

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI DAUN BINTANGUR
(*Calophyllum inophyllum L.*) TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH
(1,1 Difenil-2-pikrihidrazil)**

Ahmad Purnawarman Faisal¹, Pratiwi Rukmana Nasution², Riza Fahlevi Wakidi³

^{1,2,3} Poltekkes Kemenkes Medan

Email Korespondensi : purn28@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa yang menghalangi reaksi oksidasi yang mengikat radikal bebas serta molekul reaktif. Bintangur mengandung saponin, tanin, flavonoid serta alkaloid. Dengan flavonoid, tujuan penelitian ini mencari tahu aktivitas antioksidan ekstrak etanol kepada radikal bebas DPPH, serta parameter IC₅₀ mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi. Gunakan etanol untuk maserasi serbuk daun bintangur. Menganalisis kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol. Gunakan spektrofotometer menguji aktivitas antioksidan ekstrak yang diperoleh terhadap radikal bebas DPPH di panjang gelombang 517 nm, serta tentukan nilai IC₅₀. Rutin dipakai untuk kontrol positif di penelitian ini. Hasil tiga penelitian memperlihatkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol masing-masing adalah 65,49 ppm, 65,76 ppm, dan 65,76 ppm. Nilai IC₅₀ rata-rata adalah 55,67 ppm.

Kata kunci : Bintangur, *Calophyllum inophyllum L.*, Antioksidan, DPPH

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BINTANGUR LEAVES (*Calophyllum inophyllum L.*) AGAINST DPPH FREE RADICAL (1,1 *Diphenyl-2-picrihydrazil*)

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can inhibit oxidation reactions by binding to free radicals and highly reactive molecules. Bintangur contains saponins, tannins, flavonoids and alkaloids. In the presence of flavonoids, the purpose of this study is to understand the antioxidant activity of ethanol extracts against DPPH free radicals, and the IC₅₀ parameter has the highest antioxidant activity. Use ethanol to macerate Bintangur leaf powder. Analyze the content of secondary metabolites in ethanol extracts. Use a spectrophotometer to test the antioxidant activity of the obtained extract against DPPH free radicals at a wavelength of 517 nm, and determine the IC₅₀ value. Routine was used as a positive control in this study. The results of three repeated studies showed that the IC₅₀ values of the ethanol extract were 65.49 ppm, 65.76 ppm, and 65.76 ppm, respectively. Average IC₅₀ value is 55.67 ppm.

Keywords: *Bintangur leaf, Calophyllum inophyllum L., Antioxidant, DPPH*

PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan ialah Bintangur (*Calophyllum inophyllum L.*) yang merupakan tanaman khas dan sudah sejak lama digunakan masyarakat sebagai obat gosok untuk luka. (Fajriaty *et al*, 2018). Dewasa ini pemanfaatan pengobatan tradisional semakin marak karena kecenderungan masyarakat untuk lebih memilih bahan alam, ini dikuatkan berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013

dimana terdapat sebesar 15,7% dari masyarakat Indonesia yang menyimpan obat tradisional berbahan alam. Masyarakat pesisir di Sumatera Utara juga menggunakan daun bintangur ini sebagai masker alami perawatan wajah.

Senyawa antioksidan dalam makanan mempunyai fungsi penting untuk melindungi kesehatan. Antioksidan adalah substansi yang menetralkan radikal bebas (Yuliarti 2009). Antioksidan ialah senyawa

pendonor elektron dan juga senyawa yang bisa menghalangi oksidasi dengan bergabung dengan radikal bebas serta molekul yang aktif, dan menghambat rusaknya sel. (Winarsi 2007). Antioksidan dibagi menjadi antioksidan alami serta antioksidan buatan menurut sumbernya. (Dalimartha dan Soedibyo 1999).

Uji menentukan aktivitas antioksidan penangkapan radikal ialah metode DPPH sebagai radikal bebas stabil yang ditetapkan secara spektrofotometri. Metode DPPH memberi data reaktivitas senyawa diuji dengan hal radikal stabil. *Difenil pikrilhidrazil* (DPPH) mengakibatkan serapan kuat di panjang gelombang 517 nm diiringi reaksi reduksi dari senyawa antioksidan (Pokorny *et al.* 2001).

Penelitian oleh Shanmughpriya (2016) menyatakan ditemukan kandungan fenol dalam daun Bintangur mempunyai keahlian menghalangi pertumbuhan berbagai mikroba seperti *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Mycobacterium sp* dan jamur *Candida tropicalis*. Kemudian Monica Pudji Astuti (2018) menyatakan bahwa tidak ditemukan adanya zona hambat pada ekstrak daun Bintangur serta tidak mempunyai aktivitas antifungi terhadap

pertumbuhan jamur *Candida albicans*, sedangkan bagi antioksidan sepengetahuan peneliti masih belum banyak diteliti, alhasil peneliti tertarik mengadakan penelitian dengan judul “Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Bintangur (*Calophyllum inophyllum L.*) terhadap Radikal Bebas DPPH (1,1 *Difenil-2-pikrihidrazil*).

