

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETANOL DAN KLOOROFORM
BUAH SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.) DENGAN
MENGUNAKAN METODE PENANGKAP RADIKAL
BEBAS DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrilhidrazil)**

Dian Kartikasari¹, Ika Ristia Rahman², Syarifah Nurhayati³
^{1,2,3}Akademi Farmasi Yarsi Pontianak

diankartikasari223@gmail.com

ABSTRAK

Buah senggani diketahui mengandung senyawa antioksidan, masalah yang dihadapi adalah senyawa aktif yang terkandung dan seberapa besar aktivitas senyawa antioksidan yang terkandung didalam buah senggani. Untuk itu dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan pada fraksi etanol dan kloroform buah senggani dengan metode penangkap radikal bebas DPPH dengan menggunakan pembandingan vitamin C. Hasil uji fitokimia pada fraksi etanol mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid triterpenoid dan steroid serta tanin, sedangkan pada fraksi kloroform mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid dan steroid. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etanol buah senggani di dapat nilai IC₅₀ sebesar 2,31 ppm dan fraksi kloroform buah senggani di dapat sebesar 1,12 ppm. Dari hasil tersebut diketahui buah senggani memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci: Senggani, Uji Fitokimia, Antioksidan, Ekstrak

Abstract

Senggani fruit to known contain antioxidant compounds, the problem is the active compound contained and how much the activity of antioxidants contained in fruits Senggani. To that tested the phytochemicals and antioxidant activity test on ethanol and chloroform fractions Senggani fruit with DPPH free radical capture method by using a comparison of vitamin C. The results of phytochemical test on ethanol fraction containing secondary metabolites, alkaloids, flavonoids, triterpenoids and steroids and tannins, while the chloroform fraction containing secondary metabolites, alkaloids, flavonoids and steroids. The test results of antioxidant activity in the ethanol fraction Senggani fruit can IC₅₀ value of 2,31 ppm and chloroform fraction Senggani fruit in a can of 1,12 ppm. Of the result known Senggani fruit has a very strong antioxidant activity

Keyword: senggani, fitokimia test, antioxidant, extract

PENDAHULUAN

Tanaman senggani sudah banyak dikenal masyarakat, atau yang biasa dikenal dengan nama Cengkodok. Buah senggani merupakan buah yang bisa dimakan, rasanya manis serta memiliki warna yang menarik yaitu berwarna biru. Buah senggani diketahui memiliki komponen aktif yang dapat sebagai sumber antioksidan. Tanaman senggani mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain alkaloid, saponin, tanin, glikosida dan flavonoid.¹

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya radikal bebas, hasil dari reaksi – reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat menetralkan radikal bebas, mengurangi risiko penyakit kronis, seperti kanker.² Diketahui buah senggani mengandung senyawa antosianin yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan penelitian Niah & Helda 2016, pada ekstrak etanol kulit buah naga merah dari Kalimantan Selatan, dimana diketahui kulit buah naga merah mengandung senyawa antosianin, didapatkan IC₅₀ Artikel diterima : 17 Maret 2018
Diterima untuk diterbitkan : 1 Mei 2018
Diterbitkan : 31 Mei 2018

ekstrak etanol kulit buah naga merah adalah 3,14 g/100ml.³

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan metode penangkap radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Metode DPPH digunakan untuk menguji kemampuan suatu komponen sebagai penangkap radikal bebas (suatu bahan atau ekstrak). Keunggulan dari metode DPPH adalah dapat dikerjakan secara cepat dan sederhana.⁴ Buah senggani diketahui mengandung senyawa antioksidan, masalah yang dihadapi adalah senyawa aktif yang terkandung dan seberapa besar aktivitas senyawa antioksidan yang terkandung didalam buah senggani. Untuk itu dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan pada fraksi etanol dan kloroform buah senggani dengan metode penangkap radikal bebas DPPH dengan menggunakan pembanding vitamin C. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kekuatan senyawa aktif sebagai sumber antioksidan yang ada pada buah senggani, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam penelitian

berikutnya maupun penggunaan sebagai pengobatan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, wadah maserasi, alat-alat gelas laboratorium, oven, evaporator, spektrofotometer uv-vis. Bahan-bahan yang digunakan adalah buah senggani, vitamin C, pelarut etanol 96%, pelarut kloroform, DPPH, dan reagen uji fitokimia.

