

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% DAUN RAMANIA (*Bouea macrophylla Griffith.*) DARI DAERAH KALIMANTAN SELATAN DENGAN METODE DPPH

Saftia Aryzki*, Setia Budi, Yanti

Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Jalan Pramuka KM.6, 70238 Banjarmasin, Indonesia

Email*: nama1@afiliasi.ac.id

ABSTRAK

Ramania (*Bouea macrophylla Griffith.*) merupakan tanaman herbal yang memiliki sifat antioksidan dan menghambat radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak etanol daun ramania dengan melihat nilai IC_{50} . Daun ramania diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Potensi antioksidan ditetapkan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan membandingkan vitamin C yang sudah terbukti memiliki potensi radikal bebas yang sangat poten. Daun ramania yang dibuat mempunyai konsentrasi 10% lalu di encerkan hingga pada konsentrasi (20,40,60,80,100) $\mu\text{g/mL}$. Setiap infusa tersebut diambil 2 mL direaksikan 2 mL larutan DPPH 50 $\mu\text{g/mL}$ dalam tabung reaksi berlapis aluminium selama waktu (30 menit). Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun ramania adalah $0.8126 \pm 78.56387 \mu\text{g/mL}$, Nilai IC_{50} yang diperoleh dibandingkan dengan nilai inhibisi dari larutan vitamin C yang dibuat dengan variasi konsentrasi (2,4,6,8,10) $\mu\text{g/mL}$, berdasarkan nilai tersebut ekstrak daun ramania dari daerah Sleman termasuk kategori sangat poten sehingga dapat dikembangkan sebagai salah satu sumber antioksidan dari bahan alam.

Kata Kunci: Daun Ramania (*Bouea macrophylla Griffith.*), antioksidan, DPPH, IC_{50}

ABSTRACT

Ramania (Bouea macrophylla Griffith.) is a herbal plant that has antioxidant properties and inhibits free radicals. This research aims to determine the antioxidant potential of ramania leaf ethanol extract by looking at the IC_{50} value. Ramania leaves were extracted using the maceration method using 70% ethanol solvent. Antioxidant potential is determined using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method by comparing vitamin C which has been proven to have very potent free radical potential. The ramania leaves made had a concentration of 10% and then diluted to a concentration of (20,40,60,80,100) $\mu\text{g/mL}$. 2 mL of each infusion was taken and reacted with 2 mL of 50 $\mu\text{g/mL}$ DPPH solution in an aluminum-lined test tube for a period of time (30 minutes). The results showed that the IC_{50} value of the ethanol extract of ramania leaves was $0.8126 \pm 78.56387 \mu\text{g/mL}$. The IC_{50} value obtained was compared with the inhibition value of the vitamin C solution made with varying concentrations (2,4,6,8,10) $\mu\text{g/mL}$, based on this value, ramania leaf extract from the Sleman area is categorized as very potent so it can be developed as a source of antioxidants from natural ingredients.

Webinar Nasional & Call For Paper 2023:

Terapi Gen dan Perkembangan Obat Baru Berbasis Genomika dalam Mengubah Paradigma Pengobatan

Keywords: *Ramania Leaves (Bouea macrophylla Griffith.), antioxidant, DPPH, IC₅₀*

PENDAHULUAN

Manusia mempunyai tubuh yang dilengkapi oleh sistem pertahanan yang dianggap menjadi antioksidan dimana bisa meminimalisir kerusakan yang diakibatkan radikal bebas. Salah satu faktor yang mensugesti kesehatan manusia adalah keseimbangan antara kandungan radikal bebas serta antioksidan dalam tubuh. Kurangnya asupan antioksidan yang cukup dari beberapa aspek, seperti kondisi lingkungan dan pola makan yang kurang baik, mengakibatkan pertahanan dari pada tubuh sering masih kurang bertenaga dalam menunda radikal bebas¹.

Banyak sekali bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis dampak senyawa radikal bebas bisa dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa antioksidan alami seperti vitamin A, C, E, karoten, asam-asam fenol, polifenol dan flavonoid¹. Senyawa antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman dari genus Anacardiaceae yang telah diteliti

kandungannya kimianya. *Ramania (Bouea macrophylla Griffith.)* merupakan tanaman herbal yang memiliki sifat antioksidan dan menghambat radikal bebas². Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya ke radikal bebas yang tidak stabil sehingga radikal bebas tersebut stabil dan tidak mengganggu metabolisme dalam tubuh².

Fungsi utama antioksidan adalah untuk menghentikan atau memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh serta menetralkan radikal bebas sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses maupun reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan. Aktivitas antioksidan dapat dihasilkan melalui pemanfaatan tanaman herbal salah satunya yaitu daun *Ramania*.

Adapun tujuan penelitian ini untuk mengetahui Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Ramania (*Bouea macrophylla Griffith.*) dari Daerah Kalimantan Selatan dengan Metode DPPH.

