

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dan Akuades Daun Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil)

^{1*}Naelaz Zukhruf Wakhidatul Kiromah, ²Laeli Fitriyati, ³Sadam Husein,
Program Studi Farmasi Program Sarjana Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Gombong
*Email : naela.zukhruf18@stikesmuhgombong.ac.id

Abstrak

Keywords:
Radikal bebas;
Antioksidan; Ganitri;
DPPH; IC₅₀

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung elektron tidak berpasangan sehingga dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak daun ganitri dengan pelarut metanol dan akuades. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan kelompok senyawa dan aktivitas antioksidan ekstrak daun ganitri. Hasil uji kelompok senyawa diketahui kedua ekstrak daun ganitri positif mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan menggaunkana metode kromatografi dan menghasilkan nilai Rf 0.97 dengan bercak noda berwarna biru kehitaman yang pekat. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan didapatkan hasil bahwa kedua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,213 ppm pada ekstrak metanol dan 4,788 ppm pada ekstrak akuades.

1. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan, bersifat sangat reaktif dan tidak stabil sehingga cenderung menarik elektron dari molekul lain yang akan menyebabkan reaksi rantai [1]. Dalam jumlah normal radikal bebas dapat bermanfaat bagi tubuh seperti penghilang nyeri, membunuh kuman dan merelaksasi otot. Namun apabila jumlahnya berlebihan maka dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti penuaan dini sampai dengan kanker. Selain itu radikal bebas juga dapat mematikan sel yang akan tumbuh serta menghambat proses pembentukan DNA [2].

Antioksidan merupakan senyawa yang digunakan untuk mengikat, menghambat dan mencegah masuknya radikal bebas ke dalam tubuh [3]. Indonesia memiliki banyak potensi tumbuhan alam yang dapat berkhasiat sebagai antioksidan, salah satunya adalah tanaman ganitri. Tanaman ganitri memiliki sebaran tempat tumbuh yang luas di Indonesia seperti Jawa, Sumatra Barat, Palembang, Aceh, Lombok dan Sumbawa [4]. Di Jawa Tengah sendiri tanaman ganitri banyak di temukan di beberapa kabupaten salah satunya Kebumen. Tanaman ganitri di Indonesia belum banyak dimanfaatkan secara maksimal. Masyarakat Indonesia belum menganal manfaat tanaman ganitri sebagai tanaman obat, mereka hanya

memanfaatkan pohon (kayu) sebagai hasil hutan dan bagian biji sebagai kerajinan ataupun di jual tanpa olahan [5].

Berdasarkan penelitian daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.) diketahui memiliki kandungan fenol, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, tannin dan alkaloid [4]. Flavonoid merupakan salah satu antioksidan alami dengan mekanisme kerja donor atom hidrogen kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga senyawa tersebut menjadi stabil dan bersifat non radikal [6]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun ganitri memiliki kandungan total fenol sebesar $56,79 \pm 1,6$ mg setara dengan asam galat (GEA)/gram simplisia kering serta kandungan total flavonoid sebesar $18,58 \pm 0,3$ mg ekuivalen dengan rutin per gram simplisia kering [7].

Berdasarkan hasil penelitian membuktikan ekstrak daun ganitri dengan konsentrasi 1,4 mg/ml memiliki aktivitas antioksidan dengan persen inhibisi sebesar $91,28 \pm 0,14\%$ dalam pelarut metanol dan $26,04 \pm 0,19\%$ dalam pelarut akuades yang di uji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) [8]. Penelitian lain mengenai daun ganitri juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun ganitri pada konsentrasi 500 µg/ml memiliki persen inhibisi sebesar 55,77% dengan nilai IC_{50} sebesar 297,12 µg/ml [7].

Berdasarkan hasil penelitian-penelitian diatas, peneliti bertujuan melakukan penelitian mengenai kelompok senyawa dan aktivitas antioksidan ekstrak daun ganitri yang diperoleh dari Desa Pagebangan, Karangasambung, Kebumen menggunakan pelarut metanol dan akuades.

