

## UJI FITOKIMIA, TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BATANG BAKAU HITAM (*Rhizophora mucronata* Lam.)

Sitorus Anna Margarettha\*, Erwin dan Alimuddin

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Kalimantan Timur

Telp./Fax: +62541747974, Email: kimia@fmipa.unmul.ac.id

Corresponding author, email: Annamargarettha10@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian tentang uji fitokimia, toksisitas dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar batang bakau hitam (*Rhizophora mucronata* Lam.) telah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit, dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar metanol. Metode yang digunakan diantaranya uji fitokimia dilakukan dengan uji warna, uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak kasar batang bakau hitam mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan triterpenoid. Pada hasil uji toksisitas dari ekstrak kasar metanol memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 420,9017 ppm dan hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar metanol memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 119,432 ppm. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan ekstrak kasar metanol dengan nilai  $LC_{50}$  memiliki tingkat toksisitas yang toksik dan nilai  $IC_{50}$  memiliki kekuatan aktivitas antioksidan sedang.

**Kata Kunci :** *Rhizophora mucronata* Lam., *Metabolit Sekunder*, *Brine Shrimp Lethality Test*, *Antioksidan*, *DPPH*.

### PENDAHULUAN

Hutan Indonesia termasuk dalam 8 negara biodiversiti di dunia. Hutan Indonesia merupakan kekayaan alam yang memiliki peran besar sebagai penghasil oksigen dan air. Hutan Indonesia juga tersebar sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai obat-obatan. Tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat di Indonesia salah satunya adalah tanaman Bakau<sup>[1]</sup>.

Tanaman Bakau umumnya dapat ditemukan pada kawasan pesisir pantai Indonesia dengan wilayah perairannya yang sangat luas (2/3 dari luas wilayah). Negara Indonesia memiliki hutan bakau terluas di dunia, dengan luas sekitar 3,5 juta hektar, serta terdapat 202 jenis spesies bakau di Indonesia telah teridentifikasi dan tumbuh dengan subur yang memiliki potensi kandungan bioaktif yang sangat tinggi<sup>[16]</sup>.

Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa tanaman bakau hitam (*Rhizophora mucronata* Lam.) yang terdapat di Indonesia memiliki senyawa golongan metabolit sekunder alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin yang dimana senyawa tersebut bertindak sebagai pencegah virus, pencegah inflamasi, antioksidan dan antibakteri, sebagai agen pertahanan atau perlindungan diri<sup>[18]</sup>. *Rhizophora mucronata* Lam

dapat digunakan sebagai antioksidan penangkal radikal bebas dan bermanfaat dalam proses penyembuhan penyakit kulit, borok, disentri, obat gatal dan hepatitis<sup>[7]</sup>.

Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak pekat metanol daun  $IC_{50}$  sebesar 113,41  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[11]</sup> dan kulit batang aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang bakau hitam dengan  $IC_{50}$  sebesar 59,63  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan pada pelarut air sebesar 110,85  $\mu\text{g/mL}$ , sehingga menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan sedang serta dapat digunakan sebagai sumber antioksidan<sup>[21]</sup>. Selain itu pada uji toksisitas dengan nilai  $LC_{50}$  ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata* mematikan benih ikan mas sebesar 39,30  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan tingkat toksisitas yang toksik<sup>[10]</sup>.

Berdasarkan pada latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mencari informasi lebih dalam mengenai tanaman bakau hitam (*Rhizophora mucronata* Lam.) khususnya bagian batang untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam batang bakau hitam dengan menggunakan uji fitokimia, uji toksisitas untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dan untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak kasar metanol dengan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: seperangkat alat kaca, *rotary evaporator*, spektrofotometer Uv-Vis, tabung reaksi, pipet mikro, labu takar dan pipet volume.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: batang Rambai, pelarut metanol, pelarut *n*-heksana, pelarut etil asetat, larutan  $H_2SO_{4(p)}$ , larutan  $HCl_{(p)}$ , serbuk Mg, larutan  $HCl_{(p)}$ , larutan  $HNO_{3(p)}$ , larutan  $FeCl_3$  1%, larutan  $H_2SO_4$  1M, pereaksi Dragendorff, larutan asam asetat *glacial*, akuades, DPPH dan vitamin C.

