



LAPORAN AKHIR
PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**EFEKTIVITAS KOMPONEN BIOAKTIF SEBAGAI ANTIOKSIDAN
DAN HEPATOPROTEKTAN DARI BUAH BAKAU
(*Rhizophora mucronata*) DENGAN METODE *IN VIVO***

BIDANG KEGIATAN :

PKM PENELITIAN (PKM P)

Diusulkan Oleh :

Aditya Yudha Prawira S	C34090049 (2009)
Tika Ayu Budiarti	C34090051 (2009)
Aufa Khoirunnisa	C34100030 (2010)
Mahardika Tri Handayani	C34100046 (2010)
Indah Ria Lestari	C34100077 (2010)

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2013**

**LEMBAR PENGESAHAN
PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA**

- | | | |
|-------------------------------|---|---|
| 1. Judul Kegiatan | : | Efektivitas Komponen Bioaktif sebagai Antioksidan dan Hepatoprotektan dari Buah Bakau (<i>Rhizophora mucronatum</i>) dengan Metode <i>In Vivo</i> . |
| 2. Bidang Kegiatan | : | PKM Penelitian |
| 3. Bidang Ilmu | : | Pertanian |
| 4. Ketua Pelaksana | : | |
| a. Nama Lengkap | : | Aditya Yudha Prawira Sukarno |
| b. NIM | : | C34090049 |
| c. Jurusan | : | Teknologi Hasil Perairan |
| d. Universitas/Institut | : | Institut Pertanian Bogor |
| e. Alamat Rumah / No. HP | : | Komplek TNI-AU Atang Senjaya Blok E No 6 Bogor / 085692762784 |
| f. Alamat email | : | yudhadudidam@yahoo.com |
| 5. Anggota Pelaksana Kegiatan | : | 4 orang |
| 6. Dosen Pendamping | : | |
| a. Nama Lengkap dan Gelar | : | Dr. Ir. Sri Purwaningsih, MSi, |
| b. NIDN | : | 0013076510 |
| g. Alamat Rumah dan No.HP | : | Komplek TNI-AU Atang Senjaya Blok F II No 7 Bogor / 08128520065 |
| 7. Biaya Kegiatan Total | : | |
| a. Dikti | : | Rp 9.700.000 |
| b. Sumber Lain | : | - |
| 8. Jangka Waktu Pelaksanaan | : | 5 bulan |

Menyetujui,
Ketua Departemen THP



(Dr. Ir. Ruddy Suwandi, M.S., M.Phil.)
NIP. 19580511 198503 1 002

Wakil Rektor Bidang Akademik
dan Kemahasiswaan,



(Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS)
NIP. 19581228 198503 1 003