METODE PENELITIAN

MATERIAL

Bahan utama penelitian ini yakni daun bintangur, etanol 95% dalam maserasi, DPPH. Alat penyarian adalah bejana untuk maserasi, spektrofotometri, kuvet, labu takar. Peralatan lainnya yang dipakai yakni neraca, *waterbath*, *beaker glass*, pipet volume, mikro pipet, cawan penguap.

Rancangan Penelitian

Identifikasi tumbuhan dilakukan guna memutuskan kebenaran sampel bintangur sesuai karakteristik tumbuhan bintangur.

1) Persiapan Penelitian

Daun bintangur yang digunakan adalah batang yang telah kering dari daerah Medan, Sumatera Utara. Simplisia diletakkan di wadah kering

yang tertutup, kemudian bisa dipakai penelitian.

2) Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Daun Bintangur

Sampel daun segar bintangur dikeringkan dan dipotong kecil-kecil dan dikeringkan. Setelah kering diekstraksi memakai metode maserasi dengan pelarut etanol 95% dengan durasi 4 hari. Hasil maserasi diuapkan memakai *rotary evaporator* yang hasilnya didapatkan ekstrak etanol.

3) Persiapan larutan DPPH 0,45mM

Larutan pereaksi ialah larutan DPPH 0,45 mM. diproduksi dengan mengukur 0,01774 mg serbuk DPPH lalu dimasukkan ke labu takar 100 ml dimasukkan metanol p.a. ke labu takar hingga tanda batas, alhasil didapatkan konsentrasi 0,45 mM yang diukur kepada BM DPPH sejumlah 394,32 g/mol.

4) Penentuan operating time

Dilakukan terhadap ekstrak etanol daun bintangur dengan cara membuat larutan stok terlebih dahulu. Larutan stok ekstrak Daun bintangur dibuat memakai konsentrasi 500 ppm. Dengan mengukur 0,0250 gram ekstrak kental dengan seksama lalu dilarutkan memakai metanol p.a. hingga larut serta diletakkan ke labu ukur 50 ml,

kemudian masukkan metanol p.a ke tanda batas. Dari larutan stok diencerkan lagi menjadi 100 ppm kemudian dipipet 4 ml serta 1,0 ml larutan DPPH 0,45 mM untuk mendapatkan absorbansinya. *Operating time* ditentukan juga terhadap rutin 10 ppm dengan cara yang sama. Penentuan *operating time* diadakan di panjang gelombang maksimal memakai interval 5 menit hingga diperoleh absorbansi konstan, serta tidak ada penurunan absorbansi (Purwanto 2010).

5) Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanolik diadakan guna memutuskan panjang gelombang maksimal dalam larutan DPPH, tahapan uji ini yakni : 1,0 ml larutan DPPH 0,45 mM ditambahkan 4,0 ml metanol p.a, dikocok sampai homogen serta diamati serapan di rentang 500-525 nm memakai blanko metanol p.a.

6) Pengujian aktivitas Antioksidan

Ekstrak etanol daun bintangur masing-masing dihitung 0,0250 gram, lalu dilarutkan memakai metanol p.a hingga larut serta diletakkan ke labu ukur 50 ml, lalu ditambah metanol p.a hingga tanda batas, sehingga bisa didapat konsentrasi 500 ppm, maka

larutan ini dinamakan larutan stok. Konsentrasi larutan uji dibuat dengan memipet larutan stok untuk mendapat 5 seri konsentrasi. Pembuatan larutan stok rutin dilakukan dengan cara menimbang 0,0125 gram rutin lalu dilarutkan memakai metanol p.a hingga larut serta diletakkan ke labu ukur 25 ml, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas dan selanjutnya dibuat 5 seri konsentrasi yang pembacaan absorbansi adalah 0,2-0,8. Tiap konsentrasi larutan uji dipipet sejumlah 4,0 ml, lalu ditambah 1 ml larutan pereaksi DPPH 0,45 mM dalam vial, serta didiamkan 30 menit lalu diamati absorbansinya di panjang gelombang maksimal yang sudah diputuskan (517 nm). Percobaan diadakan 3 kali pengulangan juga pengamatan kepada larutan kontrol dari 4 ml metanol ditambah 1 ml DPPH 0,45 mM.

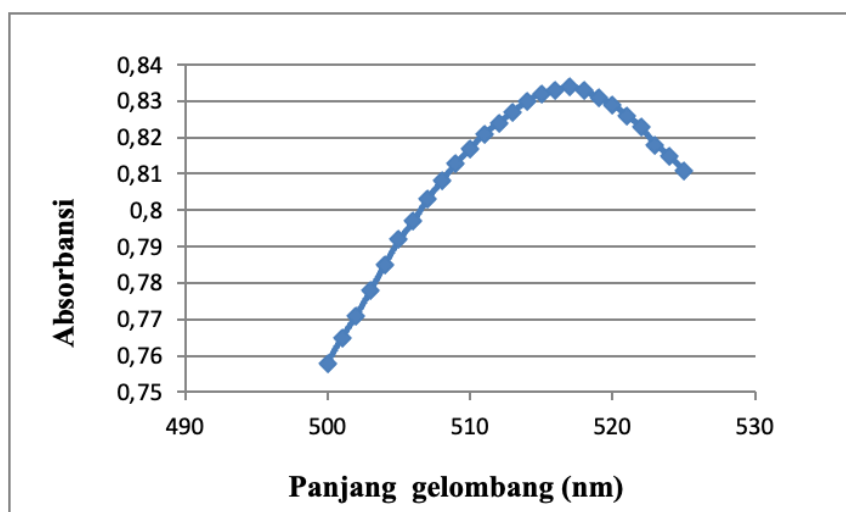
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bintangur

