

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pining Bawang (*Horntedtia alliacea*)**Jekilian Sumati Popala^{1*}, Jeane Mongie¹, Selvana S. Tulandi², Friska Montolalu,²**¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon²Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi: jekilianspopala@gmail.com

Diterima tanggal : 27 Januari 2022, Disetujui tanggal : 28 April 2022

ABSTRAK

Tumbuhan pining bawang *Hornstedtia alliacea* merupakan salah satu jenis tumbuhan yang terdapat di Kabupaten Halmahera Barat Provinsi Maluku Utara. Secara tradisional masyarakat sekitar telah memanfaatkan sebagai obat mual. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun pining bawang *H. alliacea* dan aktivitasnya sebagai antioksidan serta nilai antioksidannya yang dinyatakan dalam IC_{50} . Jenis dalam penelitian ini yaitu penelitian eksperimental di laboratorium menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan kandungan senyawa yang terkandung dalam daun pining bawang *H. alliacea* yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, saponin dan fenolik. Senyawa kimia yang terkandung dalam daun pining bawang *H. alliacea* salah satunya adalah fenol yang merupakan golongan utama antioksidan yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Antioksidan dapat mencegah oksidasi dan dapat melindungi tubuh dari radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Senyawa radikal bebas ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh maka dapat mengakibatkan kerusakan pada sel-sel yang ada didalam tubuh yang kemudian berlangsung terus menerus. Ekstrak daun pining bawang *H. alliacea* memiliki aktivitas sangat kuat sebagai antioksidan pada nilai IC_{50} 3,87 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, Radikal Bebas, *H. alliacea***ABSTRACT**

The pining onion plant *H. alliacea* is one of the types of plants found in West Halmahera Regency, North Maluku Province. Traditionally the surrounding community has used it as a nausea medicine. The purpose of this study was to determine the content of chemical compounds contained in pining leaf extract *H. alliacea* and its activity as an antioxidant as well as its antioxidant value expressed in IC_{50} . The type of this research is experimental research in the laboratory using the DPPH method. The results showed that the compounds contained in the pining leaves of onion *H. alliacea* were alkaloids, flavonoids, tannins, steroids, saponins and phenolics. One of the chemical compounds contained in the pining leaves of onion *H. alliacea* is phenol which is the main group of antioxidants found in plants. Antioxidants can prevent oxidation and can protect the body from free radicals. Free radicals are molecules that have an unpaired electron in their outer orbital so they are highly reactive. These free radical compounds tend to hold chain reactions which, if they occur in the body, can cause damage to the cells in the body which then goes on continuously. onion leaf extract pining *H. alliacea* have a very strong antioxidant activity at IC_{50} of 3.87 ppm.

Keywords: Antioxidants, Free Radicals, *H. Alliacea***1. PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara yang mempunyai kekayaan alam yang

memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat-obatan. Secara turun-temurun masyarakat telah memanfaatkan berbagai jenis tumbuhan

sebagai bahan obat tradisional untuk pencegahan maupun pengobatan terhadap berbagai macam penyakit, salah satunya adalah tumbuhan pining bawang .

Halmahera Barat merupakan daerah yang terletak di bagian Timur Indonesia. Halmahera Barat sendiri tumbuhan Pining bawang digunakan sebagai obat tradisional untuk pencegahan maupun pengobatan terhadap berbagai macam penyakit. Tumbuhan pining bawang ditemukan didaerah hutan terutama pada daerah lembab yang kaya akan humus. Pining bawang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat, dapat menghilangkan rasa lelah, mengurangi kolesterol bahkan menambah stamina.

Senyawa kimia yang terkandung dalam buah Pining bawang (*H. alliacea*) yaitu berupa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan polifenol [1]. Senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional. Flavonoid juga terdapat pada semua tumbuhan yang terkandung senyawa metabolit sekunder dan banyak digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai antikoagulan, antioksidan, antihipertensi, antivirus dan antiinflamasi[2].

Antioksidan dapat mencegah oksidasi dan dapat melindungi tubuh dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas. Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat kemudian terakumulasi dan dari kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini [3]. Penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus, jantung koroner, stroke, hipertensi, penyakit autoimun hingga kanker dapat disebabkan oleh radikal bebas [4].

