

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI N-HEKSAN DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) DENGAN METODE DPPH

Nurul Fatimah^{1*}, Reksi Sundu²
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda

Email¹: nurulfatimah20@mail.ugm.ac.id

Email²: reksi.sundu@gmail.com

Artikel diterima: 10 Maret 2020; Disetujui: 30 Agustus 2020

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i2.466>

ABSTRAK

Radikal bebas dan spesies reaktif dipercaya secara luas berkontribusi pada pengembangan beberapa penyakit dengan menyebabkan stres oksidatif dan akhirnya oksidatif. *Vernonia amygdalina* (*Asteraceae*) adalah semak atau pohon kecil tingginya antara 1 dan 5 m tumbuh di seluruh tropis Afrika. Tanaman ini umumnya dikenal sebagai daun pahit, dibudidayakan dengan baik dan merupakan tanaman yang banyak ditemukan di pasar umum di beberapa Negara. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi heksan dari ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH (*1,1-Diphenil-2-Picrylhydrazyl*).

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/ triterpenoid dan saponin. Aktivitas antioksidan ekstrak fraksi n-heksan tergolong sangat lemah dengan nilai IC₅₀ adalah 371,98 ppm.

Kata kunci: antioksidan, daun afrika, *Vernonia amygdalina* Del., fitokimia

ABSTRACT

Free radicals and reactive species are widely believed to contribute to the development of several diseases by causing oxidative stress and eventually oxidative. Vernonia amygdalina (Asteraceae) is a small shrub or tree between 1 and 5m high growing throughout tropical Africa. Plants are generally known as bitter leaves is well cultivated and is a general market for merchandise in several countries. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of hexane fraction from ethanol extract of African leaves (Vernonia amygdalina Del.). The method used in this study was the DPPH (1,1-Diphenil-2-Picrylhydrazyl) method.

The result of phytochemical screening showed that ethanolic extract of African leaves contained a composition of secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, tannins, steroids/triterpenoids and saponins. The antioxidant activity of the extract of n-hexane fraction was classified as very weak with an IC₅₀ value of 317.98 ppm.

Keywords: antioxidant, African leaves, *Vernonia amygdalina* Del., phytochemical

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan sangat reaktif sehingga ketika menjadi stabil cenderung akan mengambil elektron dari molekul lain yang akhirnya menimbulkan ketidaknormalan molekul lain dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Fessenden R.J., dan Fessenden, J.S., 1986). Radikal bebas dan spesies reaktif dipercaya secara luas berkontribusi pada pengembangan beberapa penyakit dengan menyebabkan stres oksidatif (Adesanoye O. A and Farombi E. O. 2014). Oleh karena itu, diperlukan senyawa yang dapat meredam efek negatif dari radikal bebas yaitu antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang diperlukan tubuh untuk menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan stress oksidatif (Setiawan B, Suhartono, 2005). Senyawa fenolik, yang banyak didistribusikan di tanaman, dianggap

memainkan peran penting sebagai komponen antioksidan untuk diet pencegahan kerusakan oksidatif dalam sistem kehidupan (Fessenden R.J., dan Fessenden, J.S., 1986).

Salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai antioksidan adalah daun afrika. *Vernonia amygdalina* Del. (Astereacea) adalah semak atau pohon kecil antara 1 dan 5 m tingginya tumbuh di seluruh Afrika tropis. Tanaman umumnya dikenal sebagai daun pahit karena kepahitan daunnya dibudidayakan dengan baik dan merupakan pasar umum barang dagangan di beberapa negara Afrika seperti Nigeria, Kamerun, Ethiopia, dan Zimbabwe. Semua bagian tanaman telah ditemukan secara farmakologis berguna (Fessenden R.J., dan Fessenden, J.S., 1986). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antioksidan pada daun afrika ekstrak etanol fraksi n-heksan (*Vernonia amygdalina* Del.).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat gelas, spektrofotometer UV-Vis, corong

pisah, kertas saring, rotary evaporator dan micro pipet, amil alkohol, asam asetat anhidrat, asam klorida 2N, aquadest, besi (III) klorida 1%, daun putat, DMSO, etanol 70%, n-heksan, kertas saring, kloroform, larutan DPPH, n-butanol, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendrof, pereaksi meyer, serbuk magnesium, vitamin C

Pengambilan Bahan Baku dan Pembuatan Simplisia

Sampel pada penelitian ini adalah daun afrika (*Vernonia Amygdalina* Del.) yang diperoleh di Samarinda, Kalimantan Timur. Daun afrika yang sudah bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari. Kemudian di sortasi kering untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan lainnya. Daun yang telah kering, dibuat serbuk menggunakan blender lalu diayak menggunakan ayakan mesh 60 kemudian di simpan dalam wadah. Diperoleh 750 g serbuk daun afrika.

