

## PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK PROPOLIS *Heterotrigona itama* DAN DAUN *Sonneratia caseolaris* TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Muhammad Bayu Radityo, Paula Mariana Kustiawan

Faculty of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur

Jl. Ir. H. Juanda No.15, Sidodadi, Kec. Samarinda Ulu, Kota Samarinda, Kalimantan Timur 75124

\*Email: pmk195@umkt.ac.id

Received: 16/02/2025, Revised: 15/07/2025, Accepted: 12/08/2025, Published: 31/08/2025

### ABSTRAK

Radikal bebas adalah molekul reaktif yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan dapat merusak jaringan tubuh seperti protein dan DNA. Antioksidan yang ditemukan di alam berperan dalam menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan tersebut. Bahan alam propolis *Heterotrigona itama* dan daun *Sonneratia caseolaris* diketahui mengandung senyawa antioksidan alami. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari kombinasi ekstrak *H. itama* propolis dan daun *S. caseolaris* menggunakan metode DPPH. Hasil pengujian antioksidan menunjukkan bahwa variasi kombinasi ekstrak *H. itama* propolis (EP) dan daun *S. caseolaris* (ESC) rasio 1:1 (IC<sub>50</sub> 56,6 ppm), 2:1 (IC<sub>50</sub> 71,5 ppm), 0:1 (IC<sub>50</sub> 50,36 ppm), dan 1:0 (IC<sub>50</sub> 73,13 ppm). Sedangkan rasio 1:2 memiliki nilai IC<sub>50</sub> 35,1 ppm dan kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat dibandingkan variasi kombinasi ekstrak lainnya. Hal ini menunjukkan kombinasi ekstrak tersebut dapat bersinergi dalam meningkatkan aktivitas antioksidan.

**Kata kunci** : Antioksidan, Lebah kelulut, Propolis, Sinergisme, *Sonneratia caseolaris*.

### ABSTRACT

Free radicals are reactive molecules that contain one or more unpaired electrons and can damage body tissues such as proteins and DNA. Antioxidants found in nature play a role in neutralizing free radicals and preventing such damage. Natural products such as *Heterotrigona itama* propolis and *Sonneratia caseolaris* leaves are known to contain antioxidant compounds. This study was conducted to evaluate the antioxidant activity of a combination of *H. itama* propolis and *S. caseolaris* leaves extracts using the DPPH method. The antioxidant activity determination showed that the IC<sub>50</sub> values of the combination of *H. itama* propolis (EP) and *S. caseolaris* leaves extract (ESC) at ratios of 1:1, 2:1, 0:1, and 1:0 was 56.6 ppm, 71.5 ppm, 50.36 ppm, and 73.13 ppm, respectively. Meanwhile, the 1:2 ratio yielded the lowest IC<sub>50</sub> value of 35.1 ppm, indicating very strong antioxidant activity compared to the other combinations. These findings suggest that the combination of extracts may work synergistically to enhance antioxidant activity.

**Keywords**: Antioxidant, Propolis, *Sonneratia caseolaris*, Stingless bee, Synergism

### PENDAHULUAN

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih

elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain

dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, proses penuaan dini, bahkan kanker (Abdulrahman et al., 2021; Handayani, 2022). Antioksidan adalah salah satu upaya menangkal radikal bebas yang mencegah oksidasi dengan cara menstabilkan radikal bebas reaktif menjadi tidak reaktif. Asam fenolik, flavonoid, polifenol, karoten, vitamin C, vitamin E, dan likopen adalah contoh senyawa organik yang mampu menghambat radikal bebas (Anggreni et al., 2023). Antioksidan ada dalam tumbuhan secara alami. Salah satu contohnya adalah tumbuhan yang ditemukan di hutan tropis Indonesia. Di antara 40.000 jenis di dunia, Indonesia memiliki 30.000 spesies. dan menampung 80% dari tanaman obat dunia, dengan 28.000 tanaman dan 1.000 spesies yang digunakan sebagai tanaman obat. Sekitar 74% dari hutan ini masih tumbuh liar (Anastasia, 2017). Tubuh manusia dapat mengendalikan radikal bebas dengan bantuan antioksidan dan bisa ditemukan di tumbuhan *Sonneratia caseolaris* atau daun Pidada Merah.

