

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Tanaman *P. Piloselloides* Pada Citrus *Microcarpa* Dengan Menggunakan Metode DPPH 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil

Alvina M. Dengen¹, Wilmar Maarisit^{1*}, Joke L. Tombuku², Ferdy A. Karauwan², Randy Tampa¹, Adolfina Sumangando², Margaretha S. Ginting²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

²Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi; wmaarisit@yahoo.com

Diterima: 4 April 2024 ; Disetujui : 25 April 2024

ABSTRAK

Pyrrhosia piloselloides, juga dikenal sebagai tanaman skala naga, telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk daunnya, yang mungkin memiliki efek antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antioksidan dari ekstrak etanol daun *Pyrrhosia piloselloides* yang sering dikenal dengan sisik naga. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari *P. Tanaman piloselloides* diukur menggunakan uji 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) pada dosis 2,5ppm, 5ppm, 7,5ppm, 10ppm, dan 12,5ppm. Analisis fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang ada di *P. jaringan daun piloselloides*. Metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin, dan fenolik diukur dalam *P. daun piloselloides*. Nilai IC₅₀ untuk aktivitas antioksidan ekstrak etanol mentah *P. Piloselloides Dragon Scale Leaves* adalah 3,30 ppm.

Kata kunci: Antioksidan; Radikal bebas; *Pyrrhosia piloselloides*; Skrining Fitokimia, IC₅₀.

ABSTRACT

Pyrrhosia piloselloides, also known as dragon's scale plant, has been used in traditional medicine for its leaves, which may have antioxidant effects. This study aims to evaluate the antioxidant potential of an ethanol extract of *Pyrrhosia piloselloides* leaves, often known as dragon scales. The antioxidant activity of ethanol extracts from *P. piloselloides* plants was measured using the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay at doses of 2.5ppm, 5ppm, 7.5ppm, 10ppm, and 12.5ppm. Phytochemical analysis was used to identify the bioactive compounds present in *P. piloselloides* leaf tissue. Secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenoids, saponins, and phenolics were quantified in *P. piloselloides* leaves. The IC₅₀ value for the antioxidant activity of the crude ethanol extract of *P. piloselloides dragon scale leaves* is 3.30 ppm.

Keywords: Antioxidants; free radicals; *Pyrrhosia piloselloides*; Phytochemical Screening, IC₅₀.

1. PENDAHULUAN

Istilah "antioksidan" dan "radikal bebas" sering digunakan dalam komunitas medis dan ilmiah. Antioksidan telah menjadi kata kunci dalam beberapa tahun terakhir, mendapatkan minat dari orang-orang yang sadar kesehatan yang mencoba membuat pilihan yang baik setiap hari. Antioksidan, seperti yang ditunjukkan oleh¹, memainkan peran penting dalam mencegah kerusakan radikal bebas pada

sel. Antioksidan juga dapat melindungi tubuh dari ROS dan menjaga oksidasi di teluk (ROS).

Berbagai penyakit dan kondisi yang dikenal sebagai penuaan yang dipercepat disebabkan oleh efek kumulatif radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dan merusak sel-sel sehat². Selain mempercepat proses penuaan, radikal bebas telah dikaitkan dengan kerusakan oksidatif yang mendasari penyakit termasuk aterosklerosis dan kanker³. Tanaman Skala Naga herba (*Pyrrhosia piloselloides* (L.) M.G.