Antioksidan merupakan setiap zat yang apabila dalam konsentrasi rendah dibandingkan substrat yang teroksidasi dapat secara signifikan menunda atau menghambat oksidasi substrat tersebut. Mekanisme antioksidan digolongkan menjadi 2 yaitu Elektron Transfer (ET) dan Hidrogen Elektron Transfer (HET). Elektron Transfer (ET) berdasarkan reaksi reduksi dan oksidasi dengan mengukur kapasitas antioksidan yang ditandai terjadinya perubahan warna, sedangkan Hidrogen Elektron Transfer (HET) digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam menghambat radikal bebas dengan donor atom hidrogen².

Peran fisiologis antioksidan adalah untuk mencegah kerusakan komponen seluler yang timbul sebagai konsekuensi dari reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas³.

Selain itu, konsentrasi etanol berpengaruh terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid dan aktivitas penghambat radikal DPPH dengan kandungan tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96%⁴. Hal ini mendasari perlu dilakukannya uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ramania (*Bouea macrophylla Griffith.*) dengan pelarut etanol 96% dan berasal dari sumber lain dengan ketinggian berbeda yaitu dari daerah Kalimantan Selatan Kota Banjarmasin. Melalui penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemanfaatan bunga telang dari daerah Kalimantan Selatan, Kota Banjarmasin sebagai sumber antioksidan alami.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium; mikropipet; spektrofotometer UV-Vis (UV Mini SHIMADZU).

Bahan

Daun Ramania yang diperoleh dari daerah Kalimantan Selatan, Kota Banjarmasin, DPPH (Sigma,

Chem.Co.); etanol p.a.(E.Merck); dan vitamin C (Sigma Co).

Ekstraksi

Daun Ramania (*Bouea macrophylla Griffith.*) yang telah dikeringkan sampai kadar airnya kurang dari 10 %, dibuat serbuk yang melewati ayakan mesh -20 + 30. Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia⁵ yang dimodifikasi. Maserasi simplisia bunga telang yang dilakukan berdasarkan Andriani dan Murtisiwi⁶.

Uji aktivitas antioksidan (metode DPPH) Aktivitas antiradikal dalam ekstrak etanol daun ramania ditentukan dengan metode DPPH sesuai yang dilakukan Widhihastuti⁶.

Pembuatan larutan pereaksi DPPH Sebanyak 15,77 mg DPPH ditimbang seksama kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai tepat 100,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0,4 mM. Larutan DPPH ini disimpan dalam wadah yang dilapisi aluminium foil di almari es.

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) Sebanyak 0,7 mL

DPPH ditempatkan dalam labu takar 5,0 mL, ditambah etanol p.a sampai tanda, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-545 nm terhadap blangko 5,0 mL etanol p.a, diplotkan harga absorbansi maksimum. Pembuatan larutan stok ekstrak etanol daun ramania Sampel ekstrak etanol daun ramania ditimbang 10,00 mg, ditambah pelarut etanol p.a, divorteks sampai homogen, dimasukkan dalam labu takar 10,0 mL, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 0,1 %.

Pembuatan larutan stok vitamin C Vitamin C ditimbang 10,00 mg, ditambah pelarut, divorteks sampai homogen, dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, ditambah pelarut sampai tanda, didapatkan larutan dengan konsentrasi 0,1 %.

Penentuan IC_{50} ekstrak etanol bunga telang Sejumlah larutan stok ekstrak etanol daun ramania serta vitamin C dengan lima seri konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 $\mu\text{g/mL}$, ditempatkan dalam labu takar 5,0 mL. Sampel selanjutnya ditambah dengan 0,7 mL DPPH 0,4 mM dan ditambah

etanol hingga tanda. Campuran tersebut divorteks selama 30 detik dan diinkubasi selama 30 menit.

Absorbansi sampel diukur terhadap blangko yang terdiri dari sejumlah larutan stok dalam etanol pada λ maks. Selain itu, dibandingkan dengan kontrol Vitamin C dengan berbagai seri konsentrasi yaitu 1,25, 2,5, 5, 10, 20 μ g/mL dan 0,7 mL DPPH 0,4 mM dalam etanol p.a. hingga tanda. Kemudian dihitung % aktivitas antiradikal. Pembuatan kurva regresi linier antara konsentrasi melawan % aktivitas antiradikal sehingga didapatkan persamaan regresi linier untuk menentukan konsentrasi sampel pada aktivitas 50%.

Uji aktivitas antiradikal direplikasi sebanyak tiga kali. Setiap sekali uji, pembuatan stok dan pengenceran sampel juga direplikasi sebanyak tiga kali. Analisis Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan dengan perhitungan *inhibitory concentration* (IC_{50}).

Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak dan vitamin C yang memberikan % aktivitas

antiradikal sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier antara kadar terhadap % penangkapan radikal⁴.

% aktivitas antiradikal = $\frac{(\text{abs.kontrol} - \text{abs. sampel})}{\text{abs. kontrol}} \times 100\%$ Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi $Y = bX + a$ dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinat (sumbu Y). Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi simplisia bunga telang ini menggunakan teknik maserasi yang merupakan teknik penyarian zat aktif dengan perendaman menggunakan pelarut polar atau non polar selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian.