Skrining Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan berdasarkan Marjoni, 2016. Dimana senyawa yang diskriming adalah

alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid dan saponin.

Uji senyawa alkaloid

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia ditimbang, ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, dinginkan kemudian disaring, hasil filtrat digunakan untuk pengujian berikut :

a. Pereaksi meyer

Sebanyak 3 tetes filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi meyer, amati perubahan menghasilkan endapan putih/kuning.

b. Pereaksi Bouchardat

Sebanyak 3 tetes filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat, amati perubahan menghasilkan endapan coklat hitam.

c. Pereaksi dragendrof

Sebanyak 3 tetes filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendrof, amati perubahan menghasilkan endapan merah bata

Uji senyawa flavonoid

Ditimbang sebanyak 10 gram serbuk simplisia kemudian ditambahkan 100 mL air panas

didihkan selama kurang lebih 5 menit, lalu disaring. Filtrat yang telah diperoleh sebanyak 5 ml ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg, 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, di kocok dan dibiarkan memisah. Jika terbentuk warna merah, kuning, jingga, pada lapisan amil alkohol maka ekstrak tersebut positif mengandung senyawa flavonoid.

Uji senyawa tanin

Sebanyak 0,5 gram sampel diekstrak menggunakan 10 ml aquades. Disaring hasil ekstraksi kemudian filtrat diencerkan dengan aquades sampai tidak berwarna. Kemudian diambil sebanyak 2 ml, lalu tambahkan 1-2 tetes besi III klorida 1%. Jika terbentuk warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung senyawa tanin.

Uji senyawa steroid / triterpenoid

Sebanyak 1 gram sampel dengan 20 ml n-heksan dimaserasi selama 2 jam, disaring. Filtrat diuapkan diatas penangas air, sisanya ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Terbentuk warna ungu atau merah kemudian berubah menjadi hijau biru

menandakan positif mengandung senyawa steroid/terpenoid.

Uji senyawa saponin

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi tambahkan 10 ml air suling panas, dinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik, jika terbentuk buih atau busa tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, pada penambahan 1 tetes HCl 2N, buih tidak hilang maka positif mengandung senyawa saponin

Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan

Uji antikosidan dilakukan menggunakan metode Wang *et al*, 2017. Sebanyak 1 ml sampel fraksi n-heksan dengan berbagai konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm dan 400 ppm) ditambahkan 1 ml DPPH 0,1 mM dalam etanol dan dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap pada suhu kamar. Panjang gelombang yang diperoleh adalah 519 nm. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Persentase antioksidan terhadap radikal bebas dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Aktivitas antioksidan} \\ & = [1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100 \% \end{aligned}$$

Dimana A_0 adalah absorbansi kontrol

negatif (tanpa ekstrak) dan A1 adalah absorbansi dengan adanya ekstrak, A₂ adalah absorbansi tanpa DPPH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokomia

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) bertujuan untuk memastikan adanya metabolit sekunder pada sampel sehingga mempermudah pengujian aktivitas antioksidan. Hasil skrining dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) positif mengandung alkaloid, flavanoid, tanin, saponin dan steroid atau triterpenoid. Menurut Hirata, *et al* (2000) metabolit sekunder yang menunjukkan hasil positif pada uji skrining fitokimia diduga mendukung aktivitas antioksidan dari ekstrak daun afrika tersebut. Senyawa senyawa tersebut yang dapat memiliki potensi sebagai antioksidan alami (Hirata T, *et al*, 2000).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Afrika

No	Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Steroid / triterpenoid	+
5	Saponin	+

Keterangan: (+) = Terdapat senyawa kimia
(-) = Tidak terdapat senyawa kimia

Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dengan DPPH bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol fraksi daun afrika dalam menangkap senyawa radikal atau kemampuan sebagai senyawa antioksidan. Adapun prinsip metode ini yaitu DPPH akan tereduksi oleh

proses donasi hidrogen atau elektron sehingga warna akan berubah dari violet ke kuning dengan perubahan intensitas warna yang sebanding dengan jumlah donasi elektron yang diikuti dengan absorbansi DPPH (Dris R and Jain S. M, 2004). Kemampuan ekstrak etanol fraksi n-heksan daun afrika dan vitamin C sebagai pembanding untuk

menghambat dan meredakan radikal bebas dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil penelitian pada tabel 2 menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi sampel ekstrak fraksi n-heksan daun afrika ataupun vitamin C (kontrol positif) yang digunakan diikuti dengan semakin meningkat juga aktivitas antioksidannya. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi yang tinggi, kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas semakin besar.