2. METODE

A. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan terdiri dari neraca analitik, blender, oven (Memmert), rotary evaporator (Biobase), waterbath (Memmert), spektrofotometer visibel (Amtast AMV01), kuvet, lampu uv (WFH-203 B), chamber, tabung reaksi, labu ukur, yellow tip, mikropipet (ONZ) dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun ganitri yang berwarna hijau tua segar, akuades, metanol, plat silica Gf_{254} , $FeCl_3$, n-butanol, asam asetat glasial, kuersetin, serbuk Mg, NaOH, HCl, serbuk DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), asam askorbat, tisu dan kertas saring.

B. Prosedur Penelitian

Pembuatan Simplisia

Simplisia daun ganitri sebanyak 1 kg yang diperoleh dari Desa Pagebangan Kec. Karanggayam Kebumen dilakukan sortasi basah dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran dan memisahkan dari bagian yang tidak diinginkan, kemudian di cuci dengan air bersih yang mengalir. Selanjutnya di keringkan dengan cara di angina-anginkan, lalu di oven pada suhu $40-50^{\circ}C$. Daun yang telah kering di sortasi kembali dan di serbuk menggunakan blender [9].

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dan akuades dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun ganitri masing-masing 200 gram di rendam dengan metanol dan akuades kemudian di aduk selama 1 jam selanjutnya didiamkan selama 72 jam untuk pelarut metanol dan 24 jam untuk pelarut akuades dan dilakukan sesekali pengadukan. Kemudian akan diperoleh maserat yang di saring dan dievaporasi pada suhu $40^{\circ}C$ kemudian dilanjutkan pengantalan ekstrak menggunakan waterbath [10].

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Fenol

Sebanyak 50 mg ekstrak daun ganitri lalu dilarutkan menggunakan akuades dan di tetesi dengan larutan FeCl₃ 5% secukupnya. Ekstrak positif mengandung fenol apabila muncul warna hijau kehitaman [11].

Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 4 ml larutan ekstrak daun ganitri di campurkan dengan 1,5 ml metanol 50%. Kemudian dipanaskan dan di tambahkan dengan logam Mg. larutan positif mengandung flavonoid apabila berubah menjadi merah atau orange setelah di tetesi HCl encer sebanyak 5-6 tetes [11].

Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemeriksaan senyawa motedo KLT dilakukan dengan cara mengaktifkan plat silica gel GF₂₅₄ menggunakan oven pada suhu 100°C. eluen yang digunakan yaitu *n*-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 6:2:2. Ekstrak dibandingkan dengan kuersetin sebagai pembanding senyawa flavonoid. Selanjutnya kromatogram di semprot menggunakan penampak bercak FeCl₃ untuk mengidentifikasi senyawa. Hasil positif apabila menimbulkan warna hijau, merah, cokelat, ungu, biru atau hitam yang kuat [12].

Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,1 mM

Sebanyak 3,94 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam metanol hingga 100 ml. larutan kemudian divortex sampei homogen, kemudian di tuutp menggunakan aluminium foil dan di simpan pada suhu ruang terlindung dari cahaya [13].

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 2 ml karutan DPPH 0,1 mM diencerkan dengan metanol hingga 10 ml. larutan dohomogenkan dan di simpna selama 30 menit kemudian diukur serapanya

menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 500-600 nm [14].

Penentuan Operating Time Larutan DPPH

Sebanyak 2 ml karutan DPPH 0,1 mM diencerkan dengan metanol hingga 10 ml, kemudian di ukur absorbansinya tiap 5 menit selama 60 menit menggunakan panjang gelombang yang sudah diperoleh [15].

Pembuatan Larutan pembanding Asam Askorbat

Sebanyak 50 mg serbuk di larutkan dalam 50 ml metanol hngga larut sempurna. Selanjutnya larutan di pipet sebanyak 20, 40, 60, 80 dan 100 µl dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm [16].

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Daun Ganitri

Sebanyak masing-masiing 50 mg ekstak metanol dan akuades di larutkan dalam 50 ml metanol hngga larut sempurna. Selanjutnya larutan di pipet sebanyak 20, 40, 60, 80 dan 100 µl dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm [16].

Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm masing-masing di pipet sebanyak 2 ml kemudian di tambahkan 2 ml larutan stok DPPH lalu di cukupkan volumenya sampai tanda batas 10 ml dan di homogenkan. Campuran larutan di simpan selama 30 menit di tempat gelap terlindung cahaya, kemudian ukur serapanya menggunakan panjang gelombang maksimum yang telah di dapat [16].