Bogor, 25 Juli 2013

Ketua Pelaksana Kegiatan



(Aditya Yudha Prawira S.)
NIM. C34090049

Dosen Pendamping



(Dr. Ir. Sri Purwaningsih M.Si)
NIDN. 0013076510

A. TARGET LUARAN

1. Latar Belakang

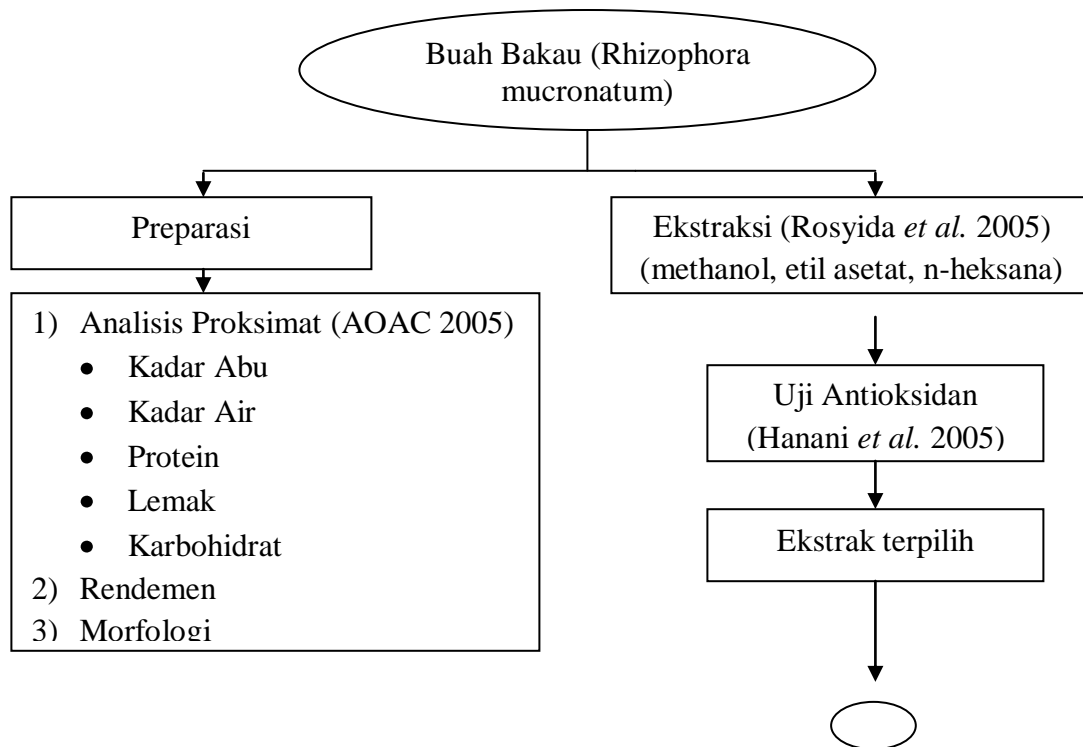
Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menunda atau mencegah oksidasi lemak atau molekul lain dengan cara menghambat terjadinya proses inisiasi atau propagasi reaksi rantai oksidatif, serta substansi yang dapat menunda, mencegah, atau menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target seperti, protein, lipid, dan DNA (Halliwell & Gutteridge 2007). Konsentrasi radikal bebas yang tidak seimbang dengan antioksidan dalam tubuh juga dapat menimbulkan stress oksidatif pada tubuh. Stress oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel dan menimbulkan penyakit degeneratif, seperti penyakit liver, penyakit diabetes, penyakit kardiovaskular, dan penyakit neodegeneratif (PIPI 2010). Organ tubuh manusia yang berfungsi dalam menetralkan zat toksik yang masuk dalam tubuh, serta menjadi sasaran peningkatan radikal bebas adalah hati. Hati merupakan organ tubuh penting yang memainkan peran sentral dalam metabolisme racun yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan dan diangkut melalui vena portal, sehingga organ hati perlu dilindungi (Sahu 2007). Perlindungan terhadap organ hati sangat diperlukan untuk mencegah kerusakan oksidatif dengan penambahan konsentrasi zat antioksidan dalam tubuh.