Price) adalah epifit yang tumbuh di kulit pohon. Berbeda dengan parasit, epifit dapat berkembang hanya pada nutrisi yang mereka dapatkan dari tanaman lain dan tanah, yang bertindak sebagai penyangga. Air bisa jatuh sebagai hujan atau embun atau bahkan ada dalam bentuk uap. Debu dan sisa-sisa batang yang membusuk dan bagian tanaman lainnya adalah sumber nutrisi mineral. Bahkan ketika epifit tidak benar-benar memakan tanaman yang melekat padanya, mereka mungkin akhirnya bersaing untuk mendapatkan cahaya. Ketika akar epifit menyerang ruang di sekitar dan melalui kulit batang pohon, mereka dapat membuang ekosistem internal pohon. Sisik naga dapat hidup sebagai epifit pada berbagai macam tanaman, termasuk teh, kopi, jambu biji, palem, dan jeruk kasturi⁴. Praktisi pengobatan tradisional di Kabupaten Minahasa, khususnya di Kecamatan Kawangkoan, telah lama menggunakan daun sisik naga untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit, termasuk asma, alergi, dan bahkan kanker. Daun sisik naga pada pohon inang jambu biji telah terbukti mengandung sterol/triterpenoid, fenol, flavonoid, dan tanin, di antara komponen kimia lainnya⁴.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari tanaman *P. piloselloides* pada *Citrus microcarpa* dengan menggunakan metode DPPH 2,2- Diphenyl-1- Picrylhydrazil.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah glass beker, measuring flask, filter paper, stirring rod, glass jar, distillation flask 1000 ml, analytical scales, test tube, rotary vacuum evaporator (IKA RV 10 basic), aluminium foil, split funnel, kapas, buret, botol-botol, gelas ukur, mikropipet, penggaris, gunting, pulpen, label, kuvet, corong kaca, spatula, erlenmeyer, pipet tetes, cawan petri, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800), kamera dan kalkulator.

Bahan-bahannya antara lain ekstrak *Pyrosia piloselloides*, air steril, alkohol 95%, aquadest, etil asetat, FeCl₃ 1% dan 5%, magnesium klorida, asam klorida pekat, larutan kloroform, larutan dragendorff, larutan wagner,

larutan mayer, larutan DPPH, etanol 70%, dan vitamin C.

Pembuatan Ekstraksi

Sampel *P. piloselloides* dimaserasi dalam etanol 95% dan beratnya 1.000 gram. Setelah direndam selama sehari dalam etanol dan pencampuran secara berkala, sampel disaring melalui kertas saring tiga kali. Setelah penyaringan, itu akan menghasilkan filtrat pertama, kedua, dan ketiga, yang semuanya akan mengalami penguapan vakum putar sampai ekstrak pekat diperoleh.

Analisis data

Pengujian antioksidan diukur dengan mengamati pergeseran warna setiap sampel setelah inkubasi DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Sampel ekstrak akan berubah dari ungu tua menjadi kuning cemerlang jika semua elektron DPPH berpasangan dengan elektron dalam sampel. Radikal bebas yang dibuat ketika molekul DPPH bergabung dengan atom hidrogen dan kemudian dilepaskan oleh molekul kimia sampel adalah apa yang menyebabkan pergeseran warna ungu. Spektrofotometer UV-Vis kemudian digunakan untuk mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 517 nm. Persamaan regresi linier dalam Microsoft Excel digunakan untuk menganalisis data antioksidan dan menemukan korelasi antara perubahan konsentrasi dan persen penghambatan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian menyimpulkan bahwa sampel yang digunakan terdiri dari daun sisik naga dari Desa Kinali, Kawangkoan. Akhirnya, sampel dimaserasi dalam pelarut etanol 96 persen sampai benar-benar terendam, setelah itu dibersihkan dengan air yang sangat bersih, ditimbang, dan disajikan dalam potongan-potongan kecil (total 1.000 gram)^{5,6}. Setelah tiga hari melakukan ini sekali sehari, kertas saring digunakan untuk menghilangkan kotoran. Setelah disaring, menghasilkan filtrat pertama, kedua, dan ketiga. Setelah menguapkan filtrat pada suhu 400 derajat Celcius, kami mendapatkan ekstrak tingkat penelitian 14,34 gram.