*Sonneratia caseolaris* atau pidada merah adalah tanaman mangrove yang

biasanya digunakan sebagai obat tradisional. Pidada merah biasa juga disebut sebagai rambai Sungai atau rambai laut oleh warga Kalimantan dan buahnya biasanya digunakan sebagai obat, terutama di Kalimantan Selatan. Daun Pidada merah mengandung senyawa tanin dan terpenoid (Manuhutu et al., 2021).

Lebah kelulut merupakan salah satu spesies lebah penghasil madu anggota Famili Meliponidae Genus Trigona yang tidak memiliki sengat (Kustiawan et al., 2023). Propolis adalah suatu zat resin yang terbuat dari serbuk sari dan nektar yang telah dikumpulkan oleh lebah dan digunakan sebagai lem atau perekat sarang dan memiliki aktivitas antioksidan. Polifenol propolis adalah sumber kekuatan antioksidannya karena polifenol dikenal sebagai salah satu senyawa antioksidan alami yang berperan sebagai pendonor atom hidrogen yang mekanismenya mampu menghambat oksidasi radikal bebas (Kustiawan et al., 2024).

Menurut penelitian Amalia et al., (2023), aktivitas antioksidan total lebih tinggi daripada aktivitas tunggal, sehingga dilakukan kombinasi ekstrak untuk memperkuat aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan ini dikenal sebagai efek sinergisme dimana mekanisme singkatnya adalah disaat sebuah senyawa sudah

mendonorkan ion elektron pada radikal bebas, maka senyawa tersebut sudah tidak lagi bersifat antioksidan namun dengan kombinasi senyawa diharapkan senyawa pendonor memiliki aktivitas antioksidan lebih lama dan lebih baik (Zhang et al., 2025).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antioksidan dari kombinasi ekstrak propolis *H. itama* dan daun *S. caseolaris* menggunakan variasi rasio sehingga memungkinkan untuk menentukan rasio mana yang memiliki efek antioksidan paling baik.

## **METODE PENELITIAN**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun *Sonneratia caseolaris* yang telah diidentifikasi sebelumnya di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis dengan nomor 09/UN17.4.08/LL/2024. Sedangkan propolis jenis *Heterotrigona itama* didapatkan dari peternak sahabat lebah kelulut, Lempake, Samarinda. Bahan lain yang digunakan meliputi Aquadest, Etanol 96%, HCl, NaOH 10%, FeCl<sub>3</sub>, Metanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan DPPH.

### **Jalannya Penelitian**

#### **1. Penyiapan sampel**

Simplisia daun *Sonneratia caseolaris* 200 gr yang telah diperoleh dilakukan

ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 3x24 jam sesekali diaduk. Kemudian untuk ekstrak propolis didapatkan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Setelah itu, masing-masing ekstrak dilakukan penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental (Kustiawan et al., 2022)

#### **2. Evaluasi ekstrak**

Rendemen bertujuan untuk membandingkan ekstrak yang didapat dari simplisia awal. %Rendemen = Berat ekstrak yang diperoleh: Berat simplisia yang diperoleh x 100%. Uji Skrining fitokimia menggunakan metode penelitian Aziz et al., (2021) dengan sedikit modifikasi karena pada penelitian ini menggunakan kombinasi dari dua ekstrak.

#### **3. Uji aktivitas antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan pembuatan larutan DPPH. Stok DPPH dibuat dengan menimbang 5 mg DPPH lalu dihomogenkan dalam labu ukur 50 mL menggunakan metanol p.a hingga tanda batas lalu disimpan di tempat tidak terkena cahaya. Setelah itu, pembuatan larutan uji sampel dengan menggunakan Ekstrak dari daun *S. caseolaris* dan Propolis lebah kelulut *H. itama* ditimbang sebanyak rasio yang dibutuhkan, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL.