Jalannya Penelitian

1. Ekstraksi dan fraksinasi

a. Ekstraksi

Buah senggani yang sudah kering lalu ditimbang dan dimasukkan ke bejana maserasi. Kemudian ditambahkan etanol 96% sampai terendam merata dan didiamkan sambil sesekali dilakukan pengadukan. Proses perendaman ini dilakukan selama 3 x 24 jam, dilakukan sebanyak tiga kali pergantian pelarut. Hasil maserasi disaring, sehingga diperoleh filtrate etanol. Selanjutnya pemekatan dilakukan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak

kental etanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang.

b. Fraksinasi

Ekstrak etanol hasil pemekatan selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan penambahan pelarut etanol dan kloroform menggunakan corong pisah dengan perbandingan etanol dan kloroform (1:2), lalu dikocok secara perlahan hingga tercampur dan didiamkan hingga tepat memisah menjadi dua fase. Fraksi kloroform dan etanol kemudian dipisahkan hingga didapat filtrat kloroform dan filtrat etanol.

2. Uji Fitokimia

a. Filtrat etanol dan filtrat kloroform di uji dengan pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Wagner untuk mengidentifikasi alkaloid

b. Filtrat etanol dan filtrat kloroform di uji dengan H₂SO₄ dan Shinoda Test untuk mengidentifikasi flavonoid

c. Filtrat etanol dan filtrat kloroform di uji dengan reagen Liebermann-Burchard dan reagen Salkowski untuk mengidentifikasi terpenoid dan steroid

d. Filtrat etanol dan filtrat kloroform di uji dengan cara dikocok kuat

- selama 10 detik hingga terbentuk buih mantap selama 10 menit, kemudian ditambahkan HCL buih tetap ada, hal ini untuk mengidentifikasi saponin.
- e. Filtrat etanol dan filtrat kloroform di uji dengan cara masing-masing ditambahkan NaCl 10% dan FeCl₃ 5%, hal ini untuk mengidentifikasi tanin.
3. Uji Aktivitas Antioksidan
- a. Pembuatan larutan DPPH 0,05 mM
Sebanyak 0,98 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur sampai 50 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,05 mM
- b. Pembuatan larutan sampel fraksi etanol dan fraksi kloroform buah senggani
Dibuat larutan sampel dari fraksi etanol dan fraksi kloroform buah senggani dengan menimbang 10 mg masing-masing, kemudian dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Dari larutan stok dilakukan pengenceran untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 5 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 15 ppm sebanyak 10 mL.
- c. Pembuatan larutan pembanding vitamin C
Dibuat larutan stok dari vitamin C dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 10 mg vitamin C kemudian dilarutkan dalam 10 mL air, kemudian lakukan pengenceran untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm, sebanyak 10 mL.
- d. Penentuan panjang gelombang maksimum
- e. Penentuan aktivitas antioksidan
1. Penentuan panjang gelombang maksimum
Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur absorbansi 2 mL larutan DPPH 0,05 mM kemudian ditambahkan 2 mL pelarut air kemudian dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap kemudian serapan larutan diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis. Absorbansi maksimum yang ditunjukkan merupakan absorbansi maksimum DPPH.
2. Penentuan aktivitas antioksidan fraksi etanol dan kloroform buah senggani

Larutan fraksi etanol, kloroform dan pembanding (vitamin C) masing-masing dibuat dengan konsentrasi berbeda kemudian ditambahkan DPPH 0,05 mM dengan perbandingan 1:1. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah senggani. Metode ekstraksi yang dipilih adalah maserasi. Buah senggani yang diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih sebagai metode dalam mengekstraksi karena adanya sifat buah yang lunak dan mudah mengembang dalam cairan pengestraksi. Selain itu, maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana karena cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif ini akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara

larutan zat aktif didalam dengan diluar sel menyebabkan larutan yang terpekat keluar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dengan di luar sel.⁵ Cairan penyari yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol 96%, etanol 96% dipilih karena dapat menyari hampir seluruh senyawa aktif yang ada di dalam tanaman.