2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sarung tangan,

masker, beker gelas, labu ukur, tisu kering, kertas saring, batang pengaduk, toples, timbangan analitik, tabung reaksi, Yamato RE-201 *rotary evaporator*, aluminium foil, buret, botol vial, gelas ukur, mikropipet, penggaris, gunting, corong kaca, pensil, label, kuvet, cawan petri, vortex, dan spektrofotometer UV-1800.

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun pining bawang yang diperoleh dari Desa Tuguis, Kecamatan Tabaru, Kabupaten Halmahera Barat. Bahan lain yang digunakan sebagai bahan pengekstrak dan bahan kimia untuk analisis yaitu etanol 95%, metanol, DPPH, dan vitamin C p.a, pereaksi mayer, pereaksi dragendorf, pereaksi wagner, HCl pekat, Mg Etanol, FeCl₃ 1%, aquades, asam asetat glasial, asam sulfat pekat, FeCl₃ 5%.

Penyiapan Sampel

Daun H. alliacea yang diperoleh dari Desa Tuguis, Kecamatan Tabaru, Kabupaten Halmahera Barat. Daun yang digunakan tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua untuk mendapatkan zat aktif yang maksimal, kemudian dicuci dan dibersihkan menggunakan air mengalir setelah itu dipotong-potong. Disiapkan kemudian di maserasi.

Ekstraksi Daun Pining Bawang (*H. alliacea*)

Daun Pining bawang *H. alliacea* diekstraksi dengan cara maserasi. Daun Pining bawang *H. alliacea* ditimbang sebanyak 1 kilogram ditambahkan 2 L pelarut etanol 95% dan direndam selama 24 jam, lalu filtrat dipisahkan. Sampel kemudian dimaserasi sebanyak 5 kali. Filtrat yang telah diperoleh dicampurkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C sampai diperoleh ekstrak kental yang masih bisa dituang kemudian dimasukkan ke dalam botol vial lalu ekstrak ditimbang [5]

Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak

Pemeriksaan dilakukan menggunakan beberapa pereaksi kimia untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid, tanin,

flavonoid, saponin dan fenolik (Sangi *et al.*, 2008).

Alkaloid

Untuk mengidentifikasi alkaloid, ekstrak sebanyak 50-100 mg ditambahkan kloroform secukupnya, selanjutnya ditambahkan 10 mL amoniak dan 10 mL kloroform. Kemudian larutan disaring ke dalam tabung reaksi dan filtrat ditambahkan 10 tetes H₂SO₄ 2N. Campuran dikocok dengan teratur, dibiarkan beberapa menit sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL. Kemudian masing-masing tabung tersebut ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, wagner dan dragendorff. Jika setelah penambahan pereaksi mayer terbentuk endapan putih, dan pereaksi wagner terbentuk endapan berwarna coklat serta pada penambahan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan berwarna jingga maka sampel positif mengandung alkaloid.

Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak sebanyak 50-100 mg ditambahkan asam asetat glasial sampai semua sampel terendam, dibiarkan selama 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Sampel dikatakan positif mengandung triterpenoid apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga atau ungu, sedangkan steroida akan berubah warna menjadi biru.

Tanin

Ekstrak sebanyak 50 mg ditambah etanol sampai terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Sampel positif mengandung senyawa tanin apabila terjadi perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau.

Flavonoid

Sampel ekstrak sebanyak 50 mg diekstrak dengan 5 mL etanol dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah beberapa tetes HCL pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil

positif jika selama 3 menit sampel menunjukkan warna merah tua.

Saponin

Sampel ekstrak sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit dan kemudian didinginkan, lalu sampel dikocok kuat-kuat. Jika terbentuk buih yang stabil maka sampel positif mengandung saponin.

Fenolik

Sebelum melakukan identifikasi senyawa fenolik perlu dilakukan ekstraksi secara terus-menerus menggunakan alat soxhlet dengan pelarut eter untuk melarutkan lemak dan klorofil yang terdapat pada sample. Setelah diekstraksi menggunakan eter selanjutnya diekstraksi dengan metanol 90% kemudian dengan metanol 50% untuk mengikat komponen-komponen yang bersifat polar. 1 mL ekstrak metanol ditambah FeCl₃ 5% jika terjadi perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi coklat orange maka sampel memiliki kandungan senyawa fenolik.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pining Bawang Dengan Metode DPPH

Ekstrak daun *H. alliacea* diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dengan tahapan sebagai berikut :

- 1 Pembuatan Larutan DPPH
Serbuk DPPH (BM 394,32) 0.39432 gram dilarutkan dengan methanol p.a 10 ml. Larutan DPPH 0.1M dipipet 100µl dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dicukupkan dengan methanol p.a sampai tanda batas (DPPH 0.1mM).
- 2 Penentuan Panjang Gelombang DPPH
Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan metanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang

- 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Musfiroh dan Syarieff 2009) panjang gelombang maksimum 517 nm.
3. Pembuatan Larutan Blangko Larutan DPPH 0.15mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit , selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.
 3. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak dan Vitamin C (Konsentrasi 1000 ppm) Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan dengan methanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, volume dicukupkan dengan methanol p.a sampai tanda batas.