Skrining fitokimia ekstrak dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan larutan reagen spesifik untuk mengukur konsentrasi

metabolit sekunder dalam uji tabung reaksi. Hasil dari tes fitokimia tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kasar Daun Sisik Naga *P. piloselloides*

Golongan Senyawa (1)	Pereaksi (2)	Hasil (3)	Perubahan Warna (4)
Alkaloid	Kloroform dan H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk dua lapisan
	Dragendorff	+	Terbentuk endapan warna jingga
	Wagner	+	Terbentuk endapan cokelat merah
	Mayer	+	Terbentuk endapan putih
Flavonoid	HCl pekat dan Mg	+	Terbentuk warna jingga
Tanin	Etanol dan FeC	+	Terbentuk warna hitam dan hijau
Saponin	Aquades	+	Terbentuk gelembung/buih
Steroid	Etil asetat dan H ₂ SO ₄ pekat	-	Tidak terbentuk warna
Triterpenoid	Etil asetat dan H ₂ SO ₄ pekat	+	Menghasilkan warna merah
Fenolik	FeC 5% dan H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk warna hitam

Keterangan : Tanda (+) menunjukkan adanya senyawa yang diuji, sementara tanda (-) menunjukkan senyawa yang diuji tidak ada pada ekstrak daun sisik naga *P. piloselloides*

Kesimpulan dari kelas kimia berdasarkan data dari ekstrak daun sisik naga Alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan fenolik adalah contoh metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada *P. piloselloides*. Alkaloid, seperti yang didefinisikan oleh penelitian sebelumnya⁷, tidak berwarna jika mereka tidak memiliki struktur aromatik dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Keluarga metabolit sekunder yang dikenal sebagai alkaloid adalah yang paling banyak pada tanaman. Cabang, daun, biji, dan kulit kayu hanyalah sebagian bagian tanaman yang mungkin mengandung alkaloid⁸. Dua dari tiga reagen yang digunakan membentuk endapan, menunjukkan hasil positif untuk alkaloid. Penggunaan pereaksi yang mengandung ion K⁺ menyebabkan endapan terbentuk selama produksi senyawa alkaloid.

Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom C, seringkali oleh ikatan oksigen

heterosiklik, dan mereka adalah molekul metabolit sekunder. Karena memiliki dua atau lebih gugus hidroksil dan agak asam, ia dapat dilarutkan dalam basa, menjadikannya senyawa polifenol. Ternyata, flavonoid lebih larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan etil asetat setelah mereka terhubung ke gula untuk membentuk glikosida⁹.

Fitokimia flavonoid digunakan dalam pengobatan, yaitu sebagai antikoagulan, seperti yang dilaporkan oleh¹⁰. (mencegah pembekuan darah). Ketika cedera pembuluh darah terjadi, senyawa flavonoid bekerja dengan mencegah aglutinasi (pengumpulan trombosit). Bahan kimia flavonoid sering disebut pengencer darah karena kecenderungan mereka untuk menghambat pengumpulan darah. Setelah menambahkan bubuk Mg dan HCl, sampel menjadi oranye, menunjukkan hasil yang menguntungkan dalam pengujian flavonoid¹¹. Inti benzopiron dalam struktur flavonoid dapat dikurangi dengan bubuk Mg dan HCl, yang

mengarah ke produksi garam flavilium merah atau oranye .

Tanin adalah sejenis bahan kimia yang ditemukan pada tanaman dan diproduksi sebagai metabolit sekunder. Ada dua kelompok tanin yang berbeda, yang mudah dihidrolisis dan yang lebih sulit dipecah. Cathecin dan gallocthecin adalah dua contoh tanin terkondensasi, sedangkan polimer galat dan asam ellagic adalah contoh tanin yang mudah dihidrolisis yang terdiri dari polimer senyawa flavonoid dengan hubungan karbon-karbon yang mengikat ester ke molekul gula¹². Penambahan larutan FeC 1 persen menyebabkan pergeseran warna yang berbeda, rona hijau kehitaman, yang menunjukkan adanya tanin dalam sampel yang diuji. Menurut penelitian, penambahan FeC pada salah satu gugus hidroksil molekul tanin menyebabkan pergeseran warna¹³. Setelah menambahkan FeC, warna hijau gelap berkembang, menunjukkan adanya tanin kental.,1-3.,1-3.

Sampel ditemukan mengandung saponin, yang dapat diidentifikasi oleh ketidakmampuan mereka untuk larut setelah dikocok selama 10 menit. Produksi busa dalam air yang terurai menjadi molekul glukosa dan aglikon terlihat dalam penelitiannya¹⁴.

