

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Manukan (*Rhinacanthus nasutus* (L) Kurz)

Indriani Maitulung^{1*}, Wilmar Maarisit¹, Douglas N. Pareta¹, Yessie K. Lengkey²

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

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

*Penulis Korespondensi; Indrianimaitulung1999@gmail.com

Diterima: 11 Mei 2022 Disetujui : 24 Oktober 2022

ABSTRAK

Antioksidan merupakan zat yang menghambat atau mencegah kerusakan sel akibat oksidasi dari radikal bebas. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai alternatif pengobatan tradisional dan berpotensi sebagai antioksidan adalah tanaman *R. nasutus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah akar *R. nasutus* memiliki aktivitas antioksidan menggunakan KLT Bioautografi dan Spektrofotometer UV-Vis. Metode penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental di Laboratorium dengan menggunakan akar *R. nasutus* dan diekstraksi dengan etanol 95% dengan metode maserasi kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam ODS. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dengan KLT Bioautografi dan secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dengan perbandingan vitamin C. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol dan ekstrak yang dihasilkan dari fraksinasi kolom kromatografi dengan metanol 80% menunjukkan adanya aktivitas antioksidan secara kualitatif dan kuantitatif. Fraksi metanol 80% dan ekstrak kasar etanol akar *R. nasutus* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 masing-masing 8.32ppm dan 36.77ppm.

Kata kunci: *Rhinacanthus nasutus*, antioksidan, KLT Bioautografi, Spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

Antioxidants are substances that inhibit or prevent cell damage due to oxidation of free radicals. One plant that is efficacious as an alternative to traditional medicine and has the potential as an antioxidant is the *R. nasutus* plant. The study aimed to find out whether the roots of *R. nasutus* have antioxidant activity using KLT Bioautography and UV-Vis Spectrophotometers. The research method used is experimental research in the laboratory using the roots of *R. nasutus* and extracted with 95% ethanol by maceration method then fractionated using column chromatography with ODS stationary phase. Testing of antioxidant activity is carried out qualitatively with KLT Bioautography and quantitatively with a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 517 nm with a ratio of vitamin C. The results of this study showed that crude extracts of ethanol and extracts resulting from fractionation of chromatography columns with 80% methanol showed qualitative and quantitative presence of antioxidant activity. The 80% methanol fraction and crude extract of *R. nasutus* root ethanol have antioxidant activity with IC50 values of 8.32 ppm and 36.77 ppm, respectively.

Keywords: *Rhinacanthus nasutus*, antioxidant, KLT Bioautography, UV-Vis Spectrophotometer

1. PENDAHULUAN

Di Indonesia, penyakit degeneratif cenderung meningkat disebabkan karena adanya perubahan gaya hidup masyarakat salah satunya pola makan yang tidak sehat. Pemicu terjadinya penyakit degeneratif adalah radikal bebas yang disebabkan oleh atom atau molekul yang bersifat

reaktif. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam pembentukannya, sehingga dapat menimbulkan senyawa abnormal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh¹.

Antioksidan berfungsi sebagai penangkal

radikal bebas yang banyak terbentuk di dalam tubuh akibat lingkungan dan pola hidup yang tidak sehat. Untuk menangkal terjadinya oksidasi ini diperlukan antioksidan yang berfungsi menstabilkan dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga sel-sel terlindungi dari senyawa reaktif tersebut².

Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat kemudian terakumulasi sehingga kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini³. Selain penuaan dini, radikal bebas juga dapat menyebabkan penyakit lain seperti arteriosklerosis dan kanker yang disebabkan oleh kerusakan jaringan akibat reaksi oksidasi⁴.

Secara empiris, sebagian besar masyarakat Talaud, khususnya di Desa Taturan, Kecamatan Gemeh, Kabupaten Kepulauan Talaud menggunakan tanaman *R. nasutus* sebagai salah satu alternatif pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti diabetes, penyakit kudis dan gatal-gatal. Tanaman ini berasal dari famili Acanthaceae, tersebar luas di seluruh Asia Tenggara dan telah digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan penyakit kulit, diabetes, hipertensi dan pneumonia^{5,6}. Selain itu, penelitian sebelumnya juga menjelaskan bahwa bagian dari daun *R. nasutus* memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas⁷.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar manukan (*Rhinacanthus nasutus* (L) Kurz).