Tabel 1. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi

Konsentrasi	Larutan stok (ml)	Metanol p.a (ml)
5ppm	0.05	10
10 ppm	0.1	10
15 ppm	0.15	10
20 ppm	0.2	10
25 ppm	0.25	10

4. Pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis
Sebanyak 2 ml masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0.15 mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.
5. Penentuan Persen inhibisi Akitivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:
% inhibisi
= $\frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$
6. Penentuan Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)
Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan sebagai nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀ (Nurjanah, Izzati & Abdullah, 2012).
Dari % peredaman yang diperoleh tentukan IC₅₀ yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Harga IC₅₀ ditentukan dengan rumus :

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan :
a : nilai x pada kurva linear
b : nilai y pada kurva linear

Senyawa yang dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 150-200 ppm.

Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa maka semakin kuat pula aktivitas antioksidan senyawa tersebut karena dengan konsentrasi yang kecil mampu menghambat radikal bebas DPPH dengan baik [6].

3.4.5. Analisis Data

Data antioksidan dianalisis dengan persamaan *regersi linear* menggunakan program *Microsoft Excel* untuk melihat hubungan variasi konsentrasi dengan persen inhibisi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sampel Daun Pining Bawang

Pada penelitian digunakan daun *Hornstedtia alliacea* atau daun pining bawang yang diperoleh dari Desa Tuguis, Kecamatan Tabaru, Kabupaten Halmahera Barat. Proses yang dilakukan untuk memisahkan dari bagian tumbuhan yang tidak diinginkan kemudian sampel dibersihkan dengan menggunakan air bersih dan yang mengalir. Pencucian juga dilakukan untuk membersihkan kotoran-kotoran maupun bahan-bahan asing lainnya yang melekat pada bahan sampel. Daun yang digunakan tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua untuk mendapatkan zat aktif yang maksimal.

Sampel ditiriskan untuk mengurangi kandungan air kemudian dipotong-potong menjadi bagian-bagian lebih kecil yang ditujukan untuk memperluas permukaan sampel agar mempermudah proses penarikan zat aktif pada saat ekstraksi. Sampel tidak dikeringkan karena proses ekstraksi akan langsung dilakukan sesaat setelah daun *H. alliacea* dipetik sehingga tidak akan mengalami proses penyimpanan dalam waktu yang lama, dan juga untuk mengurangi resiko hilangnya kandungan senyawa kimia yang terkandung pada sampel dan proses pengeringan. Daun *H. alliacea* sebanyak 1 kilogram setelah melewati proses sortasi basah, pencucian, dan pemotongan. Daun *H. alliacea* yang siap di ekstraksi.

Proses ekstraksi digunakan metode maserasi, karena metode ini sangat sederhana dan umum digunakan, yakni dengan merendam sampel di dalam pelarut pada suhu kamar (tanpa pemanasan) untuk mencegah atau menghindari kerusakan kandungan senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan yang tidak tahan pada suhu panas dan juga menggunakan pelarut etanol karena etanol adalah pelarut polar namun dapat juga menyari senyawa kimia yang bersifat polar maupun nonpolar.

Selama proses maserasi, wadah selalu dalam keadaan tertutup rapat untuk menghindari terjadinya proses oksidasi oleh udara dari luar. Maserasi juga dilakukan di dalam ruangan tertutup untuk menghindari pengaruh cahaya sinar matahari terhadap stabilitas senyawa-senyawa yang akan diekstraksi [7,8,9].

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi yakni etanol 95% (Sebanyak 14 L), dengan memiliki *extracting power* (daya ekstraksi) yang luas sehingga pelarut etanol 95% dapat mengekstraksi hampir semua senyawa metabolit sekunder pada daun *H. alliacea*. Etanol digunakan sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak daun *H. alliacea* dapat melarutkan kandungan senyawa-senyawa alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid, steroid [10].