Terpenoid yang memiliki kerangka karbon enam unit isoprena (methylbuta-1,3-diene) dikenal sebagai triterpenoid. Bahan kimia ini adalah metabolit sekunder, dan kerangka karbonnya sering terbentuk dari hidrokarbon C-30 asilik dan termasuk alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Efek farmakologis yang substansial ditunjukkan pada senyawa yang termasuk dalam kelompok triterpenoid. Molekul-molekul ini mengurangi pembentukan kolesterol, melawan peradangan, dan membunuh sel-sel kanker, antara lain.

Tanaman dengan bahan kimia triterpenoid memiliki nilai ekologis karena molekul ini memiliki sifat antijamur, insektisida, antipredator, antibakteri, dan antivirus. Hasil positif ditunjukkan oleh senyawa triterpenoid yang menjadi oranye dengan penambahan asetat anhidrida dan asam sulfat pekat, sedangkan hasil negatif ditunjukkan oleh senyawa steroid yang tidak menampilkan perubahan warna tersebut. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa molekul terpenoid / steroid mengalami perubahan warna ketika asam asetat atau sulfat ditambahkan padanya¹⁵.

Dari segi struktur, senyawa fenolik dapat bervariasi dari molekul sederhana hingga polimer kompleks, dan mereka adalah metabolit sekunder bioaktif pada tanaman yang biasanya dihasilkan melalui jalur asam sikadat, pentosa fosfat, dan fenilpropanoid¹⁶.

Saat menguji senyawa fenolik, perubahan warna biru-ke-hitam merupakan indikasi hasil positif. Pembentukan warna pada pengujian ini dikaitkan dengan interaksi FeC dengan bahan dan ion yang melewati hibridisasi⁷. ,1-3.,Fe-3+. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan tingkat penghambatan. Panjang gelombang terpanjang yang terdeteksi dalam uji absorbansi kosong DPPH adalah 517 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui proporsi inhibisi radikal DPPH (% inhibisi). Nilai persen penghambatan untuk ekstrak kasar yang efektif diberikan pada disukai. Suatu bahan kimia memiliki aktivitas antioksidan yang sangat Tabel 2, 3, dan 4. Saat mengukur kekuatan antioksidan, nilai IC50 yang lebih rendah lebih tinggi apabila nilai IC-50-nya kurang dari atau sama dengan ambang batas tertentu.

Tabel 2. % Inhibisi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Sisik Naga P. piloselloides

Konsentrasi (ppm) (1)	Ulangan			Rata-rata Absorbansi (3)	% Inhibisi (4)	IC50µg/mL (5)
	U1	U2	U3			
2.5	0.482	0.499	0.485	0.4887	44.28	
5	0.367	0.366	0.374	0.3690	57.92	
7.5	0.255	0.291	0.263	0.2697	69.25	3.30
10	0.217	0.222	0.219	0.2193	74.99	
12.5	0.153	0.143	0.143	0.1463	83.31	
Kontrol DPPH	0.874	0.876	0.881	0.8770		

Tabel 3. % Inhibisi Aktivitas Antioksidan Vitamin C sebagai pembanding

Konsentrasi (ppm) (1)	Ulangan			Rata-rata Absorbansi (3)	% Inhibisi (4)	(ppm) (5)
	U1	U2	U3			
0.25	0.358	0.355	0.353	0.355	59.52	
0.50	0.301	0.319	0.312	0.311	64.54	
0.75	0.251	0.254	0.253	0.253	71.15	0.03
1	0.126	0.127	0.121	0.125	85.75	
1.25	0.098	0.092	0.096	0.095	89.16	
Kontrol DPPH	0.874	0.876	0.881	0.877		

Tabel 4. Karakteristik Antioksidan berdasarkan nilai

Nilai	Karakteristik Antioksidan
200-150ppm	Lemah
150-100 ppm	Sedang
100-50 ppm	Kuat
<50ppm	Sangat kuat

Persamaan regresi untuk ekstrak kasar adalah $y = 3,8052x + 37,411$ dan $R = 0,9751$, sedangkan untuk vitamin C adalah $y = 3,22x + 49,882$ dan $R = 0,9598$. Persamaan ini digunakan untuk menentukan nilai ekstrak daun sisik naga dan vitamin C, masing-masing.