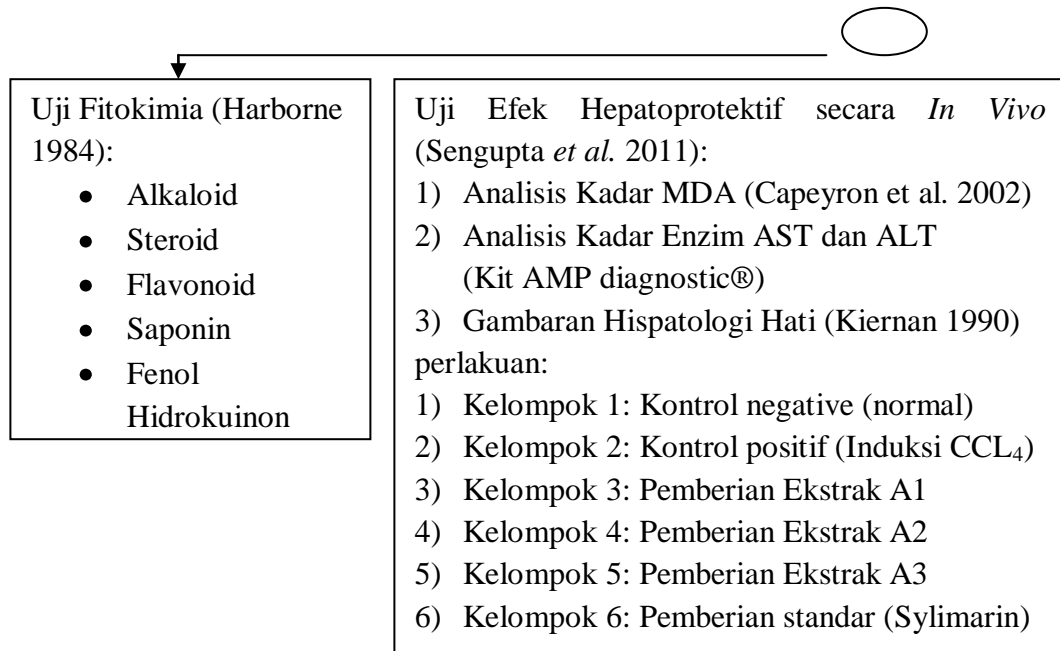
Menurut Wu (2009) antioksidan yang umum digunakan seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA) tidak baik untuk dikonsumsi oleh manusia. Atas dasar tersebut masyarakat mulai beralih dari menggunakan antioksidan sintetik menjadi antioksidan alami. Menurut Sartini *et al.* (2007) bahwa antioksidan alami adalah antioksidan yang umumnya diisolasi dari sumber alami, kebanyakan berasal dari tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan. Salah satu harapan sumber alternative antioksidan alami baru adalah buah bakau (*Rhizophora mucronata*). *Rhizophora mucronata* merupakan tanaman bakau dari Genus *Rhizophora* dan Famili *Rhizophoraceae*. Tanaman ini dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 27-30 m, buah yang dihasilkan berwarna hijau dengan lentisel banyak dan menyebar. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat: Memperkaya khasanah informasi secara ilmiah dan akurat mengenai manfaat buah bakau

(*Rhizophora mucronata*) sebagai sumber antioksidan alami dari komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya., mengetahui aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif pada buah bakau (*Rhizophora mucronata*), memberikan nilai tambah terhadap potensi tanaman mangrove.

B. METODE

Untuk mencapai tujuan yang ditargetkan, penelitian ini dilakukan dalam dua tahap penelitian meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian inti. Penelitian pendahuluan meliputi preparasi sampel, ekstraksi, karakteristik kimia, analisis aktivitas antioksidan, dan analisis fitokimia. Penelitian utama adalah pengujian efek hepatoprotektif ekstrak buah bakau terpilih secara in vivo. Secara ringkas tahapan penelitian tersebut disajikan dalam bentuk diagram alir yang pada Gambar 1.





Gambar 1. Skema tahapan penelitian

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan bertujuan untuk mengetahui karakteristik dasar dari sampel buah bakau (*Rhizophora mucronata*), adapun hasil terbaik yang didapatkan dari tahap ini selanjutnya akan digunakan sebagai perlakuan terpilih pada tahapan penelitian inti. Penelitian pendahuluan meliputi preparasi sampel,, karakterisasi sampel, ekstraksi, analisis aktivitas antioksidan, dan analisis fitokimia.

a. Ekstraksi (Ravikumar *et al.* 2012 dan Nurdiani *et al.* 2012)

Sampel buah bakau (*Rhizophora mucronata*) akan diambil dari kawasan Konservasi Hutan Mangrove di daerah Pantai Indah Kapuk. Proses pengeringan pada buah mangrove *R. mucronata* dilakukan pada udara terbuka (kering udara) tanpa terkena cahaya matahari secara langsung. Pengeringan secara tidak langsung dapat menghindari kerusakan bahan aktif yang terdapat pada sampel (Harborne 1984).