Proses maserasi selama 5 x 24 jam, dengan setiap 24 jam di lakukan penggantian pelarut dan didapatkan filtrat 1-5. Larutnya komponen kimia dalam simplisia saat proses maserasi, umumnya akan terjadi apabila pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel. Rongga sel terdapat senyawa aktif yang dapat larut di dalam pelarut.

Perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam sel dengan diluar sel menyebabkan larutan dengan konsentasi tinggi didesak keluar ke konsentasi rendah. Apabila telah terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel, maka proses ekstraksi

berhenti. Penggantian pelarut diperlukan karena terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel [11].

Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Filtrat 1-5 disatukan dan di evaporasi (Penguapan) pada *rotary evaporator* dengan suhu 40°C sampai terbentuk ekstrak dengan kekentalan yang maksimal dan dibantu dengan alat vakum udara sehingga titik didih pelarut lebih rendah. Penguapan berlangsung cepat sehingga kemungkinan terjadinya penguraian senyawa yang termolabil dapat dihindari (Hanani, 2016). Hasil

dari evaporasi didapatkan ekstrak kental dengan bobot 79,18 gr. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi ini adalah etanol yang merupakan jenis pelarut polar untuk mengekstraksi senyawa polar. Ekstrak kental yang dihasilkan ditimbang kemudian nilai % rendemen dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot sampel yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Nilai % rendemen ekstrak dapat dilihat pada Table 1. Ekstrak kental tersebut kemudian digunakan dalam pengujian selanjutnya.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Daun *H. alliaceae*

Nama Sampel	Bobot Sampel Basah (gr)	Bobot Ekstrak kental (gr)	Rendemen Ekstrak (%)
Ekstrak etanol	1.000	79,18	7,918

Penapisan Fitokimia

Hasil ekstrak kental daun *H. alliaceae* yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian skrining fitokimia senyawa alkaloid, triterpenoid dan steroid, tanin, flavonoid, saponin dan fenolik. Skrining fitokimia ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji tabung yaitu mereaksi sampel dengan

larutan pereaksi spesifik untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang ada dalam tumbuhan. Uji fitokimia ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun *H. alliaceae*. Hasil skrining dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penapisan Fitokimia Daun *H. alliaceae*

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	+
	Wagner	+
	Mayer	+
Flavonoid	HCl pekat dan Mg	+
Tanin	Etanol dan FeCl ₃ 1%	+
Saponin	Aquades	+

Steroid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	+
Triterpenoid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	-
Fenolik	FeCl ₃ 5%	+

Keterangan : Tanda (+) menunjukkan adanya senyawa yang diuji, sementara tanda (-) menunjukkan senyawa yang diuji tidak ada pada ekstrak etanol Daun *H. allieacea*

Hasil uji golongan senyawa yang diperoleh, diketahui ekstrak daun *H. allieacea* hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol yang merupakan pelarut polar diketahui positif teridentifikasi kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan fenolik. Hasil positif dalam pengujian alkaloid dengan menggunakan tiga pereaksi seperti Dragendorf, Wagner dan Meyer. Pada uji Dragendorf diketahui sampel mengandung alkaloid karena terbentuknya endapan berwarna jingga, untuk pereaksi wagner terbentuk endapan warna coklat dan pada pereaksi Meyer terbentuk endapan warna putih. Pembentukan endapan terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks dari reaksi senyawa alkaloid dengan ion K⁺ pada masing-masing pereaksi yang digunakan [12]. Hasil positif pengujian flavonoid dengan terjadinya warna jingga setelah penambahan serbuk Mg dan HCl ditunjukkan oleh sampel. Serbuk logam Mg dan HCl berfungsi mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid dan membentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga [13].

Hasil positif pengujian tanin diketahui dari perubahan warna yang terjadi setelah penambahan larutan FeCl₃ 1% yaitu warna hijau kehitaman. Perubahan warna terjadi akibat reaksi penambahan FeCl₃ dengan salah satu gugus hidroksil yang terdapat pada

senyawa tanin. Penambahan FeCl₃ menyebabkan terjadinya warna hijau kehitaman yang mengindikasikan adanya tanin terkondensasi [14]. Hasil pengujian pada sampel diketahui positif mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa setelah pengocokan dan tidak hilang setelah 10 menit. Kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa aglikonnya [15].