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jas lab, sarung tangan, masker, tisu kering, beker gelas, labu ukur, kertas saring, batang pengaduk, toples kaca, labu destilasi 1000ml, timbangan analitik, tabung reaksi, rotary evaporator, corong pisah, kapas 25gr, aluminium foil, buret, klem, statif, pompa udara aquarium, sapu lidi, botol vial, gelas ukur, kertas plat KLT, mikropipet, penggaris, gunting, pensil, label, kuvet, corong kaca, spatula, erlenmeyer, pipet tetes, cawan petri dan spektrofotometer UV-1800. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar manukan *R. nasutus* yang diperoleh dari Desa Taturan, Kecamatan Gemeh, Kabupaten Kepulauan Talaud. Bahan lain yang

digunakan sebagai bahan pengekstrak dan bahan kimia untuk analisis yaitu etanol 95%, vitamin C, aquadest, DPPH, etil asetat, 30gr ODS (oktadesil silika) dan metanol masing-masing berderajat pro analisis.

Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental di Laboratorium.

Penyiapan sampel

Akar *R. nasutus* yang diperoleh dari Desa Taturan, Kecamatan Gemeh, Kabupaten Kepulauan Talaud disortasi basah, kemudian dicuci dan dibersihkan menggunakan air mengalir setelah itu dipotong-potong dengan ukuran kecil.

Pembuatan Ekstraksi

Ekstrak akar *R. nasutus* diekstraksi dengan cara maserasi dan partisi. Akar *R. nasutus* ditimbang sebanyak 700 gram ditambahkan 1L pelarut etanol 95% dan direndam selama 24 jam. Proses ini dilakukan selama 3 hari dan di filtrasi menggunakan kertas saring. Setelah di saring akan menghasilkan filtrat pertama, kedua dan ketiga yang selanjutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat etanol. Tahap selanjutnya adalah proses partisi, dimana ekstrak pekat etanol dilarutkan dengan akuades kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dicampurkan dengan etil asetat 200ml dan diulangi sebanyak 3 kali. Kemudian dikocok dan didiamkan sehingga terbentuk lapisan air dan lapisan etil asetat. Setelah diperoleh lapisan air dan lapisan etil asetat kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator.

Kromatografi Kolom

Pada kolom kromatografi dimasukkan kapas yang telah di basahi oleh metanol. Setelah itu, masukkan ke dalam kolom kromatografi bubuk oktadesil silika 30gram yang telah direndam selama 1 malam dengan metanol. Kemudian, masukkan ekstrak kental ke dalam kolom kromatografi di batas atas oktadesil silika. Selanjutnya kombinasi pelarut metanol dan air dimasukkan secara terus menerus bersamaan dibukanya keran kolom. Larutan yang dimasukkan terdiri dari beberapa variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan

100% metanol. Fraksi kemudian di pisahkan sesuai konsentrasi lalu ditampung di dalam botol vial dan kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator. Setelah itu setiap fraksi akan di analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis.

Uji Antioksidan Menggunakan KLT Bioautografi

Dalam pengujian antioksidan, metode yang tepat digunakan adalah metode KLT dibuat batas atas dan batas bawah dengan menggunakan pensil. Sampel di totolkan pada plat KLT kemudian dimasukkan pada gelas kaca yang berisi larutan pengembang yaitu etil asetat dan heksan dengan perbandingan yang berbeda. Setelah itu KLT dibiarkan hingga larutan pengembang bergerak mencapai garis batas atas pada plat KLT dan diamati spot pemisahan senyawa yang terbentuk secara kasat mata menggunakan sinar UV. KLT dilakukan hingga didapatkan perbandingan pelarut⁸⁻¹⁰.

Dari hasil pemisahan KLT juga dapat diketahui nilai R_f (Retention factor) senyawanya. Nilai R_f merupakan perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa terhadap jarak yang ditempuh pelarut. Plat kemudian diamati pada sinar UV dengan panjang gelombang 254nm. Setelah itu plat KLT disemprot dengan menggunakan larutan DPPH. Diamati adanya perubahan warna spot selama kurang lebih 10 menit. Hasil positif adanya penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan ditandai dengan perubahan area spot yang semula ungu (setelah disemprot DPPH) berubah menjadi warna kuning. Fraksi yang aktif selanjutnya di uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Uji Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

1. Pembuatan Larutan DPPH 0.1mM
Serbuk DPPH (BM 394,32) 0.39432gram dilarutkan dengan metanol p.a 10ml. Larutan DPPH 0.1M dipipet 100µl dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas (DPPH 0.1mM).
2. Optimasi Panjang Gelombang DPPH
Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a 2ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang

517nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan ditentukan panjang gelombangnya¹⁰⁻¹⁶.