Pengeringan dilakukan sampai sampel dapat diblender untuk dijadikan tepung halus. Selanjutnya sampel yang sudah kering dijadikan serbuk halus dengan cara diblender dan diayak dengan saringan halus. Serbuk halus yang sudah siap kemudian diekstrak menggunakan pelarut etanol 95% (polar) (Ravikumar *et al.* 2012). Sampel

diekstrak dengan metode maserasi. 50 gr serbuk buah bakau (*R. mucronata*) direndam dalam 200 ml etanol 95% dalam 500 ml labu erlenmeyer selama 24 jam. Ekstrak kemudian difiltrasi dengan kertas saring *Whatman* no. 42, filtrat yang dihasilkan dihilangkan pelarutnya dengan *rotary vaccum evaporator* pada suhu 40 °C. Hasil ekstraksi menghasilkan ekstrak kasar yang kemudian ditimbang untuk mendapatkan rendemen ekstraknya. Hasil ekstrak disimpan dalam botol tertutup sampai digunakan untuk analisis pengujian efek hepatoprotektif secara *in vivo* (Ravikumar *et al.* 2012).

b. Pengujian aktivitas antioksidan (Hanani *et al.* 2005 yang dimodifikasi)

Aktivitas antioksidan ekstrak kasar buah bakau (*Rhizophora mucronata*) ditentukan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) berdasarkan metode Hanani *et al.* 2005 yang dimodifikasi. Tahap awal pengujian aktivitas antioksidan adalah mempersiapkan larutan sampel. Sampel ekstrak kasar dari buah bakau dilarutkan dalam methanol dengan konsentrasi 0.78, 1.562, 3.125, 6.25, 12.5, dan 25 ppm. Vitamin super ester C digunakan sebagai kontrol positif, dan untuk pembandingan dengan masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm.

Larutan ekstrak dan larutan antioksidan pembandingan BHT yang telah dibuat, masing-masing diambil 4,5 mL dan direaksikan dengan 500 µL larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi yang berbeda yang telah diberi label. Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi larutan blanko juga diukur untuk menghitung persen inhibisi. Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya yang ditandai oleh perubahan warna ungu menjadi kuning (Molyneux 2004). Aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dan antioksidan pembandingan BHT dinyatakan dengan persen inhibisi yang dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

c. Uji fitokimia (Harborne 1984)

Pengujian fitokimia pada ekstrak buah bakau *R.mucronata* dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang diharapkan dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor. Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, uji steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, Molisch, Benedict, Biuret dan Ninhidrin. Metode uji ini berdasarkan Harborne (1984).

2. Penelitian Inti

Penelitian inti bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif atau efek penyembuhan kerusakan hati pada hewan uji yang diberikan beberapa perlakuan ekstrak buah bakau (*Rhizophora mucronata*) sebagai hepatoprotektan.

a. Pengujian efek hepatoprotektif secara *in vivo* (Ravikumar *et al.* 2012)

Pengujian efek hepatoprotektif menggunakan tikus jantan strain *Sprague Dawley*. Masa aklimatisasi, hewan coba diberi makan dengan pakan standar dan minum *ad libitum*. Pada hari terakhir adaptasi tikus ditimbang dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok (n=3) di dalam kandang secara terpisah. Kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

Kelompok 1: Kontrol negatif (normal)

Kelompok 2: kontrol positif, yaitu tikus diinduksi dengan CCL4 dengan dosis 2 ml/kg BB (diencerkan 1:1 (v/v) dalam cairan parafin) secara *intraperitoneal* pada 30 menit setelah waktu 0 jam.

Kelompok 3: Perlakuan ekstrak *Rhizophora mucronata*. Tikus diinduksi pada hari pertama, kemudian diberikan ekstrak buah bakau terpilih dengan konsentrasi 1 mg/kg BB dilarutkan dalam 0,5% Tween 80 yang diinduksi secara oral pada hari ke-2 sampai hari ke-8.

Kelompok 4: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Dosis ekstrak *Rhizophora mucronata* yang diberikan 5 mg/kg BB.

Kelompok 5: Perlakuan sama dengan kelompok 3. Dosis ekstrak *Rhizophora mucronata* yang diberikan 25 mg/kg BB.

Kelompok 6: Perlakuan hepatoprotektor standar, yaitu *sylimarin*. Tikus diinduksi pada hari pertama, kemudian diberikan *sylimarin* (dilarutkan dalam

0,5% Tween 80) dosis 25 mg/kg BB secara oral pada hari ke-2 sampai hari ke-8.