Pada pengujian senyawa steroid menunjukkan hasil positif dengan ditandai terjadinya perubahan warna pada sampel larutan uji setelah penambahan asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat. Sedangkan pada pengujian senyawa triterpenoid menunjukkan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna. Pada pengujian steroid dan triterpenoid, analisis senyawa didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna dengan asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat [15]. Hasil positif pengujian fenolik ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna coklat. Reaksi FeCl₃ dengan sampel membuat pembentukan warna pada uji ini, yang berperan adalah ion Fe³⁺ yang mengalami hibridasi [12].

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *H. allieacea*

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *H. allieacea* dengan menggunakan metode DPPH. Pada penelitian yang telah dilakukan terdahulu

cara ini paling sering dipakai untuk menguji aktivitas antioksidan sampel secara *in vitro* serta merupakan metode yang sederhana, membutuhkan waktu singkat dan juga bahan kimia dan sampel yang digunakan relatif sedikit [16]. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur panjang gelombang dengan panjang gelombang optimum 517 nm. Nilai antioksidan dinyatakan dengan IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas dari DPPH.

Pengukuran serapan dilakukan selama rentang waktu inkubasi memasuki menit ke-26 hingga menit ke-30 agar terjadi reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dengan sampel yang diuji secara maksimal. Karena *operating time* dengan serapan yang stabil meningkat pada senyawa antioksidan terjadi di menit ke 15 sampai menit ke 30 dan absorbansi maksimalnya terjadi pada menit ke 26 sampai 30 [17].

Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi.

Prinsip dari metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menstabilkan senyawa radikal bebas dari DPPH. Perubahan warna larutan berubah dari ungu menjadi kuning menjadi indikasi bahwa semua elektron pada radikal bebas telah berpasangan [16].

Data % inhibisi baik terhadap ekstrak etanol daun *H. alliacea* dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5. Hasil uji antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *H. alliacea* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yakni 3.87 µm/mL. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4. Vitamin C yang digunakan sebagai pembanding memiliki IC₅₀ 1.34 µm/mL. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *H. alliacea*

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀
	U1	U2	U3			
5	0,416	0,403	0,434	0,418	50.06	3.87
10	0,383	0,336	0,334	0,351	58.07	
15	0,139	0,127	0,211	0,159	81.00	
20	0,139	0,124	0,127	0,130	84.47	
25	0,123	0,121	0,105	0,116	86.14	
Kontrol DPPH	0.836	0.838	0.837	0.837	0	

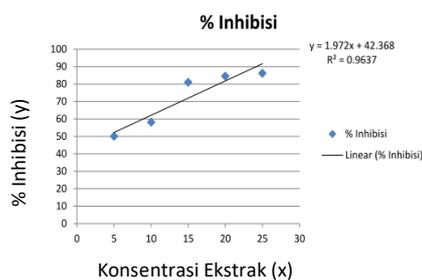
Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Pembanding

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
	U1	U2	U3			
5	0.418	0.418	0.418	0.418	50.06	1.34
10	0.227	0.233	0.231	0.230	72.52	
15	0.196	0.199	0.123	0.173	79.33	
20	0.104	0.092	0.109	0.102	87.81	
25	0.084	0.085	0.086	0.085	89.84	

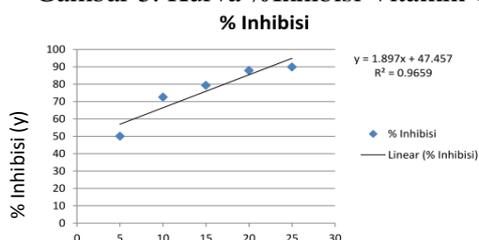
Kontrol DPPH	0.836	0.838	0.837	0.837	0
--------------	-------	-------	-------	-------	---

Nilai IC₅₀ ekstrak daun *H. allieacea* dan vitamin C didapat dari hasil perhitungan persamaan regresi linier pada gambar 4 dan 5 dibawah, dimana persamaan regresi dari ekstrak daun *H. allieacea* yang didapat pada gambar 4 dibawah adalah $y = 1,972x + 42,368$ dan $r = 0,9637$ dan vitamin C yang didapat pada gambar 5 dibawah adalah $y = 1,897x + 47,457$ dan $r = 0,9659$. Koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai IC₅₀, sedangkan koefisien x pada persamaan ini adalah konsentrasi dari ekstrak daun *H. allieacea* dan vitamin C yang akan dicari nilainya, dimana nilai dari x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Menurut [18] bahwa Nilai R yang mendekati 1 bernilai positif, Nilai R memiliki nilai maksimum 1 tidak pernah lebih dari 1 yang menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun *H. Allieacea* dan vitamin C maka semakin besar aktivitas antioksidannya hal ini dapat dilihat dari kurva hubungan konsentrasi ekstrak daun *H. allieacea* dan vitamin C terhadap persen inhibisi pada gambar 4 dan 5 berikut:

Gambar 4. Kurva % Inhibisi Ekstrak.