Perhitungan IC_{50} digunakan untuk mengetahui seberapa besar

aktivitas antioksidan ekstrak fraksi n-heksan daun afrika. Konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH disebut sebagai IC_{50} . Nilai IC_{50} ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh. Adapun persamaan regresi linier yang diperoleh pada ekstrak fraksi n-heksan daun afrika adalah $y = 0,128x + 2,387$ dengan nilai koefisien relasi (r) = 0,984 sedangkan untuk vitamin C adalah $y = 4,177x + 0,874$ dengan nilai koefisien relasi (r) = 0,986.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fraksi Heksan Daun Afrika dan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas antioksidan (%)	IC_{50} (ppm)
Ekstrak fraksi n-heksan	50	9,71	371,98
	100	12,24	
	200	30,14	
	300	43,13	
	400	52,03	
Vitamin C (kontrol positif)	2	7,56	11,76
	4	16,51	
	6	24,24	
	8	30,07	
	10	42,55	

Nilai IC_{50} pada ekstrak fraksi n-heksan daun afrika adalah sebesar 371,98 ppm sedangkan vitamin C adalah sebesar 11,75 ppm.

Berdasarkan Molyenux, 2004, semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan. Dari hasil penelitian diatas aktivitas

antioksidan ekstrak fraksi n- heksan daun afrika termasuk golongan sangat lemah karena nilai IC₅₀ lebih dari 200 ppm sedangkan vitamin C termasuk golongan sangat kuat (IC₅₀ < 50 ppm) (Molyneux P, 2004).

Hal ini terjadi karena metabolit sekunder mudah larut dengan pelarut yang bersifat polar seperti etanol sehingga dapat menarik metabolit sekunder lebih banyak dibanding pelarut yang bersifat non polar seperti n-heksan (Harborne J.B., 1987).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/ triterpenoid dan saponin. Aktivitas antioksidan ekstrak fraksi n-heksan tergolong sangat lemah dengan nilai IC₅₀ adalah 371,98 ppm).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda yang telah membantu dalam pendanaan lewat hibah Dosen Internal STIKSAM.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesanoye O. A and Farombi E. O. 2014, In Vitro Antioxidant Properties of Methanolic Leaf Extract of *Vernonia Amygdalina* Del, Niger J Physiol Sci., Volume 29, No 2, Halaman 091-101.
- Can-Ake, R., Erosa-Rejon, G., May-Pat, F., Pena-Rodriguez LM., and Peraza-Sanchez SR, 2004, Bioactive terpenoids from roots and leaves of *Jatropha gaumeri*, Rev Soc Quim Mex, Volume 48, No 1, Halaman 11-14.
- Dris R and Jain S. M, 2004, Production Practice and Quality Assessment of Food Crops : Quality Handling and Evolution, Kluwer Academic Publisher, New York, Halaman 58-60.
- Fessenden R.J., dan Fessenden, J.S., 1986, Kimia organik Edisi ke tiga” , Jilid I, Erlangga, Jakarta.
- Harborne J.B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan Kedua. Penerbit ITB, Bandung.
- Hirata T., Tanaka M., Ooike M., Tsunomura T., and Sakaguchi M, 2000, Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*, Journal of Applied Phycology. Volume 12, Halaman 435- 439.
- Marjoni R., 2016, Dasar-Dasar Fitokimia, Terbitan pertama. TIM, Jakarta, Halaman 17-41.
- Molyneux P, 2004, The use of the stable free radical

diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *SJST*. Volume 26, No 2, Halaman 211-219.

Setiawan B, Suhartono, 2005, Stres oksidatif dan peran antioksidan pada Diabetes mellitus, *Majalah Kedokteran Indonesia*, Volume 55, No 2.

Wang X., Ding, G., Liu B., and Wang Q, 2017, Analysis of flavonoids and antioxidants in extracts of ferns from Tianmu Mountain in Zhejiang Province (China), *Ind Crop Prod*, Volume 97, Halaman 137-145.