Setelah 36 jam perlakuan semua tikus dikorbankan dengan cara eutanasi intraperitoneal dengan Ketamin, kemudian dilakukan pengambilan sampel darah dari jantung, Untuk mendapatkan serum darah, sampel darah yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit (Panjaitan 2007).

a) Analisis kadar enzim AST dan ALT darah (Kit AMP diagnostic®)

Sampel darah diambil dari jantung. Sampel darah yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit untuk mendapatkan serum darah. Serum tersebut kemudian dipisahkan ke dalam tabung ependorf. Kadar enzim AST dan ALT dianalisis dengan menggunakan Kit AMP diagnostic®.

b) Persiapan preparat histopalogi hati (Panjaitan 2007)

Hewan dikorbankan dengan cara eutanasi intraperitoneal, kemudian dibedah untuk mengambil organ. Organ hati yang diambil kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis, selanjutnya difiksasi dengan menggunakan buffer formalin 10%. Jaringan yang telah difiksasi kemudian didehidrasi dengan alkohol mulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% masing-masing selama 24 jam dilanjutkan dengan alkohol 100% selama 1 jam yang diulang tiga kali. Setelah dehidrasi dilanjutkan dengan penjernihan dengan menggunakan xilol sebanyak tiga kali masing-masing selama 1 jam, dilanjutkan dengan infiltrasi parafin. Jaringan kemudian ditanam dalam media parafin. Berikutnya dilakukan penyayatan dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil sayatan dilekatkan pada kaca objek, kemudian diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE).

c) Analisis kadar MDA hati (Iskandar *et al.* 2009)

Konsentrasi MDA pada organ hati diukur dengan metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) melalui pengukuran malondialdehida sebagai produk akhir oksidasi lipid. Prinsip metode ini MDA bila direaksikan dengan asam tiobarbiturat (thiobarbituric acid, TBA), akan membentuk senyawa berwarna merah muda yang menyerap cahaya pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terbentuk dapat menggambarkan proses peroksidasi lipid (Winarsi 2007).

C. HASIL PEKERJAAN

Penelitian pendahuluan sudah dilakukan dengan hasil yang cukup baik. Pelaksanaan penelitian telah dilakukan hingga 95%, dengan kekurangan uji MDA hati dikarenakan kekurangan biaya yang dibuthkan.

D. KETERCAPAIAN TARGET

1. Hasil penelitian yang telah dicapai adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Morfometrik buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

No	Parameter	Nilai
1	Panjang (cm)	34, 50 ± 0,10
2	Lebar (cm)	1,27 ± 0,01
3	Bobot (gr)	47,80 ± 0,05

Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak

Sampel	Rendemen Ekstrak (%)
Segar	5,75
Kering	11,20

Tabel 3. Hasil uji proksimat buah bakau (*Rhizophora mucronata*)

Parameter	Segar	Kering
Air	32.09	31.41
Abu	1.15	1.21
Lemak	0.86	0.77
Protein	2.65	4.07
Karbohidrat	63.25	62/54

Tabel 4. Analisis aktivitas antioksidan (pertama)

Sampel	Parameter	Hasil (ppm)	Teknik Analisis
Ekstrak segar 1		262,58	Spektrofotometri
Ekstrak kering 1	Antioksidan	> 300	
Ekstrak segar 2	IC ₅₀ - DPPH	< 50	
Ekstrak kering 2		83,79	
Vitamin C		4,81	