Kemudian tambahkan metanol p.a sehingga diperoleh beberapa konsentrasi larutan uji pada 5; 10; 20; 40; 100; 200 ppm. Kemudian, dilakukan pembuatan larutan pembanding Vitamin C dengan cara ditimbang sebanyak 5 mg Vitamin C dilarutkan dalam metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, metanol PA digunakan untuk meningkatkan volume sampai tanda batas. Selanjutnya, larutan ditambahkan dengan metanol PA hingga diperoleh konsentrasi ppm masing-masing 1, 2, 4, 6, dan 8.

### Analisis Data

Penentuan aktivitas antioksidan ditentukan dari berapa hambatan serapan radikal DPPH dengan perhitungan % inhibisi serapan DPPH dengan rumus :

$$\% \text{Antioksidan} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak kombinasi dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi ekstrak kombinasi sebagai sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai sumbu Y dari persamaan:  $y = ax + b$ .

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari perhitungan rendemen bahwa ekstrak daun *Sonneratia caseolaris* menghasilkan rendemen sebesar 16%. Uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak *Sonneratia caseolaris* mengandung positif terpenoid dan

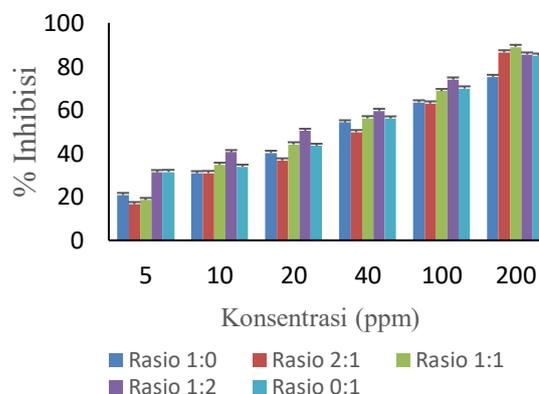
tanin. Sedangkan hasil positif dari propolis lebah kelulut mengandung flavonoid dan fenolik. Untuk kombinasi dari kedua ekstrak diketahui mengandung positif flavonoid, fenolik, terpenoid dan tanin (Tabel 1).

Metabolit sekunder kombinasi kedua jenis ekstrak tersebut menunjukkan variasi metabolit sekunder yang lebih banyak daripada ekstrak tunggal. Hal ini dapat mempengaruhi kinerja bioaktivitasnya.

**Tabel 1.** Hasil uji metabolit sekunder ekstrak

Metabolit sekunder	Daun <i>S. caseolaris</i>	Propolis <i>H. itama</i>	Kombinasi
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	-	+	+
Fenolik	-	+	+
Terpenoid	+	-	+
Tanin	+	-	+
Saponin	-	-	-

Hasil pengujian antioksidan dari kombinasi ekstrak tersebut dengan lima perbandingan dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi *H. itama* propolis dan daun *S. caseolaris*

Berdasarkan aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak daun *Sonneratia caseolaris* (0:1) adalah  $50,4 \pm 0,368$  ppm dan oleh ekstrak dari Propolis lebah kelulut (1:0) adalah  $73,1 \pm 1,141$  ppm. Kombinasi ekstrak dengan rasio (2:1), (1:1) dan (1:2) adalah  $50,4 \pm 0,368$  ppm,  $56,6 \pm 0,159$  ppm dan  $35,1 \pm 0,103$  ppm. Nilai  $IC_{50}$  dari kombinasi (2:1) dan (1:1) masuk ke dalam kategori antioksidan kuat, sedangkan rasio (1:2) masuk ke dalam kategori antioksidan kuat (Tabel 2). Hasil tersebut sesuai dengan referensi Rahayu & Wulandari (2025) yang menyatakan bahwa semakin rendah nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas antioksidan.

