkan bahwa senyawa terbanyak dalam akar mangrove

dapat terekstrak dengan baik dengan pelarut yang memiliki konstanta dielektrik atau kepolaran yang sesuai. Pengukuran kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri sesuai yang dilakukan oleh [13]. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya kompleks $AlCl_3$ dengan flavonoid yang menghasilkan reaksi warna. Pereaksi $AlCl_3$ hanya dapat digunakan untuk mendeteksi flavonoid dengan gugus orto dihidroksi dan hidroksi karbonil atau yang hanya memiliki gugus orto dihidroksi saja.

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan IC_{50} diperoleh dari plotting terhadap persamaan regresi linear dengan (x) sebagai konsentrasi sampel dan (y) adalah persen aktivitas antioksidan. Dari data kurva regresi isolate aktivitas antioksidan dapat ditentukan nilai IC_{50} dari senyawa antioksidan [14]. Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji DPPH adalah dengan nilai efficient cocentration (EC_{50}) atau sering disebut IC_{50} , yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} menandakan semakin besar aktivitas antioksidan [15].

Uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak akar mangrove dilakukan menggunakan DPPH karena merupakan salah satu metode uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas akar mangrove sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan pada akstrak akar mangrove dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas antoksidan

Variasi pH	Absorbansi (abs)	% inhibisi	IC_{50}	Aktivitas antioksidan
pH 2	0,740	15,040		
pH 4	0,785	9,873		
pH 6	0,632	27,439	53,56 ppm	Kuat
pH 8	0,610	29,965		
pH 9,5	0,616	29,276		

Dari penelitian ini kita bisa melihat bahwa aktivitas penghambat radikal bebas tertinggi ada pada variasi pH 6, pH 8, dan pH 9,5, akan tetapi meskipun pada variasi pH 6 air memiliki aktivitas penghambat radikal bebas yang tinggi tetapi tidak dianjurkan untuk diolah menjadi air rebusan akar mangrove untuk dikonsumsi sebagai obat tradisional untuk

darah tinggi karena selain sifatnya yang asam juga kadar pH air minum umumnya adalah 7, sebab semakin rendah pH maka sifat korosinya semakin tinggi. Sedangkan pada pH 8 dan pH 9,5 layak dikonsumsi oleh tubuh manusia, pada masa ini air dengan pH 8 dan pH 9,5 biasa disebut juga air minum alkali serta termasuk air minum layak konsumsi dan juga banyak di perjual belikan, aktivitas penghambat radikal bebas paling tinggi terjadi pada pH 8 yaitu 29,965%. Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari hasil perhitungan ekstrak etanol akar mangrove yaitu 62,78 yang menunjukkan nilai IC₅₀ berada di rentang 50-100 dengan kekuatan aktivitas antioksidan Kuat.

KESIMPULAN

Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi dalam hal memerangi efek negatif dari radikal bebas yang terdapat didalam tubuh manusia. Salah satu sumber antioksidan yaitu flavonoid, pada uji flavonoid yang memiliki kadar flavonoid tinggi yaitu ada pada variasi pH 6, pH 8, dan pH 9,5 kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan yang memiliki nilai aktivitas penghambat radikal bebas juga sangat tinggi terjadi pada ke tiga variasi pH tersebut yaitu 27,439%, 29,965%, 29,276%. Aktivitas penghambat radikal bebas paling tinggi terjadi pada pH 8 yaitu 29,965%, dengan nilai IC₅₀ 53,56 ppm yang menunjukkan bahwa daya antioksidannya kuat.

REFERENSI

- [1]. Arifin, Bustanul, and Sanusi Ibrahim. "Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid." *Jurnal Zarah* 6.1 2018, pp 21-29.
- [2]. S, Winarti, "Makanan Fungsional", Yogyakarta: graha Ilmu, 2010
- [3]. Hernani dan M. Raharjo, "Tanaman Berkhasiat Antioksidan", Penebar Swadya: Jakarta, 2005
- [4]. Selawa, Widya, Max RJ Runtuwene, and Gayatri Citraningtyas. "Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [Anredera cordifolia (Ten.) Steenis.]." *Pharmakon* 2.1, 2013
- [5]. C, Budiman, "Pengantar Kesehatan Lingkungan", EGC: Jakarta, 2006
- [6]. Siswantoro, Edy, Nasrul Hadi Purwanto, and Ns Sutomo. "Efektivitas Konsumsi Air Alkali Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Acak Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2." *Jurnal Keperawatan* 11.1, 2018, pp 12-12.
- [7]. Kanon, Muharli Qadri, Fatimawali Fatimawali, and Widdhi Bodhi. "Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Salak (Salacca zalacca (Gaertn.) Voss) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus L.) yang Diinduksi Sukrosa." *Pharmakon* 1.2, 2012
- [8]. J. B. Harborne, "Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan", Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata, ITB: Bandung, 1987
- [9]. Rismawati, Suci Nurfazri, and Ismiyati Ismiyati. "Pengaruh variasi pH terhadap kadar flavonoid pada ekstraksi propolis dan karakteristiknya sebagai antimikroba." *Jurnal Konversi* 6.2, 2017, pp 89-94.
- [10]. Valentao, P., et al. "Antioxidant activity of Centaurium erythraea infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49.7, 2001, pp 3476-3479.
- [11]. I. R. Rais, "Isolasi dan penentuan kadar flavonoid ekstrak etanolik herba sambiloto (andrographis paniculata (burm. F.) Ness)". *Journal Pharmacia*, 2015, pp 100-106
- [12]. D. Rahayu, dan S. D. Hastuti, "Stabilitas Saponin sebagai Antibiotik Alami Hasil Isolasi Gel Daun Aloe barbandis miller pada Variasi Suhu dan Lama Simpan", *Jurnal. Malang: Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan-Perikanan Universitas Muhammadiyah: Malang*, 2014
- [13]. Mihai, M. Cristina, Mārghita, and A. I. Liviu, "Estimation of Flavonoid Content in Propolis by Two Different Colorimetric Methods", *journal Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 2010.
- [14]. Mihai, Cristina Manuela, et al. "Estimation of flavonoid content in propolis by two different colorimetric methods." *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* 43.1, 2010, pp 407-407.
- [15]. Molyneux, Philip. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarinn J. sci. technol* 26.2, 2004, pp 211-219.