Aktivitas antioksidan sampel dapat di ketahui melalui perhitungan presentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus [17]:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Aktivitas antioksidan di tentukan menggunakan nilai IC₅₀. IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menurunkan atau menangkap radikal bebas sebanyak

50%. Nilai IC_{50} didapatkan dengan membuat kurva baku hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan persen inhibisi penghambatan antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} yang didapatkan, maka akan semakin besar kekuatan suatu senyawa bersifat antioksidan untuk melawan radikal bebas. Tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel berikut [18] :

Tabel 1. Klasifikasi Nilai IC_{50}

Aktivitas Antioksidan	Nilai IC_{50} (ppm)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	150-200

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun ganitri berdasarkan jenis pelarut ekstraksi yang di gunakan. Data hasil skrining fitokimia ekstrak daun ganitri disajikan dalam tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun ganitri

Golongan	Ekstrak	
	Metanol	Akuades
Fenol	+	+
Flavonoid	+	+

Ket (+) : Teridentifikasi

Skrining fitokimia dilakukan pada masing-masing ekstrak yang di tandai dengan perubahan warna sebagai hasil positifnya. Kedua ekstrak setelah diuji menunjukkan positif adanya senyawa fenol yang ditandai dengan munculnya warna hijau kehitaman saat di tetesi dengan $FeCl_3$ 5%. Hal tersebut di ketahui karena fenol memiliki karakteristik dalam membentuk ikatan kuat pada logam, cepat teroksidasi dan dapat membentuk polimer berwarna gelap. Selain itu ekstrak juga diketahui positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan munculnya warna

orange setelah di tetesi dengan HCL encer. Sehingga dapat disimpulkan kedua ekstrak metanol dan akuades menunjukkan adanya senyawa fenol dan flavonoid. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rachman, 2012 [4].

B. Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan salah satu teknik pemisahan yang menggunakan dua fase yaitu *mobile phase* dan *stationary phase*. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan KLT dilakukan dengan cara memasukan fase diam berupa plat silica gel GF₂₅₄ kedalam fase gerak BAA dengan perbandingan 6:2:2. BAA dipilih karena termasuk eluen terbaik dalam memisahkan senyawa flavonoid dikarenakan BAA memiliki sifat keloparan yang sama dengan flavonoid yaitu polar [12]. Hasil uji ditentukan menggunakan nilai Rf yang telah didapatkan setelah proses elusi. Nilai Rf yang di dapat pada kedua ekstrak memiliki nilai yang sejajar yaitu 0,97 dengan pembanding kuersetin sebesar 0,98. Hasil tersebut sangat mendekati larutan pembanding sehingga dapat dinyatakan ekstrak mengandung senyawa flavonoid. kemudian untuk mengidentifikasi senyawa digunakan pereaksi semprot $FeCl$ dan hasilnya menimbulkan warna biru kehitaman pekat yang artinya senyawa aktif flavonoid benar terdapat di dalam kedua ekstrak.

C. Uji Aktivitas Antioksidan

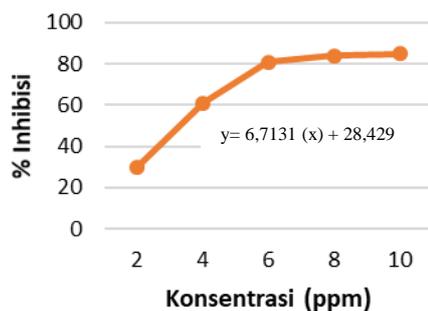
Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan karena memiliki beberapa keuntungan yaitu sederhana, cepat dan sampel yang digunakan hanya sedikit [19].

Aktivitas antioksidan ekstrak daun ganitri dilakukan dengan cara mengukur nilai inhibisi terhadap radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang

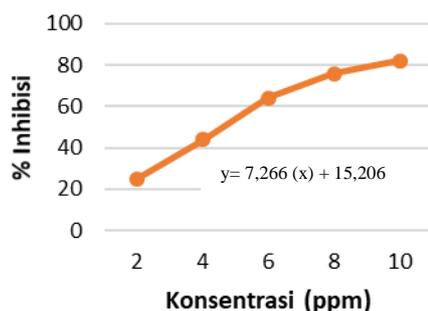
gelombang 517 nm. Prinsip metode ini adalah interaksi antara antioksidan dengan radikal DPPH dengan cara transfer atau donor elektron atau hidrogen pada radikal DPP sehingga reaksinya menjadi netral yang ditandai dengan berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning [20].