**Tabel 2.** Nilai  $IC_{50}$  kombinasi ekstrak propolis *H. itama* (EP) dan daun *S. scholaris* (ESC)

EP : ESC	$IC_{50}$ (ppm)	Kategori
1:0	$73,1 \pm 1,141$	kuat
2:1	$71,5 \pm 0,141$	kuat
1:1	$56,6 \pm 0,159$	kuat
1:2	$35,1 \pm 0,103$	sangat kuat
0:1	$50,4 \pm 0,368$	kuat
Asam askorbat (Kontrol positif)	$3,75 \pm 0,004$	sangat kuat

Uji metabolit sekunder berhasil mengidentifikasi beberapa senyawa yang terkandung didalam kedua ekstrak, pada daun *S. caseolaris* terdapat senyawa terpenoid dan tanin dimana kedua senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menghambat radikal bebas (Wijaya

et al., 2018). Terpenoid bekerja sebagai antioksidan dengan mekanisme kerja antioksidan primer yaitu mampu mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Senyawa tanin bekerja sebagai antioksidan sekunder dengan menghentikan pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat logam besi. Tanin dapat menekan proses peroksidasi lipid sehingga mencegah terjadinya hiperkolestrolema (Prasetyo et al., 2021).

Senyawa yang terkandung didalam propolis *H. itama* teridentifikasi memiliki flavonoid dan fenolik dimana keduanya memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid dapat menghambat *Nicotinamida Adenise Dinucleotida Phosphale* (NADPH) oskidase lewat penghambatan ACE, peningkatan eNOS-spesifik dan juga mengubah ekspresi siklooksigenase-2 sehingga flavonoid memiliki aktivitas antioksidan (Ahmed et al., 2017; Yanti & Kustiawan, 2023). Mekanisme yang terjadi dengan melepas hidrogen, senyawa fenolik dikenal sebagai donor hidrogen atau inhibitor radikal bebas (Maesaroh et al., 2018). Kombinasi dua jenis sampel bisa mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sari & Kustiawan, (2023), kombinasi

ekstrak daun *Averrhoa bilimbi L* dan madu (2:1) memiliki aktivitas antioksidan sebesar 90,36 ppm yang termasuk golongan aktivitas antioksidan yang kuat. Sedangkan Pratama dan Kustiawan, 2023 melakukan pengujian antioksidan kombinasi *Tetragonula testaceitarsis* propolis dan daun *Lepisanthes amoena* juga menunjukkan efek sinergisme lebih baik dari kombinasi ekstrak daripada ekstrak tunggalnya.

Setiap bahan memiliki metabolit sekunder yang dapat berinteraksi satu sama lain saat dicampur. Selain zat aktif, senyawa dapat memengaruhi respons aktivitas antioksidan. Jumlah dan jenis senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada sampel uji mungkin berkorelasi dengan sifat antioksidannya (Binuni et al., 2020). Menurut Rikantara et al., (2022), kombinasi dari gabungan senyawa dari dua bahan alam bisa meningkatkan aktivitas antioksidan lewat regenerasi senyawa antioksidan. Sehingga kombinasi tersebut memiliki potensi dikembangkan lebih lanjut menjadi sediaan farmasi berbahan alami sebagai antioksidan.

## KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak propolis *H. itama* dan daun *S. caseolaris* memiliki aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada rasio (1:2) yaitu

35,1±0,103 ppm. Sehingga masuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Pengaruh aktivitas sinergisme dari dua kombinasi ekstrak tersebut dapat meningkatkan nilai aktivitas antioksidannya yang lebih baik dari ekstrak tunggal kedua ekstrak. Potensi aplikatif dari kombinasi ekstrak tersebut dan mekanisme sinergisnya perlu ditelusuri lebih lanjut.