Penggunaan etanol 96% teknis sebagai pelarut dalam ekstraksi pada penelitian ini dikarenakan etanol 96% mempunyai daya penetrasi yang baik pada sisi hidrofili dan lipofil, sehingga dapat menembus membran

sel, masuk ke dalam sel dan berinteraksi dengan metabolit di dalam sel.

Etanol 96% juga mampu menyari senyawa-senyawa yang diperlukan untuk uji aktivitas bunga telang yaitu fenolik, flavanoid, alkaloid, terpenoid, dan steroid⁷. Hasil dari penelitian yang telah dilakukan oleh Aryzki⁸ menunjukkan bahwa

ekstrak etanol daun ramania dengan uji flavonoid hasil positif, uji tanin hasil negatif, uji fenol hasil positif, uji alkaloid hasil positif, uji saponin hasil negatif, uji steroid hasil positif, dan uji terpenoid hasil positif.

Tabel 1. Hasil Penentuan LC₅₀ Lima Ekstrak Daun Ramania dan Vitamin C

| | | Nilai LC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | | | Rata-rata ($\mu\text{g}/\text{mL}$) \pm SD | Kategori antioksidan (Reynertson,2007) |
|--------------------|------|--|-------|-------|---|---|
| | | Rep 1 | Rep 2 | Rep 3 | | |
| Ekstrak Ramania | Daun | 0.612 | 0.606 | 0.611 | 0.8126 \pm 78.56387 | Sangat aktif |
| Vitamin C | | 1.374 | 1.374 | 1.374 | 3.8683 \pm 9.094 | Sangat aktif |

Uji aktivitas antiradikal dengan metode DPPH dilakukan pada panjang gelombang 517,6 nm dengan waktu inkubasi 30 menit. Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan melalui perhitungan inhibitory concentration (IC₅₀). Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi ekstrak dan standar yang memberikan % aktivitas antiradikal sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier antara kadar terhadap % penangkapan radikal⁹. Semakin besar nilai IC₅₀, semakin kecil aktivitas antioksidannya

dan sebaliknya semakin kecil nilai IC₅₀, semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, sedang jika IC₅₀ bernilai 151- 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ¹⁰.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak daun ramania sebesar 0.8126 \pm 78.56387 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan nilai IC₅₀ Vitamin C sebesar 3.8683 \pm 9.094 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Tabel

1). Hal ini menunjukkan bahwa sampel memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat sedangkan untuk vitamin C memberikan nilai IC₅₀ sebesar 6,25µg/ml yang termasuk dalam kategori sangat kuat

KESIMPULAN

Nilai IC₅₀ daun ramania sebesar 0.8126 ± 78.5687 µg/mL, termasuk kategori sangat poten sebagai antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi atas Bantuan Biaya Luaran Prototipe tahun 2023.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widhihastuti, E., 2011. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH serta Korelasinya dengan Kadar Fenolik Pada Lima Jenis Herba Bahan Obat Alam Indonesia. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
2. Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K.M., Özyürek, M., and Güçlü, K., 2013. Methods of Measurement and Evaluation of Natural Antioxidant Capacity/

Activity (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry, Vol. 85 (5): 957–998.

3. Suhendra, C.P., Widarta, I.W.R., and Wiadnyani, A.A.I.S., 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata Cylindrica* (L) Beauv.)
4. Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia, Vol. 3, No. 2, 59-68.
5. Departemen Kesehatan RI. 2008. Farmakope Herbal Indonesia Edisi I. Jakarta, 174.
6. Andriani, D. and Murtisiwi, L., 2018. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Spektrofotometri UV Vis. Cendekia Journal of Pharmacy, 2 (1): 32-38.
7. Saifudin, A., 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Yogyakarta: Depublish Publisher.
8. Aryzki, S, Susanto Y. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ramania (*Bouea macrophylla* Griffith) Asal Kalimantan Selatan. InProceeding of Sari Mulia University Pharmacy National Seminars 2019 Dec 2 (Vol. 1, No. 1, pp. 76-85). Gusti R, Aqilla, Irham, and Erida W., 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Ramania *Bouea macrophylla* Griffith Terhadap ortalitas Larva *Artemia salina* Leach Cendekia Jorna Of Pharmacy, 2 (1): 32-38. .
9. Mailandari, M., 2012. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia kydia roxb.* dengan metode DPPH dan identifikasi senyawa kimia

Webinar Nasional & Call For Paper 2023:

Terapi Gen dan Perkembangan Obat Baru Berbasis Genomika dalam Mengubah Paradigma Pengobatan

Jurnal Insan Farmasi Indonesia, 6(3) Edisi Spesial 2023 (194-201)
Saftia Aryzki
p-ISSN 2621-3184; e-ISSN 2621-4032
doi: 10.36387/jifi.v6i3.1692

fraksi yang aktif. Skripsi.
Universitas Indonesia.

10. Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radikal diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*, 26 (2): 211-219.