Aktivitas antioksidan di tentukan menggunakan nilai IC₅₀ (*inhibition concentration 50%*). Nilai IC₅₀ masing-masing sampel di hitung menggunakan rumus persamaan regresi linier dengan rumus $Y=ax+b$ yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel yang dinyatakan sebagai sumbu (x) dengan persen inhibisi yang dinyatakan dengan sumbu (y) dari seri replikasi pengukuran [18].

Berdasarkan hasil persamaan regresi linier dari Gambar 1 dan Gambar 2 hubungan antara konsentrasi ekstrak terhadap persentase inhibisi diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 3,213 ppm pada ekstrak metanol dan 4,788 ppm pada ekstrak akuades.



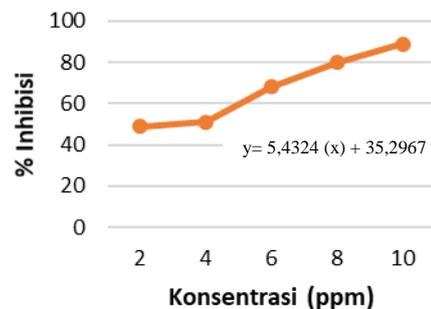
Gambar 1. Kurva hubungan konsentrasi Ekstrak metanol terhadap nilai persentase inhibisi



Gambar 2. Kurva hubungan konsentrasi Ekstrak akuades terhadap nilai persentase inhibisi

Perbandingan jenis pelarut yang digunakan saat proses ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan yang di peroleh. Berdasarkan hasil uji menunjukkan bahwa pelarut metanol memiliki nilai IC₅₀ terkecil (aktivitas tertinggi) dibandingkan pada penggunaan pelarut akuades. Namun nilai IC₅₀ kedua ekstrak tidak berbeda jauh, hal ini disebabkan karena di dalam ekstrak daun ganitri banyak terdapat senyawa yang bersifat polar salah satunya adalah flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder terbesar pada tumbuhan dan termasuk kedalam golongan fenolik sehingga cenderung mudah larut dalam pelarut polar. sehingga pelarut yang juga bersifat polar tersebut akan lebih banyak menarik komponen yang ada di dalam ekstrak daun ganitri. Senyawa flavonoid juga di duga memiliki sifat sebagai antioksidan sehingga mampu menagkal atau meredam aktivitas radikal bebas [21].

Adapun sebagai pembanding, dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap asam askorbat dengan konsentrasi yang sama yaitu 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Persen inhibisi tertinggi asam askorbat diperoleh 89,189% dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,7065 ppm.



Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi asam askorbat terhadap nilai persentase inhibisi

Apabila dibandingkan dengan nilai IC₅₀ pembanding asam askorbat dengan nilai IC₅₀ ekstrak metanol dan

akuades daun ganitri yang diperoleh, diketahui IC₅₀ asam askorbat lebih kecil yang artinya aktivitas antioksidannya lebih tinggi. Hal ini menandakan bahwa sifat antioksidan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun ganitri lebih rendah jika dibandingkan dengan asam askorbat.

Hasil pengukuran keseluruhan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan akuades daun ganitri menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat kuat.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan akuades daun ganitri memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 3,213 ppm pada ekstrak metanol dan 4,788 ppm pada ekstrak akuades.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Secara khusus peneliti menyampaikan ucapan terimakasih kepada laboran farmasi STIKes Muhammadiyah Gombong.