Konsentrasi ekstrak kasar dan vitamin C yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH diwakili oleh koefisien x dalam persamaan ini, sedangkan koefisien y diberikan oleh as. Nilai R mendekati 1 adalah positif; nilai R memiliki nilai maksimum 1 dan tidak pernah melebihi 1, menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kasar dan vitamin C, semakin besar aktivitas antioksidan, seperti yang ditunjukkan oleh kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar dan vitamin C terhadap persen penghambatan pada angka, IC_{50} . 1 dan 2.

Pengujian aktivitas antioksidan komponen terisolasi dan identifikasi bahan kimia murni dari daun *Pyrrosia piloselloides* (L.) M.G.Price. adalah area yang perlu diselidiki lebih lanjut.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak daun sisik naga *P. piloselloides* yang kandungan senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin

dan fenolik, memiliki Aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 3.30 ppm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Omodairo OD, Ikekemma OC. In Vitro Study of Antioxidant and Anticoagulant Activities of Ethanol Extract of *Pdananus Tectorius* Leaves. *Internasional Blood Research and Reviews*. 2016;5(1):1–11.
- Liochey SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. Vol. 60. *Free radical biology and medicine*; 2013. 1–4 p.
- Miryanti YA, Sapei L, Budiono K, Indra S. Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). Vol. 2. *Research Report-Engineering Science*; 2011.
- Eugenius Y, Wirawan. Uji Antioksidan dan Penetapan kadar karakteristik ekstrak *Pyrrosia piloselloides* Pada Inang Pohon Jambu Dengan Metode DPPH. 1st ed. Rotty V, Tumbelaka S, Pratasik S, editors. Universitas Sanata Dharma; 2016.
- Jimene-Moreno N, Volve F, Esparza JA, Azpilicueta Ancin C. Impact of Extraction Conditions on the Phenolic Composition and Antioxidant

- Capacity of Grape Stem Extracts. Antioxidants. 12th ed. 2019;8(12):597.
- 6 Chen H, Xiao H, Pang J. Parameter Optimization and Potential Bioactivity Evaluation of a Betulin Extract from White Birch Bark. *Plants*. 2020;9(3):392.
- 7 Marlina SD, Suryanti V, Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq.Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 2005;3(1):26–21.
- 8 Simbala HE. Analisis senyawa alkaloid beberapa jenis tumbuhan obat sebagai bahan aktif fitofarmaka. *Pacific Journal*. 2009;1(4):489–94.
- 9 Hanani E. Analisis Fitokimia. Buku Kedokteran EGC; 2016.
- 10 Armiyanti, Darus S, Paransa, Gerung G. Uji Aktivitas Antikoagulan Pada Sel Darah Manusia Dari Ekstrak Alga Coklat *Turbinaria ornota*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2013;2(1):21–7.
- 11 Khotimah SN, Muhtadi A. Beberapa Tumbuhan Yang Mengandung Senyawa Aktif Antiinflamasi. *Farmaka Suplemen*. 2016;14(2):28–40.
- 12 Jayanegara A, Sofyan A. Penentuan aktivitas biologis tanin beberapa hijauan secara in vitro menggunakan'Hohenheim gas test'dengan polietilen glikol sebagai determinan. *Media Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor*. 2008;31(1).
- 13 Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA. Jurnal Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 2008;1(1):47–53.
- 14 Setyowati WAE, Ariani SRD, Ashadi, Mulyani B, Rahmawati CP. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. In: Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia. Padang: Akademia Permata; 2014. p. 271–80.
- 15 Minhatun N. Antioxidant Test And Identification Of Active Compounds From Chloroform Extract Of Beluntas (*Pluchea indica* L.) Leaf. *UNESA Journal of Chemistry*. 2017;6(2):17–20.
- 16 Haminiuk C, Maciel G, Plato-Oviedo M, Peralta R. Phenolic compounds in fruits - An overview. *Int J Food Sci Technol*. 2012;47(10):2023–44.