3. Persiapan Larutan Uji
 - a. Pembuatan larutan induk (konsentrasi 1000ppm)
Sebanyak 10mg sampel dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu takar 10ml, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.
 - b. Pembuatan Larutan Seri
Ekstrak etanol akar *R. nasutus* dibuat dengan variasi konsentrasi 50ppm, 100ppm 150ppm, 200ppm dan 250ppm. Masing-masing dipipet 0,25ml; 0,5ml; 0,75ml; 1ml dan 1,25ml dimasukkan ke dalam labu ukur masing-masing 5mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10mL.
4. Pembuatan Larutan Vitamin C
 - a. Pembuatan Larutan Induk (konsentrasi 1000ppm)
Ditimbang vitamin C p.a sebanyak 50mg, dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.
 - b. Pembuatan Larutan Seri (konsentrasi 1ppm; 2ppm; 3ppm; 4ppm dan 5ppm)
Larutan induk vitamin C, masing-masing dipipet 0,005ml; 0,01ml; 0,015ml; 0,02ml dan 0,025ml dimasukkan ke dalam labu ukur masing-masing 5mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.
5. Pengukuran Serapan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis
Sebanyak 2ml masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan ke dalam tabung rekasi, ditambahkan 2ml larutan DPPH 0.1mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap dan pada menit ke 26 dan maksimal pada menit ke 30 diukur serapannya pada panjang gelombang 517nm.
6. Penentuan Persen Inhibisi
Akitivitas penangkal radikal dinyatakan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi DPPH} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi bahan uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

7. Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Dari % peredaman yang diperoleh tentukan IC₅₀ yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai 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 baik¹⁷.

Analisis Data

Pengujian antioksidan menggunakan metode KLT Bioautografi dan metode Spektrofotometer UV-Vis dianalisis dengan melihat perubahan warna masing-masing sampel setelah diinkubasi bersama DPPH. Jika semua elektron DPPH berpasangan dengan elektron pada sampel ekstrak maka akan terjadi perubahan warna sampel dimulai dari warna ungu tua yang menjadi warna kuning terang. Setelah itu larutan di hitung nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari proses maserasi diperoleh maserat berwarna merah, kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak pekat sebanyak 52,21 gram. Penguapan dilakukan pada suhu 40 °C bertujuan untuk mencegah dekomposisi senyawa yang terkandung di dalamnya. Penguapan pada suhu 40°C juga dilakukan karena penggunaan suhu yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan atau penurunan kadar fenolik yang terkandung dalam sampel⁸.

Selanjutnya ekstrak dipartisi, dimana ekstrak pekat etanol dilarutkan dengan akuades kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dicampurkan dengan etil asetat 200 ml dan diulang sebanyak 3 kali. kemudian dikocok dan

didiamkan sehingga dihasilkan fraksi etil asetat dan fraksi air (H₂O), selanjutnya fraksi hasil partisi diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak fraksi etil asetat (6,11gr), dan fraksi air (H₂O) (149,07gr). Metode partisi dalam isolasi senyawa metabolit sekunder bertujuan untuk mengklasifikasikan senyawa-senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran¹⁸.

Hasil Kromatografi Kolom

Setelah melewati proses ekstraksi, kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan kolom kromatografi dengan menggunakan kombinasi pelarut metanol : air yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Fase diam yang digunakan adalah oktadesil silika (C₁₈) tujuannya adalah untuk mengisolasi senyawa-senyawa yang polar. Dapat dilihat pada Tabel 1. Sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Pemisahan Kromatografi Kolom

Fase Diam	Fase Gerak Metanol : Air	Frakasi	Gram
30 gr ODS	100 ml + 400 ml	20%	0.05
	200 ml + 300 ml	40%	0.23
	300 ml + 200 ml	60%	0.53
	400 ml + 100 ml	80%	4.45
	500 ml	100%	0.39

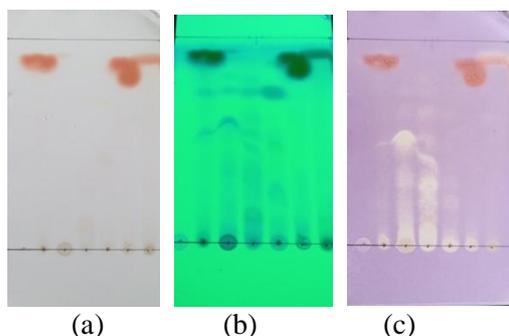
Berdasarkan hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada variasi konsentrasi 20% memiliki berat 0.05gr, 40% memiliki berat 0.23gr, 60% memiliki berat 0.53gr, 80% memiliki berat 4.45gr dan 100% memiliki berat 0.39gr.