### Prosedur Penelitian

#### Ekstraksi

Sampel batang bakau hitam (*Rhizophora mucronata* Lam.) dihaluskan kemudian ditimbang dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Hasil maserasi dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol.

#### Uji Fitokimia

##### Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak tersebut kemudian ditambahkan dengan asam asetat ( $CH_3COOH$ ) *glacial* dan  $H_2SO_{4(p)}$  secara perlahan melalui dinding tabung dan diamati. Hasil uji positif triterpenoid akan terbentuk warna ungu atau jingga dan hasil uji positif dari steroid akan terbentuk warna hijau atau biru.

##### Uji Alkaloid

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol, kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes  $H_2SO_4$  1M dan dihomogenkan, selanjutnya ditambahkan beberapa tetes pereaksi Dragendorff. Hasil uji positif dari alkaloid terbentuknya endapan berwarna jingga sampai merah coklat.

##### Uji Fenolik

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol, kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes larutan  $FeCl_3$  1%. Hasil positif adanya senyawa fenol, ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

### Uji Flavonoid

Ekstrak pekat metanol dilarutkan menggunakan pelarut metanol, kemudian larutan ditambahkan dengan sedikit serbuk Mg dan beberapa tetes  $HCl_{(p)}$  lalu dihomogenkan. Hasil positif adanya flavonoid, ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah tua, kuning, atau jingga.

### Uji Saponin

Ekstrak pekat metanol ditambahkan akuades panas dan dikocok dengan kuat. Apabila timbul busa, tambahkan beberapa tetes larutan  $HCl_{(p)}$ . Jika busa yang dihasilkan stabil selama 15 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

### Uji Toksisitas

Uji toksisitas dapat dilakukan dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji ini dilakukan dengan menggunakan larva *A. salina* L. sebanyak  $\pm 10$  mg ditambahkan 100 mL air laut yang telah disaring. Dilakukan pencahayaan dengan lampu TL pada telur udang selama 24-48 jam hingga udang menetas dan kemudian dapat dilakukan uji coba<sup>[11]</sup>.

Untuk ekstrak kasar metanol batang bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) Lam. Ditimbang sebanyak 1 mg lalu dilarutkan dengan menggunakan DMSO 1% (dimetil sulfoksida) sebanyak 100  $\mu$ L dan dihomogenkan. Sampel yang telah ditambahkan DMSO 1 % kemudian diencerkan dengan pelarut akuades sebanyak 150  $\mu$ L hingga didapatkan konsentrasi sampel 1000 ppm. Kemudian dibuat dari pengenceran sampel konsentrasi 1000 ppm menjadi 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,2 ppm; 15,6 ppm; 7,8 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan perlakuan yang sama seperti sampel tanpa penambahan ekstrak<sup>[11]</sup>.

Pengujian efek toksisitas dilakukan menggunakan plat mikro standar meletakkan sampel dan larutan kontrol. Pada plat ditambahkan 100  $\mu$ L air laut yang berisi 8-13 larva udang ke dalam masing-masing sampel yang telah diencerkan. Hitung jumlah udang yang mati setelah 24 jam. Setiap sampel diberi perlakuan secara triplo. Data yang diperoleh dianalisa untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  menggunakan analisa probit SAS<sup>[11]</sup>.

Teknik analisa data yang digunakan untuk uji mortalitas larva udang yaitu berdasarkan nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration* 50%) yang dapat mengakibatkan kematian larva udang sampai 50% selama 24 jam ( $LC_{50}$  dalam unit waktu). Dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total awal}} \times 100\%$$

Selanjutnya ditentukan dengan Analisa Probit (*Probability Unit*) menggunakan program SAS (*Statistical Analysis System*).

### Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Larutan DPPH dibuat dengan cara menimbang DPPH dan dilarutkan dalam metanol tepat pada konsentrasi 0,024mg/mL.

Pada ekstrak pekat metanol ditimbang 25 mg kemudian dilarutkan dengan metanol dalam 50 mL menggunakan labu takar didapatkan ekstrak kasar metanol dengan konsentrasi 500 ppm. Ekstrak pekat metanol 500 ppm diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80 ppm dengan menggunakan pipet mikro.