REFERENSI

- [1] V. V. Pai, P. Shukla, and N. N. Kikkeri, "Antioxidants in dermatology," *Journal Indian Dermatology*, vol. 5, no. 2, pp. 210–214, 2014.
- [2] Parwata, *BAHAN AJAR ANTIOKSIDAN*, no. April. 2016.
- [3] C. J. Mbah, I. Orabueze, and N. H. Okorie, "Antioxidants Properties of Natural and Synthetic Chemical Compounds: Therapeutic Effects on Biological System," *Acta Sci. Pharm. Sci.*, vol. 3, no. 6, pp. 28–42, 2019.
- [4] E. Rachman, "KAJIAN POTENSI DAN PEMANFAATAN JENIS GANITRI (Elaeocarpus spp.)," *Mitra Hutan Tanam.*, vol. 7, no. 2, pp. 77–82, 2012.
- [5] A. Rohandi and Gunawan, "SEBARAN POPULASI DAN POTENSI TANAMAN GANITRI (Elaeocarpus ganitrus Roxb) DI JAWA TENGAH," *J. Ilmu Kehutan.*, vol. 8, no. 1, pp. 25–33, 2014.
- [6] D. Gupta, "Methods for determination of antioxidant capacity: A review," vol. 6, no. February, 2015.
- [7] Kumar, S. Shanmugam, T. Palvannan, and V. M. B. Kumar, "Evaluation of Antioxidant Properties of Elaeocarpus ganitrus Roxb. Leaves," no. April 2008, pp. 1–6, 2008.
- [8] A. Sharma, S. Joshi, and N. Kumar, "Antioxidant and antibacterial properties of leaves of Elaeocarpus sphaericus Roxb. and Pinus wallichiana from Uttarakhand region of India," *Int. J. Green Pharm.*, vol. 9, no. 4, pp. 9–10, 2015.
- [9] U. Mayasari and M. T. Laoli, "KARAKTERISASI SIMPLISIA DAN SKRINING FITOKIMIA DAUN JERUK LEMON (Citrus limon (L.) Burm. f.)," *J. Klorofil*, vol. 2, no. 1, pp. 7–13, 2018.
- [10] K. Pandey, M. Singh, B. Pandey, A. Upadhyaya, and K. K. Pande, "Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activities of plant extract of Elaeocarpus ganitrus Roxb.," *Int. J. of Bioassays*, vol. 5 (9), no. 2016, pp. 4885–4889, 2016.
- [11] I. Jayashree, D. H. Geetha, and M. Rajeswari, "Evaluation of Anti-Microbial Activity of Elaeocarpus tuberculatus Roxb.," vol. 16, no. 11, pp. 1726–1731, 2016.
- [12] P. E. S. K. Yuda, E. Cahyaningsih, and N. Winariyathi, "SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS EKSTRAK TANAMAN PATIKAN KEBO (Euphorbia hirta L.)," *Medicamento*, vol. 3, no. 2, pp. 61–70, 2017.
- [13] D. Ratnasari and A. Kasasiah, "Formulasi dan uji aktivitas antioksidan masker peel-off ekstrak etanol daun sukun (Artocarpus altilis F) dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)," *J. Ilm. Farm.*, vol. 15, no. 2, pp. 94–105, 2018.
- [14] A. Najihudin, A. Chaerunissa, and A. Subarnas, "AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK dan FRAKSI KULIT BATANG TRENGGULI (Cassia fistula L)

- DENGAN METODE DPPH,” *IJPST*, vol. 4 (2), no. Juni 2017, 2017.
- [15] R. Prastiwati, W. S. Rahayu, and D. Hartanti, “perbandingan daya antioksidan ekstrak metanol daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L) dengan rutin terhadap radikal bebas 1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil (DPPH),” *Pharmacy*, vol. 7 (1), no. april 2010, pp. 109–118, 2010.
- [16] M. Salampe, Z. Rahma, S. Nur, and S. S. Mamada, “AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BEROMA (*Cajanus cajan* (L.) Milps),” *J. unhas*, vol. 23, no. 1, pp. 29–31, 2019.
- [17] N. Alam, N. J. Bristi, and Rafiquzzaman, “Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity,” *Saudi Pharm. J.*, vol. 21, no. 2, pp. 143–152, 2013.
- [18] D. A. Winahyu, R. C. Purnama, and M. Y. Setiawati, “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) DENGAN METODE DPPH,” *J. Anal. Farm.*, vol. 4, no. 2, pp. 117–121, 2019.
- [19] S. B. Kedare and R. P. Singh, “Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay,” no. June, 2011.
- [20] F. Setiawan, O. Yunita, and A. Kurniawan, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP,” *media Pharm. Indones.*, vol. 2, no. 2, pp. 82–89, 2018.
- [21] D. Gupta, “METHODS FOR DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY: A REVIEW,” *Pharm. Sci. Res.*, vol. 6, no. 2, pp. 546–566, 2015.