Setelah dilakukan pemekatan dengan rotary evaporator, ekstrak kemudian di fraksinasi dengan pelarut etanol dan kloroform. Tujuan fraksinasi yaitu untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur. Proses fraksinasi dilakukan sampai pelarut etanol tidak berwarna, hal ini menunjukkan bahwa hampir semua senyawa yang bersifat polar sudah tertarik ke fraksi etanol, sedangkan senyawa non polar tertarik ke fraksi kloroform. Hasil fraksinasi yang sudah didapatkan selanjutnya dilakukan uji fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada masing-masing fraksi.

Uji Fitokimia aktivitas antioksidan

Dilakukan uji fitokimia pada masing-masing fraksi bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung, diantaranya, alkaloid, triterpenoid-

steroid, flavonoid, saponin, tanin. Hasil uji fitokimia pada fraksi etanol dan kloroform buah senggani dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. hasil uji fitokimia buah senggani

Senyawa Metabolit sekunder	Fraksi etanol	Fraksi kloroform
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Triterpenoid	+	-
steroid	+	+
tanin	+	+
saponin	-	-

Keterangan:

(+) adalah terdapat senyawa metabolit sekunder

(-) adalah tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada tabel 1, diketahui fraksi etanol mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid dan tanin. Pada fraksi kloroform mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan steroid. Metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidatif diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, senyawa fenol, steroid dan terpenoid.⁶

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode ini dipilih karena metode ini sederhana, cepat dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa

senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis.⁷

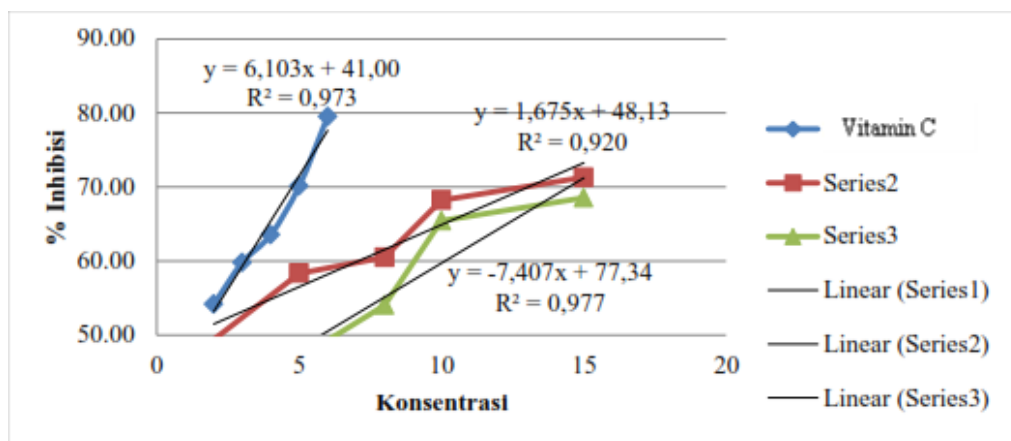
Hasil pengukuran aktivitas antioksidan fraksi etanol dan fraksi kloroform buah senggani dengan menggunakan pembanding vitamin C, diketahui bahwa kedua fraksi tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena merupakan senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, karena kemampuannya mengikat radikal oksigen sehingga tidak terjadi reaksi oksidasi.⁸ Hasil pengukuran absorbansi fraksi etanol dan fraksi kloroform buah senggani serta vitamin C, dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai absorbansi dan % inhibisi fraksi etanol dan kloroform buah senggani dan vitamin C

sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi
Fraksi etanol buah senggani	2	0,192	40,74
	5	0,172	46,91
	8	0,149	54,01
	10	0,112	65,43
	15	0,102	68,52
Fraksi kloroform buah senggani	2	0,164	49,38
	5	0,135	58,33
	8	0,128	60,49
	10	0,103	68,21
	15	0,093	71,30
Vitamin C	2	0,098	54,15
	3	0,086	59,78
	4	0,078	63,54
	5	0,064	70,11
	6	0,044	79,50