Untuk pembandingan digunakan vitamin C ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan metanol sampai volumenya 100 mL menggunakan labu takar, sehingga diperoleh larutan induk vitamin C dengan konsentrasi 100 ppm, kemudian dilakukan pengenceran hingga diperoleh variasi konsentrasi 2, 4, 6 dan 8 ppm dengan menggunakan pipet mikro. Selanjutnya masing-masing konsentrasi ekstrak pekat metanol dan vitamin C dipipet sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,024 mg/mL lalu dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm, pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali.

Aktivitas Antioksidan ditentukan berdasarkan persentase daya hambat radikal bebas. Analisa kuantitatif terhadap aktivitas penghambat radikal atau DPPH dilakukan dengan menggunakan rumus

$$\% \text{ AA} = \frac{\text{AB} - \text{AS}}{\text{AB}} \times 100\%$$

Keterangan:

AB : Absorbansi kontrol negatif ( metanol + DPPH)

AS : Absorbansi sampel

Selanjutnya ditentukan kurva regresi linear diantara konsentrasi sampel serta persen penghambatan rata-rata. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai

konsentrasi penghambatan ( $IC_{50}$ ) yang diperoleh dari persamaan  $y = ax + b$  pada kurva regresi linear hubungan konsentrasi (x) dan persentase peredaman (y).

Pengujian ini bertujuan untuk mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan yang ditunjukkan melalui dekolorisasi warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning dan terjadi penurunan nilai absorbansi ekstrak terhadap kontrol. Jika terdapat indikasi tersebut maka dinyatakan bahwa telah terjadi penghambatan ekstrak terhadap radikal DPPH yang berarti ekstrak memiliki potensi antioksidan karena mampu menghambat kerja radikal bebas.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kasar metanol dapat diketahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada **Tabel 1** berikut ini:

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia ekstrak kasar metanol batang bakau hitam (*Rhizophora mucronata* Lam.)

Jenis Senyawa	Ekstrak kasar Metanol
Alkaloid	+
Fenolik	+
Flavonoid	+
Saponin	-
Steroid	-
Triterpenoid	+

Ket : (+) Positif mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) Negatif mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar metanol batang bakau hitam diperoleh hasil positif terhadap fenolik, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid. Pada uji alkaloid digunakan pereaksi Dragendorff, hasil uji positifnya ditandai dengan terbentuknya endapan merah jingga<sup>[19]</sup>. Endapan yang terbentuk merupakan endapan kalium-alkaloid karena atom nitrogen yang berada pada struktur alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan  $K^+$  yang merupakan ion logam<sup>[8]</sup>. Pada uji fenolik, hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru<sup>[17]</sup>. Ciri khas dari fenolik yaitu membentuk kompleks dengan pewarnaan biru atau biru ungu dengan besi (III) klorida. Kompleks yang terbentuk diduga berupa besi (III) heksafenolat,

sehingga uji ini memberikan indikasi gugus OH aromatik.

Pada uji flavonoid, hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [8]. Perubahan warna terjadi akibat hidrolisis senyawa flavonoid oleh HCl pekat membentuk garam flavilium. Selanjutnya dengan penambahan serbuk Mg membentuk buih yang menandakan terjadinya reaksi reduksi-oksidasi, dimana flavonoid mengalami reduksi dan Mg teroksidasi menjadi  $Mg^{2+}$ . Reaksi yang terjadi berdasarkan metode Willstater Cyanidin.

Jika pada uji senyawa steroid dan triterpenoid direaksikan dengan pereaksi *Lieberman-Buchard*, menghasilkan awal warna larutan hijau, yang didiamkan kemudian berubah warna menjadi ungu maka positif senyawa metabolit sekunder steroid dan triterpenoid. Apabila yang terjadi perubahan warna merah keunguan atau membentuk cincin coklat maka positif senyawa triterpenoid [3].

### Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) terhadap larva udang (*A. salina* Leach) dapat digunakan sebagai uji uji pendahuluan yang cepat dan sederhana untuk menentukan potensi bioaktivitas dari suatu ekstrak [2]. Kisaran konsentrasi yang dapat memberikan efek toksik yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50% pada konsentrasi < 1000 ppm dari jumlah hewan uji disebut sebagai  $LC_{50}$  [13]. Jumlah larva udang yang mati dihitung dan dianalisis menggunakan program analisis probit (*Probability Unit*) SAS (*Statistical Analysis System*) untuk menentukan

nilai  $LC_{50}$  [9]. Pada penelitian ini menggunakan larva udang (*A. salina* Leach) sebanyak 8-13 ekor pada setiap kolom uji yang ditambahkan ekstrak kasar metanol bakau hitam. Larva yang digunakan berumur 24-48 jam, karena kondisi larva yang tepat untuk uji hayati yaitu pada usia tersebut, dimana anggota tubuh larva sudah lengkap [14].

Setiap sampel dilakukan percobaan dalam tiga kali pengulangan dengan konsentrasi 1000 ppm; 500 ppm, 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,2 ppm; 15,6 ppm dan 7,8 ppm [15].

Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan analisis probit SAS terhadap ekstrak kasar metanol bakau hitam dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) didapatkan nilai  $LC_{50}$  sebesar 420,9017 ppm. Hasil nilai  $LC_{50}$  dapat menunjukkan potensi bioktivitas dan menentukan suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian organisme sampai 50% pada konsentrasi < 1000 ppm dan dikatakan tidak toksik apabila nilai  $LC_{50}$  > 1000 ppm. Apabila nilai  $LC_{50}$  < 30 ppm maka ekstrak sangat toksik dan berpotensi sebagai antikanker [15].

### Uji Aktivitas Antioksidan

Pada penelitian aktivitas antioksidan ekstrak kasar metanol Bakau Hitam ditentukan dengan metode DPPH. Metode ini digunakan karena sederhana, efisien, cepat, lebih praktis, dan relatif murah [5].

Adapun data uji yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH untuk ekstrak kasar metanol bakau hitam dan vitamin C dapat dilihat pada tabel 2 dan 3 berikut ini :

**Tabel 2.** Persen peredaman radikal DPPH (%AA) dari ekstrak kasar metanol pada berbagai konsentrasi

Sampel	Konsentrasi			
	20 ppm	40 ppm	60 ppm	80 ppm
Ekstrak kasar metanol	20,7547%	24,9056 %	32,8301%	32,8301%

**Tabel 3.** Persen peredaman radikal DPPH (%AA) dari Vitamin C pada berbagai konsentrasi

Sampel	Konsentrasi			
	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm
Vitamin C	16,9811%	36,9812%	57,3584 %	73,5849 %

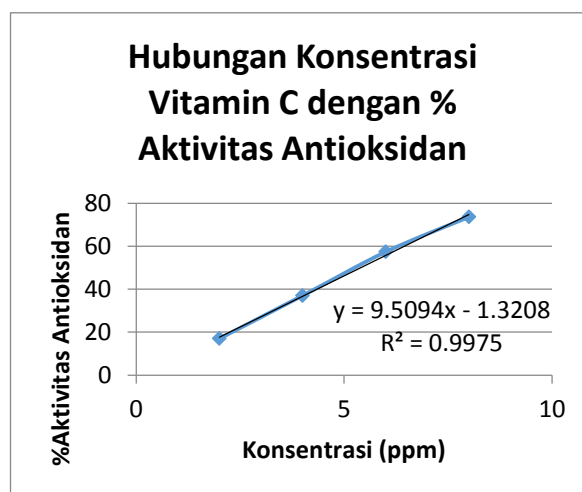
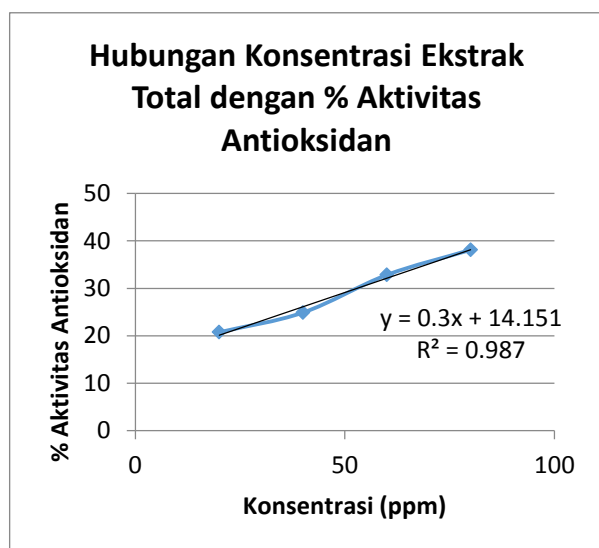
Berdasarkan hasil data tersebut maka grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar metanol dan vitamin C terhadap peredaman radikal DPPH (%AA) disajikan pada gambar 1.