Gambar 5. Kurva %Inhibisi Vitamin C



Konsentrasi Vitamin C (x)

Pada penelitian ini, termasuk kategori sangat kuat yang dinyatakan dalam IC₅₀. Semakin rendah nilai IC₅₀ maka semakin besar kemampuan antioksidannya dikarenakan IC₅₀ menunjukkan besarnya konsentrasi suatu senyawa dalam menghambat radikal DPPH sebanyak 50% [6]. Nilai IC₅₀ dari ekstrak daun *H. allieacea* lebih rendah dibandingkan nilai IC₅₀ dari vitamin C.

Aktivitas antioksidan berdasarkan penangkapan radikal DPPH memiliki hubungan dengan kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang terdapat pada tanaman. Berdasarkan penelitian terdahulu [19], telah ditemukan bahwa senyawa-senyawa fenol mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat yang dapat menyumbangkan elektronnya. Senyawa fenol bereaksi sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengelat logam yang potensial.

4. KESIMPULAN

Ekstrak daun *H. allieacea* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan fenolik dan Ekstrak daun *H. allieacea* memiliki aktivitas sangat kuat sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ 3.87 µm/mL.

5. DAFTAR PUSTAKA

1. Firman G., Winda T.W., Vera N., Keni I. 2020. *Antioxidant Activity Of Pining (Hornstedtia Allieacea) By Using DPPH Method*, Jurnal Ilmiah Farmako Bahari. Hal. 73
2. Rahmanian N., Herpandi., Rozirwan. 2018. *Phytochemical Test Of Mangrove Avicennia Alba, Rhizophora Apiculata And Sonneratia Alba From Musi River Estuary, South*

- Sumatera. *Biovalentia: Biological Research Journal*. Issn: 2477-1392.
- Liochev S.I. 2013. *Reactive Oxygen Species and the Free Radical Theory of Aging. Free Radical Biology and Medicine*. 60: 1-4.
 - .Salamah N., Widyaningsih W., Izati I., Susanti H. 2015. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Etanol Ganggang Hijau *Spirogyra sp.* dan *Ulva lactuca* dengan metode DPPH. *J Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2015;13(2):145–50.
 - .Encik E. R., Adha P. W., 2016. Pengaruh Ekstraksi Cara Basah dan Cara Kering Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cengkodok (*Melastoma malabathricum L.*) *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 5 (11).
 - Syaifuddin S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena voss.*) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH. *Dissertation*, UIN Walisongo. Semarang.
 - Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. 2000. Parameter Umum Standar Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
 - Srijanto B, Rosidah I, Ris E, Syabirin G, Aan, Mahreni. 2004. Pengaruh Waktu, Suhu dan Perbandingan Bahan Baku-Pelarut pada Ekstraksi Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) dengan Pelarut Aseton. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*. 1-5.
 - Tensiska., Marsetio., Yudiastuti, S. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. *Laporan Penelitian*. FTIP Universitas Padjadjaran, Bandung.
 - .Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Journal Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
 - Hanani E. 2016. Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. Hal. 13-103.
 - Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. *J. Biofarmasi*. 3(1): 26-31.
 - Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain pada Ekstrak Metanol Daun (*Carica pubescens Lanne & K. Koch*) dengan LC/MS. Skripsi S1. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
 - Sangi M., Runtuwene M.R.J., Simbala H.E.I., dan Makang V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1,47-53.
 - Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi., Mulyani, B. Rahmawati, C. P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia UNS*, Surakarta.
 - Erawati. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia daedalanthera Pierre* Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Paling Aktif. Skripsi. Universitas Indonesia, Depok.
 - Widyowati, H., Ulfah, M., Sumantri. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa L.*) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*. 11(1): 25-33.
 - Molyneux, p. (2004), *The use of the stable free radical diphenylpicryl hidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* hal 211-219
 - Rohman, A. S. Riyanto, dan N. K. Hidayati. 2007. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonid Total Daun Mengkudu. *Jurnal Agritect*. 27(4).

L