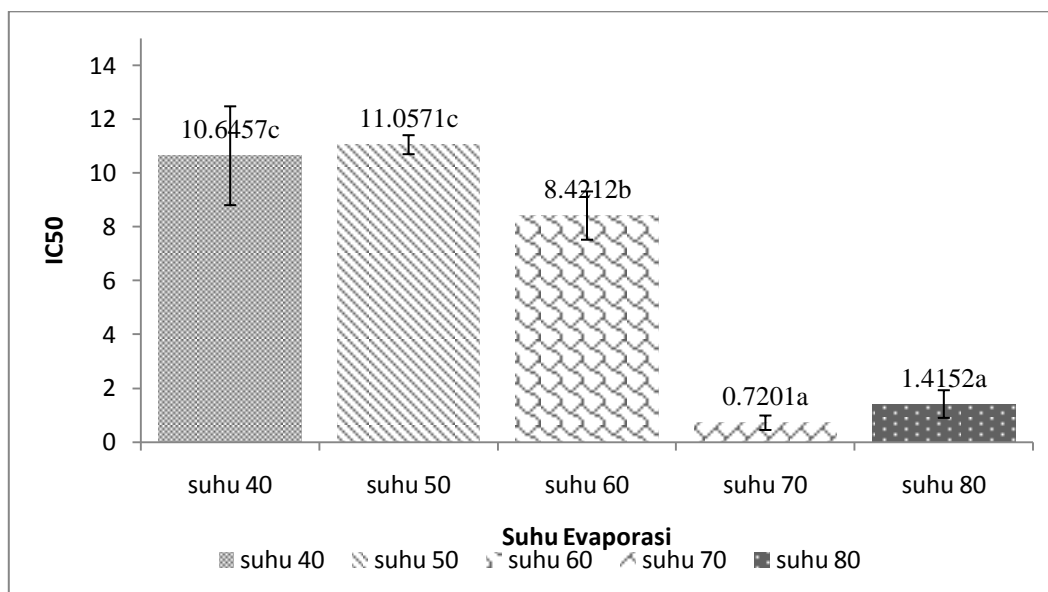
Tabel 5. Analisis aktivitas antioksidan (kedua)

Sampel (°C)	Parameter	Hasil (ppm)	Teknik analisis
Evaporasi 40		< 15,625	Spektrofotometri
Evaporasi 50	Antioksidan	< 15,625	
Evaporasi 60	IC ₅₀ - DPPH	< 15,625	
Evaporasi 70		< 15,625	

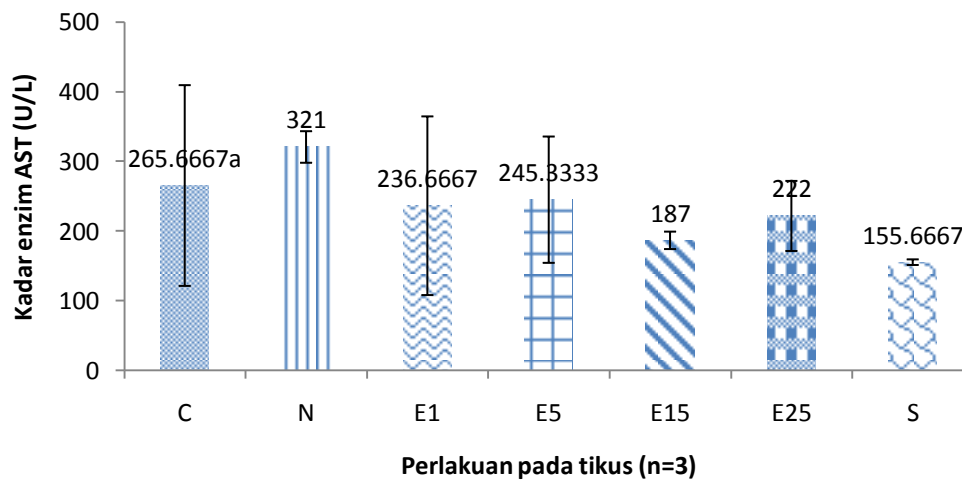
Evaporasi 80	< 15,625
--------------	----------