Hasil Uji Antioksidan Menggunakan KLT Bioautografi

Pada fraksi 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, fraksi air (H₂O) dan fraksi etil asetat yang di tolkan pada plat KLT terdapat spot berwarna kuning. Spot berwarna kuning menandakan bahwa pada ekstrak *R. nasutus* terdapat aktivitas antioksidan. Uji antioksidan kualitatif ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antioksidan dari ekstrak *R. nasutus*. Ekstrak *R. nasutus* ditolkan pada plat KLT kemudian dielus dengan eluen yang sesuai dan disemprot dengan larutan DPPH.

Ekstrak *R. nasutus* telah diidentifikasi memiliki senyawa metabolit sekunder yang sangat penting seperti flavonoid, antrakuinon, triterpen steroid dan naftokuinon. *Rhinacanthin*

C golongan naftokuinon dilaporkan memiliki aktivitas antifungal, antiviral, antiinflamasi, sitotoksik, antitumor, antiproliferatif, imunomodulatory, hepatoprotektif, antioksidan, antiplatelet¹⁹. *R. nasutus* juga menunjukkan beberapa efek farmakologis khas lainnya seperti inhibitor agregasi trombosit, antidiabetik, antituberkulosis dan antikanker²⁰.



Gambar 1. Hasil KLT (a) Sebelum Disinari, (b) Setelah Disinari UV 254, (c) Disemprot DPPH.

Hasil pada gambar 1 menunjukkan bahwa titik pertama di totolkan fraksi air (H₂O), titik kedua di totolkan fraksi etil asetat, titik ketiga di totolkan fraksi 20%, titik keempat di totolkan fraksi 40%, titik kelima di totolkan fraksi 60%, titik keenam di totolkan fraksi 80% dan titik ketujuh di totolkan fraksi 100%. Dari ketujuh fraksi yang di totolkan pada plat KLT terdapat adanya perubahan warna pada fraksi etil asetat dan fraksi 80%. Setelah melewati proses uji aktivitas antioksidan menggunakan KLT, kemudian fraksi 80% dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil Uji Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Pada uji aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan 2 sampel yaitu ekstrak fraksi metanol 80% dan ekstrak kasar etanol serta vitamin C sebagai pembanding. Masing-masing dapat dilihat pada tabel 2, 3 dan 4.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Metanol 80% Akar *R. nasutus*

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
	U1	U2	U3			
50 ppm	0.717	0.715	0.698	0.710	12.77	8.32
100 ppm	0.700	0.690	0.694	0.694	14.66	
150 ppm	0.589	0.592	0.536	0.572	29.68	
200 ppm	0.574	0.534	0.533	0.547	32.80	
250 ppm	0.561	0.528	0.545	0.544	33.08	
Kontrol DPPH	0.816	0.813	0.813	0.814	0	

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Etanol Akar *R. nasutus*

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
	U1	U2	U3			
50 ppm	0.401	0.440	0.400	0.413	49.18	36.77
100 ppm	0.315	0.376	0.338	0.343	57.86	
150 ppm	0.315	0.302	0.31	0.309	62.03	
200 ppm	0.297	0.276	0.273	0.282	65.35	
250 ppm	0.252	0.252	0.252	0.252	69.04	
Kontrol DPPH	0.816	0.813	0.813	0.814	0	

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Pembanding

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
	U1	U2	U3			
1 ppm	0.347	0.345	0.345	0.345	57.53	1.22
2 ppm	0.289	0.288	0.288	0.288	64.57	
3 ppm	0.233	0.231	0.232	0.232	71.49	
4 ppm	0.095	0.095	0.095	0.095	88.32	
5 ppm	0.087	0.087	0.087	0.087	89.31	
Kontrol DPPH	0.816	0.813	0.813	0.814	0	

Pada Tabel 2, 3 dan 4 dapat dijelaskan bahwa penghambatan radikal bebas terhadap ekstrak *R. nasutus* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka absorbansi dari *R. nasutus* semakin menurun, yang artinya *R. nasutus* dapat menangkal atau meredam radikal bebas DPPH. Pada gambar 2, 3 dan 4 menunjukkan korelasi antara variasi konsentrasi sampel dengan % inhibisi, dimana semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi akan semakin kecil akibat adanya senyawa antioksidan. Dari nilai absorbansi masing-masing konsentrasi maka dapat dihitung persen inhibisinya, yaitu kemampuan suatu senyawa untuk menghambat reaksi oksidasi yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