Besarnya nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak kasar metanol dan vitamin C sebagai pembanding dapat diketahui dari persamaan regresi linier sederhana pada grafik di atas. Nilai  $IC_{50}$  untuk ekstrak kasar

metanol diperoleh 119,4967 ppm dan pada vitamin C diperoleh 5,3964 ppm. Prinsip uji antioksidan dengan metode DPPH ini adalah pada perubahan intensitas warna ungu pada DPPH yang berbanding lurus dengan konsentrasi DPPH yang tersisa setelah direaksikan dengan senyawa antioksidan. Perubahan intensitas warna ini dapat terjadi akibat dari terjadinya peredaman radikal

bebas DPPH. Dimana posisi dari elektron bebas pada DPPH akan berikatan dengan atom hidrogen yang kemudian dilepaskan oleh senyawa antioksidan sehingga mengakibatkan intensitas warna ungu DPPH berkurang dan berubah warna menjadi kuning. Perubahan warna ini akan menyebabkan terjadinya perubahan absorbansi dari larutan saat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum DPPH [4]. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH adalah nilai IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50 %. Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan

hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal. Nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> < 30, kuat apabila nilai IC<sub>50</sub> antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> antara 101-150 ppm dan lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> lebih dari 151 ppm [5]. Berdasarkan klasifikasi tersebut maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar metanol batang bakau hitam memiliki potensi sebagai antioksidan sedang karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang berada dalam rentang 101-150 ppm yaitu diperoleh nilai IC<sub>50</sub> sebesar 119,4967 ppm.



**Gambar 1.** Kurva hubungan antara %AA terhadap ekstrak kasar metanol dan vitamin C sebagai pembanding

Untuk ekstrak kasar metanol mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid dikenal memiliki sifat antioksidan. Senyawa antioksidan menjalankan aktivitas mereka melalui berbeda mekanisme, misalnya dengan menghambat abstraksi hidrogen, pemulungan radikal, mengikat ion logam transisi, disintegrasi peroksida dan salah satu faktor terpenting yang memengaruhi aktivitas antioksidan adalah kemampuan senyawa untuk menyumbang elektron [6]. Jika ditinjau berdasarkan pada uji fitokimia pada ekstrak kasar metanol terdapat flavonoid dan fenolik. Flavonoid merupakan senyawa peereduksi yang baik dalam menghambat reaksi oksidasi baik enzim maupun non enzim dan bertindak pula sebagai penampung radikal yang baik hidroksi dan superoksida [18]. Hal ini dikarenakan pada senyawa flavonoid mengandung gugus hidroksil yang dapat menyumbangkan atom hidrogen pada radikal

bebas (DPPH) sehingga menetralkan radikal bebas tersebut dengan cara menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk memiliki pasangan elektron [22].