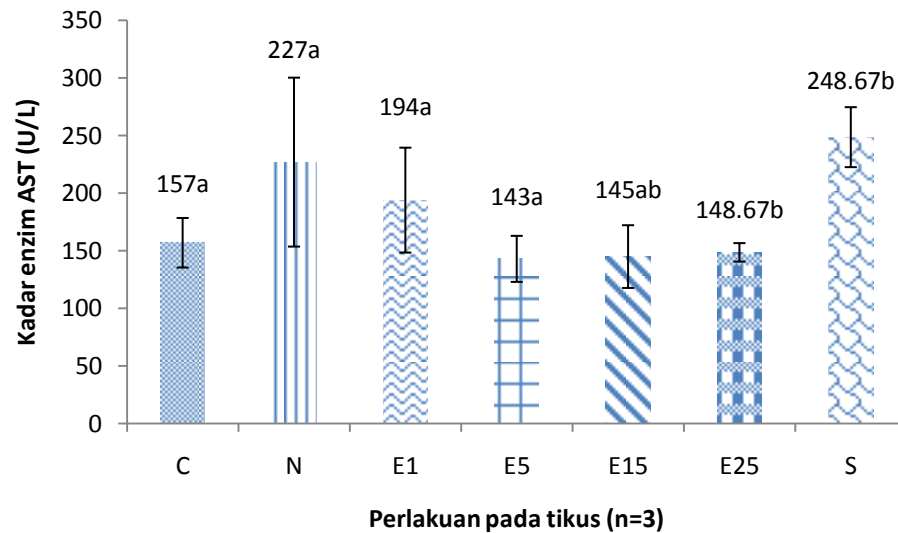
Tabel 6 Analisis aktivitas antioksidan (ketiga)

Sampel (°C)	Parameter	Hasil (ppm)	Teknik analisis
Evaporasi 40	Antioksidan IC ₅₀ - DPPH	10,646	Spektrofotometri
Evaporasi 50		11,057	
Evaporasi 60		8,241	
Evaporasi 70		0,729	
Evaporasi 80		1,415	

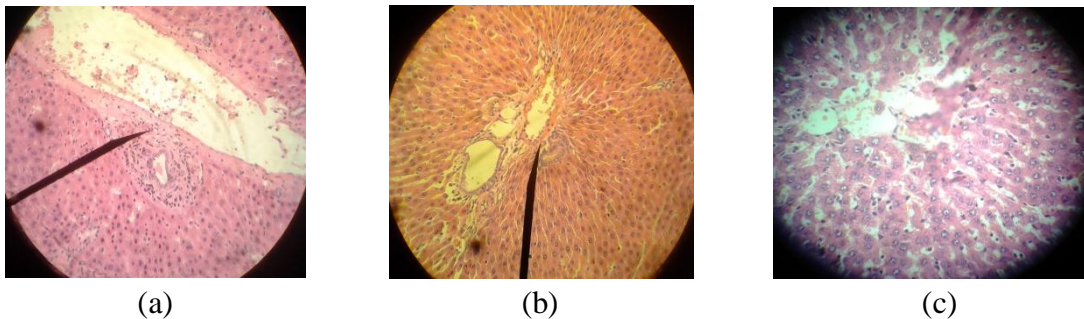


Gambar 2 Aktivitas antioksidan buah bakau





Gambar 3 Aktivitas enzim AST dan ALT pada serum darah tikus



Gambar 4 Gambaran jaringan hati tikus; (a) CCL4, (b) Normal, (c) Pemberian ekstrak 15 mg/kg BB tikus

2. Pembahasan

Penelitian ini terdiri dari dua bagian, yakni penelitian pendahuluan dan penelitian inti. Namun, sejauh ini penelitian yang sudah dilakukan masih dalam tahapan pada bagian penelitian pendahuluan. Penelitian pendahuluan meliputi preparasi dan karakterisasi sampel, ekstraksi, analisis aktivitas antioksidan, serta analisis fitokimia. Pada tahap preparasi dan karakterisasi sampel, didapatkan rendemen daging yang dapat dimanfaatkan sebesar 41,90%, hasil tersebut didapatkan dari perhitungan pada 30 sampel buah bakau yang digunakan, dengan panjang, lebar, dan bobor rata-rata berturut-turut sebesar $34,50 \pm 0,10$ cm, $1,27 \pm 0,01$ cm, dan $47,80 \pm 0,05$ gram.

Setelah dilakukan pengukuran morfometrik dari 30 sampel buah yang digunakan, selanjutnya sampel buah tersebut dibagi menjadi dua kelompok perlakuan, yakni perlakuan segar dan perlakuan kering. Dari hasil penelitian pada Tabel 3 didapatkan hasil uji proksimat pada masing-masing perlakuan sampel, dari hasil tersebut didapatkan hasil yang tidak terlalu berbeda pada kandungan kimia setiap sampel. Parameter kimia yang terlihat cukup berbeda yaitu protein. Kandungan protein pada sampel segar lebih besar dibandingkan dengan sampel kering, hal tersebut diduga disebabkan oleh denaturasi beberapa protein karena perlakuan panas (penejmur) pada sampel kering yang menyebabkan beberapa protein penyusunnya terdegradasi.