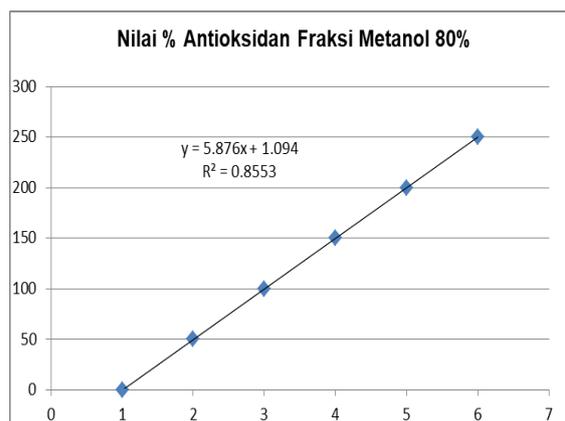
Aktivitas antioksidan metode DPPH dinyatakan dengan IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ semakin kecil berarti semakin kuat daya antioksidannya. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ <50 ppm. Berdasarkan hasil nilai IC₅₀ tersebut maka dapat dikatakan bahwa ekstrak akar *R. nasutus* memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam. Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron²¹.

Mekanisme kerja dalam metode DPPH yaitu dimana senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu ke kuning yang kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Elektron

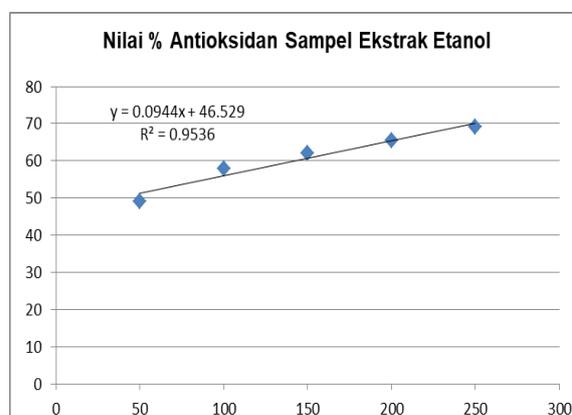
yang tidak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorbansi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 517$ nm dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil²².

Pengukuran serapan dilakukan selama rentang waktu inkubasi memasuki menit ke-26 hingga menit ke-30 agar terjadi reaksi 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 menit²³.

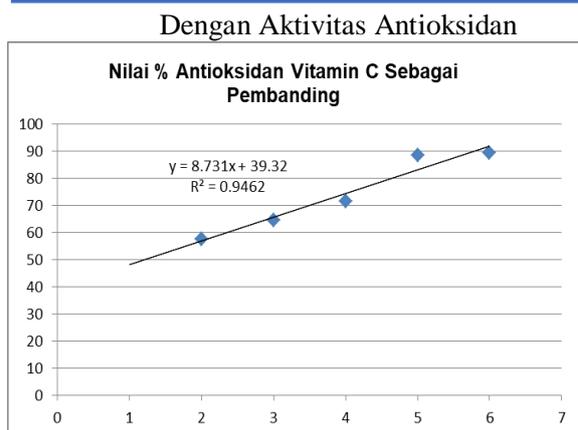
Dari hasil kurva konsentrasi ekstrak dengan menggunakan program Microsoft Excel 2010 diperoleh persamaan regresi linear dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2, 3 dan 4.



Gambar 2. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Fraksi Metanol 80% Dengan Aktivitas Antioksidan



Gambar 3. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Etanol



Gambar 4. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi Vitamin C Dengan Antioksidan

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol 80% dan ekstrak kasar etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 8.32ppm dan 36.77ppm.

5. DAFTAR PUSTAKA

1. Badarinath A V, Rao KM, Madhu C, et al. A Review On In-Vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *Int J PharmTech Res.* 2010;2(2):1276-1285. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=383951>
2. Sembiring HB, Lenny S, Marpaung L. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FLAVONOIDA DARI DAUN BENALU KAKAO (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). *Chim Nat Acta.* 2016;4(3):117. doi:10.24198/cna.v4.n3.10920
3. Liochev SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med.* 2013;60:1-4. doi:10.1016/J.FREERADBIOMED.2013.02.011
4. Miryanti YA, Sapei L, Budiono K, Indra S. EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN DARI KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.). *Res Rep - Eng Sci.* 2011;2. doi:Bandung: Universitas Katolik Parahyangan
5. Motohashi N. "Dietary Fiber, Fruit and Vegetable Consumption and Health," Chap. 4, ed. by Friedrich K., Georg

M.,. *Nov Sci Publ Inc, New York.* Published online 2010:119-155.