## REFERENSI

- Abdulrahman, A., Utami, S. R., Widia, W., & Roanisca, O. (2021). Kajian Metabolit Sekunder Batang Bajakah (*Spatholobus Littoralis Hassk.*) Dalam Pengembangan Sebagai Obat Herbal Antikanker Payudara Dan Antioksidan. In (Vol. 5, pp. 46-49). *Proceeding of National Colloquium Research and Community Service*, 46–49.
- Ahmed, R., Tanvir, E. M., Hossen, M. S., Afroz, R., Ahmmed, I., Rumpa, N. E. N., Paul, S., Gan, S. H., Sulaiman, S. A., & Khalil, M. I. (2017). Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5370545>
- Amalia, B. R., Muliawati, H., & Hidayati, A. R. (2023). Uji aktivitas antioksidan

- kombinasi ekstrak kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*.
- Anastasia, D. S. W. et al. (2017). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari *Saurauia Bracteosa* Ekstrak *Saurauia Bracteosa* (*Saurauia Bracteosa* Dc.). *Pharmacon*, 6(1), 53–61.
- Anggreni, N. P. P. C., Yanti, N. P. R. D., Pratiwi, K. A. P., & Udayani, N. N. W. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Gummy Candy Ekstrak Daun Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) dengan Metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(3).
- Aziz, A., Yuliawan, V. N., & Kustiawan, P. M. (2021). Identification of Secondary Metabolites and Antibacterial Activity of Non Polar Fraction from *Heterotrigona itama* Propolis. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 2(1), 23–33. <https://doi.org/10.18196/jfaps.v2i1.12406>
- Binuni, R., Maarisit, W., Hariyadi, H., & Saroinsong, Y. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* Dari Kecamatan Tagulandang, Sulawesi Utara Menggunakan Metode DPPH. *Biofarmasetikal Tropis*, 3(1), 79–85. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.260>
- Handayani, V. (2022). Toxicity Test Of Ethanol Extract Of Shallot Peel (*Allium Cepa* L.) With Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *Alauddin Health and Medical International Conference*, 14.
- Kustiawan, P. M., Aziz, A., & Yuliawan, V. N. (2022). Antioxidant and Antibacterial Activity of Various Fractions of *Heterotrigona itama* Propolis Found in Kutai Kartanegara. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 531–534.
- Kustiawan, P. M., Syaifie, P. H., Al Khairy Siregar, K. A., Ibadillah, D., & Mardiyati, E. (2024). New insights of propolis nanoformulation and its therapeutic potential in human diseases. *ADMET and DMPK*, 12(1), 1–26. <https://doi.org/https://doi.org/10.5599/admet.2128>
- Kustiawan, P. M., Yanti, E. N., Nisa, K., Zulfa, A. F., & Batistuta, M. A. (2023). Bioactivity of *Heterotrigona itama* propolis as anti-inflammatory: A review. *Biointerface Research in*

- Applied Chemistry*, 13(4), 326.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Al Anshori, J. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93. <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- Manuhuttu, D., Nur, A., & Saimima. (2021). Potensi Ekstrak Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) Sebagai Antibakteri terhadap *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan*, 7(2), 71–79.
- Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 75. <https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9200>
- Rahayu, R. S., & Wulandari, C. (2025). Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.): A Systematic Review. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 7(1).
- Rikantara, F. S., Utami, M. R., & Kasasiah, A. (2022). Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 124–133.
- Sari, B. P., & Kustiawan, P. M. (2023). Antioxidant Activity of Extract Combination from *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and Stingless Bee Honey. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1), 28–34. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v0i0.45987>
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.
- Yanti, E. N., & Kustiawan, P. M. (2023). Study of Indonesian Stingless Bee Propolis Potential As Antioxidant: a Review. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 9(3), 261–269. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v9i3.7105>
- Zhang, A., Chen, X., Hussain, S. A., Mayudh Alrubie, T., Maddu, N., & Zhang, Q. (2025). Anesthetic wound dressing loaded with propolis and bupivacaine for managing post-operative pain and

wound healing. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 8.