Tahapan penelitian selanjutnya membandingkan tingkat aktivitas antioksidan pada sampel segar dan kering. Sampel dengan perlakuan segar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari pada sampel perlakuan kering. Berdasarkan Tabel 4 perlakuan segar mendapatkan nilai IC_{50} sebesar < 50 ppm sedangkan perlakuan kering nilai IC_{50} yang didapat sebesar 83,79 ppm. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm (Molyneux 2004). Setelah diketahui bahwa aktivitas antioksidan terbaik terdapat pada sampel perlakuan segar, selanjutnya dilakukan analisis antioksidan lanjutan dengan perlakuan suhu evaporasi yang berbeda, yakni 40, 50, 60, 70, dan 80 °C. berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa masing-masing perlakuan mendapatkan nilai $IC_{50} < 15,625$ ppm. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan suhu evaporasi tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan pada sampel buah bakau (*Rhizophora mucronata*). Pengujian analisis antioksidan ketiga pada Tabel 6 bertujuan untuk mengetahui titik IC_{50} yang belum dapat diketahui pada pengujian antioksidan sebelumnya. Setelah dilakukan analisis antioksidan dengan perlakuan konsentrasi yang lebih rendah, didapatkan hasil IC_{50} terbaik yang terdapat pada sampel dengan perlakuan suhu evaporasi 70 °C yaitu sebesar 0.729 ppm. nilai tersebut lebih rendah dari pada Vitamin C yang hanya memiliki nilai IC_{50} sebesar 4,81. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah bakau *Rhizophora mucronata* mempunyai daya inhibisi yang lebih baik dari pada senyawa antioksidan alami standar yang biasa

digunakan. Dari hasil pengukuran enzim, didapatkan hasil terbaik pada pemberian ekstrak 15 mg/kg BB tikus dengan penurunan nilai enzim yang paling kecil. Hasil pengamatan jaringan histopatologi hati tikus pun dapat dilihat bahwa perbaikan sel hati paling baik terdapat pada perlakuan ekstrak 15 mg/kg BB tikus.

E. PERMASALAHAN DAN PENYELESAIAN

Beberapa permasalahan yang ditemui selama pelaksanaan kegiatan PKM ini adalah lamanya menunggu antrian untuk evaporasi sampel dan pengujian antioksidan di laboratorium yang kita percayakan yaitu Laboratorium Biofarmaka Bogor. Selebihnya masalah masih dapat dikendalikan dengan baik. Menurut Gianni (2005) kadar enzim AST dan ALT tersebut mencerminkan kerusakan yang terjadi pada sel-sel hati.

G. PENGGUNAAN BIAYA

No	Komponen Biaya	Volume	Satuan	Harga satuan (Rp)	Total (Rp)
1.	Transportasi Pengambilan Bahan Baku (Januari-April)	-	-	-	600.000
2.	Transportasi Pengambilan Bahan Baku (Maret)	-	-	-	200.000
3.	Transportasi Pengambilan Bahan Baku (April)	-	-	-	200.000
4.	Bahan Ekstraksi				
	a. Etanol	10	liter	50.000	500.000
	b. Evaporasi	4	kali	200.000	800.000
	c. Bahan pendukung	1	-	200.000	200.000
5.	Pengujian Analisis Antioksidan (DPPH)	3x Pengujian		510.000	1.530.000
6.	Pengujian Proksimat	2	sampel	100.000	200.000
7.	Pengujian Fitokmia	1	sampel	150.000	150.000
8.	Tikus	21	ekor	60.000	1.260.000
9.	Uji enzim AST ALT	21	sampel	60.000	1.260.000
10.	Uji Histopatologi	21	Sampel	80.000	1.680.000
11.	Biaya kandang & Paramedik	21	kandang	30.000	630.000
Total Biaya					9.210.000

LAMPIRAN

Gambar 3 Dokumentasi penelitian