Hasil yang terlihat pada tabel 2 menunjukkan data absorbansi menurun dan persen inhibisi yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara sampel (fraksi etanol, kloroform, vitamin C) dengan DPPH pada saat proses inkubasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian,⁹ bahwa terjadi pengurangan konsentrasi DPPH setelah direaksikan dengan sampel. Hasil penentuan nilai regresi linier fraksi etanol, kloroform dan vitamin C dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan nilai R^2 pada fraksi etanol adalah 0,977, nilai R^2 fraksi kloroform adalah 0,920, dan nilai R^2 untuk vitamin C adalah 0,973. Hal ini menunjukkan R^2 yang didapat mendekati 1, dimana nilai R yang baik adalah mendekati 1. Setelah didapatkan nilai regresi linier selanjutnya dapat dihitung nilai *inhibitor concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50%.¹⁰ Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel. Nilai IC_{50} .



Gambar 1. Kurva regresi linier fraksi etanol dan kloroform buah senggani serta vitamin C

Tabel 3. Nilai IC_{50} fraksi etanol, kloroform buah senggani dan vitamin C

Sampel	Nilai IC_{50} (ppm)
Fraksi etanol	2,31
Fraksi kloroform	1,12
Vitamin C	1,47

pada fraksi etanol, kloroform dan vitamin C dapat dilihat pada tabel 3 Berdasarkan nilai IC_{50} pada tabel 3 diatas, diketahui nilai IC_{50} dari fraksi etanol 2,31 ppm, fraksi kloroform 1,12 ppm termasuk dalam kategori sangat kuat yaitu kurang dari 50 ppm (< 50 ppm).¹⁰ Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung didalam buah senggani berpotensi sebagai antioksidan alami, sehingga dapat dimanfaatkan oleh masyarakat luas.

Telah diperoleh hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder pada fraksi etanol dan fraksi kloroform pada buah senggani, yaitu pada fraksi etanol terdapat senyawa golongan alkaloid, flavonoid triterpenoid, steroid, dan tanin. Pada fraksi kloroform terdapat senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan steroid. Nilai IC_{50} fraksi etanol adalah 2,31 ppm, fraksi kloroform 1,12 ppm, serta vitamin C 1,47 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

KESIMPULAN

Artikel diterima : 17 Maret 2018

Diterima untuk diterbitkan : 1 Mei 2018

Diterbitkan : 31 Mei 2018

Kami ucapkan terima kasih kepada Akademi Farmasi Yarsi karena telah mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gholib, D., 2009, Uji Daya Hambat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes* Dan *Candida albicans*, *Berita Biologi* 9 (5), hal 523-526
2. Rohmatussolihat, 2009, Antioksidan, Penyelamat Sel Tubuh Manusia, *Biotrends*, Volume 4, Hal 5-9
3. Niah R., Helda, 2016, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Daerah Pelaihari, Kalimantan Selatan, Dengan Metode DPPH, *Jurnal Pharmascience*, Vol 03, No. 02 Hal 36-42
4. Pamarti, M., 2005, Aktivitas Antioksidatif ekstrak Biji Pinang (*Area cataceu* L.) dan Stabilitasnya terhadap panas. *Skripsi*, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah mada, Yogyakarta.
5. Markham, K.R., [1988], Cara Mengidentifikasi Flavonoid terjemahan, K. Radmawinata, Penerbit ITB, Bandung
6. Winarsi, Hery, [2007], *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta, Hal 11, 26-37.
7. Prakash, A., [2001], Antioxidant Activity, *Heart of Giant Reccource*, 19 (2), Hal 1-4
8. Hanani, E., [2005], *Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia sp, dari Kepulauan Seribu*, Departemen Farmasi FMIPA-UI Depok
9. Putri T., U., [2014], Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayur Elang (*Pterospermum diversifolium*) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) dan Identifikasi Metabolit Sekunder Pada Fraksi Aktif. *Skripsi*, Universitas Bengkulu, Bengkulu
10. Molyneux, P., [2004], The Use of The Stable Free Radical DPPH for Estimating Antioxidant Activity. *Technol*, 26 (2). Hal 211-219