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia terdapat beberapa jenis metabolit sekunder pada ekstrak kasar metanol batang bakau hitam yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik dan triterpenoid. Hasil uji toksisitas dari ekstrak kasar metanol memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 420,9017 ppm dan hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar metanol memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 119,4967 ppm. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan ekstrak kasar metanol dengan nilai LC<sub>50</sub> memiliki tingkat toksisitas yang toksik dan nilai IC<sub>50</sub> memiliki kekuatan aktivitas antioksidan sedang.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: Penerbit ITB 29-34.
- [2] Anita, Djihan, R, P dan Erwin. 2018. Uji Fitokimia dan Toksisitas Akar Merung (*Coptosapelta tomentosa* (Blume)). *Jurnal Atomik* 03(2), 79-82.
- [3] Diastri, W, R, D, Erwin dan Winni, A. 2018. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT Ekstrak Kasar Kulit Batang Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Kimia* 27-30, ISBN 978 602 50942 1 7.
- [4] Erwin, Nissa, R, A. dan Daniel. 2015. Uji Fitokimia Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) Dengan Metode DPPH. *Indonesia Chimica Acta* 8 (1), 52-59.
- [5] Erwin, Dwi, F, S., dan C, Saleh. 2013. Uji Toksisitas dan Penentuan Antioksidan dengan Metode DPPH dari Metabolit Sekunder Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol-Air Daun Sisik Naga (*Drymogiossum piloselloides* [Linn.]Pr.). *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Kimia* 52-58, ISBN : 978-602-19421-0-9.
- [6] Erwin, Widar, R.P., Indah P,S., dan Rita, H. 2018. Phytochemical and Antioxidant Activity Evaluation of The Bark of Tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*). *Journal F1000 Research* 7:1977 1 – 9.
- [7] Henny, Farah, D dan Sofwan, A. 2017. Tumbuhan Mangrove yang Berpotensi Sebagai Obat Di Kawasan PT. Kandelia Alam Kecamatan Kubu Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Hutan Lestari* 5 (4), 1100 – 1110.
- [8] Harborne, J. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB.
- [9] Jayanti, N.W., Astuti, M.D., Komari, N dan Rosyidah, K. 2012. Isolasi dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* (L) Willd). *Journal Chemistry Prog* 5 (2).
- [10] Mardiah, A, Dwi S dan Esrita. 2015. Efektivitas Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Sebagai Antibakteri untuk Mencegah Perkembangan Bakteri *Edwardsiella tarda* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Universitas Sumatra Utara. Medan. *Jurnal Manajemen Sumberdaya Perairan* (2).
- [11] Maulidya, H, F, Erwin dan Irawan. 2017. Uji Fitokimia, Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) serta Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Terap (*Artocarpus elaticus reinw*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Kimia* 74-78 ISBN : 978-602-50942-0-0
- [12] McLaughlin, J.L and Rogers, L.L. 1998. The Use Of Biological Assays To Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*. 32 (73) 513-524
- [13] Meyer BN, Ferrighi NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE and McLaughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica* 45, 31-34.
- [14] Molyneux, P. 2004. The Use of The Stabil Free Radical Diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journal of science technology* 26, 211-219.
- [15] Muaja, A.D. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Ananlisis Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.) dengan Metode Soxhletasi. Skripsi. FMIPA UNSRAT, Manado.
- [16] Noor YR, Khazali M, Suryadiputra INN. 2006. Panduan Pengenalan Mangrove diIndonesia. *Wetlands International-Indonesia Programme*. Bogor: Ditjen PHKA.
- [17] Putranti, R.I. (2013). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargasum duplicatum* dan *Turbinara ornata* dari Jepara. Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Semarang.
- [18] Rio Gunawan, Erwin dan Safrizal. 2018. Uji Fitokimia dan Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Madu *Trigoa incisa*. *Jurnal Atomik*, 03 (1) 18-21.
- [19] Ridlo. A, Rini. P, Koesoemadji, Endang. S dan Nirwani. S. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Buletin. Oseanografi Marina*, 6 (2), 110–116.
- [20] Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung: ITB.
- [21] Selvasundhari L, Babu V, Jenifer V, Jeyasudha S, Thiruneelakandan G, Sivakami R dan Anthoni SA. 2014. “In

vitro antioxidant activity of bark extracts of  
Rhizophora mucronata” *Science  
Technology and Arts Research Journal*.  
3(1), 21-25.

- [22] Supomo, Samsyul, E, S, Apriliana, A, Saleh, C, Erwin dan Lestari, D. 2019. Antioxidant Assay Of Dayak Onion (Eleutherine palmifolia) Via DDPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) And BSLT Test For Its Active Fraction. *Jurnal Rasayan J.Chem* 12(3), 1340-1346.