6. Maarisit W, Yamazaki H, Abdjul DB, Takahashi O, Kirikoshi R, Namikoshi M. A new pyranonaphthoquinone derivative, 4-oxo-rhinacanthin a, from roots of Indonesian rhinacanthus nasutus. *Chem Pharm Bull.* 2017;65(6):586-588. doi:10.1248/cpb.c17-00074
7. Upendra, R.M.; Sreenivasulu, M; Chengaiah, B.; Ravikrishna, D.; Jaganmohan, R.K.; Sangeetha, K.; Chetty CM. Rhinacanthus nasutus (LINN.) kurz: A comprehensive review. *Int JPharm Res Dev.* 2010;2:article no. 7.
8. Aryati DL, Rohadi, Pratiwi E. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (H. sabdariffa L.) Merah Pada Berbagai Suhu Pemanasan. *J Teknol Pangan dan Has Pertan.* 2020;15(1):1-9.
9. Syawal Y, Maarisit W, Tjie Jan T, Reinhard Pinontoan dan. Skrining Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga. *J Biofarmasetikal Trop.* 2019;2(2):23.
10. Binuni R, Maarisit W, Hariyadi, Saroinsong Y. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* Dari Kecamatan Tagulandang, Sulawesi Utara Menggunakan Metode DPPH. *J Biofarmasetikal Trop* 2020. 2020;3(1):79-85.
11. Juwita, D. A., Muchtar, H., Putri RK. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah dan Daging Buah Menteng (*Baccaurea racemosa* (Blume) Mull. Arg.) dengan Metode DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Sci J Farm dan Kesehatan.* 2020;10(1):56-62.
12. Gusungi DE, Maarisit W, Potalangi NO. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra.* *J Biofarmasetikal Trop.* 2020;3(1):166-174.
13. Nathania EK, Maarisit W, Potalangi NO, Tapehe Y. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecubung Hutan (*Brugmansia Suaveolens* Bercht. & J. Presl) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-

- picrylhydrazyl). *J Biofarmasetikal Trop.* 2020;3(2):40-47.
14. Tamunu MSS, Pareta DN, Karauwan FA. SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BENALU PADA KERSEN *Dendrophloe pentandra* (L.) DENGAN METODE 2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL (DPPH). Published online 2022:79-82.
 15. Simatupang RAL, Tombuku JL, Pareta DN, Lengkey YK. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Bougainvillea *Bougainvillea glabra* Sebagai Antioksidan. *Biofarmasetikal Trop.* 2021;4(1):30-39. doi:10.55724/j.biofar.trop.v4i1.305
 16. Popala JS, Mongie J, Tulandi SS, Montolalu F. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pining Bawang (*Horntedtia alliacea*). 2022;5(1):18-28.
 17. Syaifuddin S. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena* voss.) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH. *UIN Walisongo Semarang*. Published online 2015.
 18. Saputra, Tri Reksa; Ngatin, Agustinus; Sarungu YT. Penggunaan metode ekstraksi maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda. *Fuller J Chem [SI]*. 2018;v.3(n.1, p):5-8.
 19. Bhusal, N.; Panichayupakaranant, P.; Reanmongkol W. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of a standardized *Rhinacanthus nasutus* leaf extract in comparison with its major active constituent rhinacanthin-C. *Songklanakarinn J Sci Technol.* 2014;Vol. 36(No.3):pp.325-331.
 20. Bukke S, Raghu PS, Sailaja G, Kedam TR. The study on morphological, phytochemical and pharmacological aspects of *Rhinacanthus nasutus*. (L) kurz (A review). *J Appl Pharm Sci.* 2011;1(8):26-32.
 21. Ridho EA. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL). *Naskah Publ Progr Stud Farm Fak Kedokt Univ Tanjungpura Pontianak*. Published online 2013.
 22. Yuhernita, Juniarti. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Fak Kedokt Univ Yars Jakarta.* 2011;15(1):48-52.
 23. Widyowati, H., Ulfah, M. S. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Dengan Metode DPPH. *J Ilmu Farm dan Farm Klin.* 2014;11(1):25-33.