Daun bintangur sejumlah 5600 gr dikeringkan di suhu 40°C serta didapatkan 820 gr daun kering dengan rendemen 14,64 % ^b/_b. Pengeringan daun bintangur dilakukan pada suhu 40°C dalam oven, apabila pengeringan suhu lebih dari 50°C dikhawatirkan terjadi kerusakan pada kandungan senyawa-senyawa aktif pada simplisia. Kelebihan pengeringan menggunakan oven adalah suhu bisa diatur sesuai keinginan. Ekstrak etanol yang didapatkan sebesar 42,88 gram.

Penentuan Operating Time DPPH

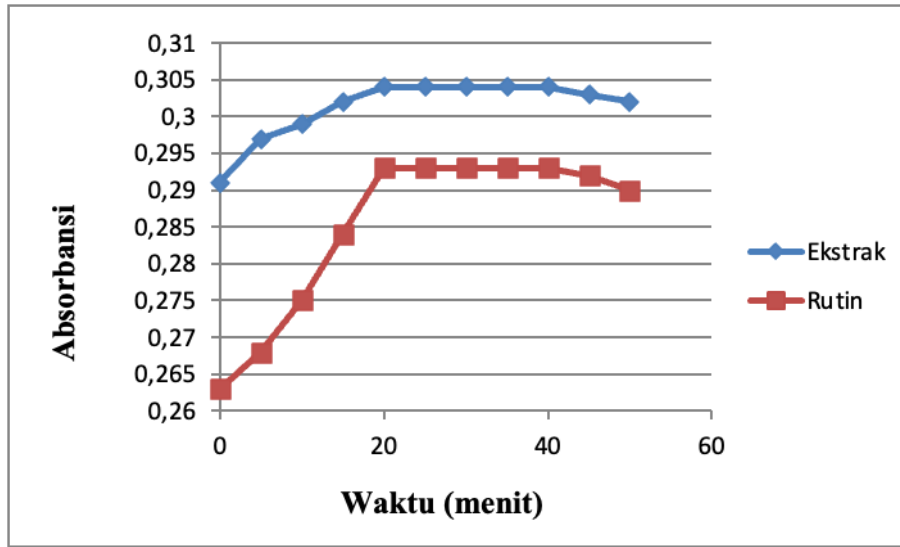
Pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH di penelitian ini yakni 517 nm dengan absorbansi sebesar 0,834. Grafik panjang gelombang maksimum DPPH 0,45.



Gambar 1 .Kurva panjang gelombang maksimum (nm)

Operating time digunakan guna menentukan lamanya pengukuran yang stabil dalam meredam radikal bebas DPPH. Hasil pengukuran *operating*

time waktu stabil diawal di menit ke-20 hingga ke-40. Penelitian ini memakan waktu 30 menit pada *operating time*.



Gambar 2. Grafik *operating time*

Uji

Aktivitas Antioksidan Daun Bintangur

Hubungan konsentration larutan uji terhadap peredaman DPPH bisa diketahui di tabel dibawah

Tabel 1. Hubungan konsentration larutan uji terhadap peredaman DPPH

NO	Larutan uji	Konsentration (ppm)	Rata-rata peredaman (%)		
			R1	R2	R3
1.	Ekstrak	100	63,19	62,95	63,30
		80	52,88	53,12	52,76
		60	46,64	46,76	46,52
		40	38,72	39,49	38,25
		20	20,38	20,86	20,62

2. Rutin	10	66,11
	8	63,71
	6	49,58
	4	38,21
	2	19,16

Secara keseluruhan aktivitas peredaman radikal yang kuat adalah rutin ini diakibatkan karena rutin ialah senyawa murni dan ekstrak etanol ialah senyawa murni. Rutin dipakai untuk perbandingan di metode DPPH ini disebabkan rutin telah diketahui sebagai glikosida flavonoid yang telah terbukti antioksidannya.

Berdasarkan data konsentrasi uji dan persen peredaman dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan berbanding lurus antara konsentrasi dengan persen peredaman, yaitu makin tinggi konsentrasi larutan uji makin tinggi juga persen peredamannya. Pengujian prosentase peredaman larutan uji ekstrak etanol dilakukan 3 replikasi tiap konsentrasi..

Metode DPPH membagikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji memakai suatu hal radikal stabil. Proses peredaman radikal bebas oleh senyawa antioksidan bisa diketahui dari perubahan warna violet larutan DPPH jadi warna kuning diiringi turunnya

serapan panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna tersebut memperlihatkan aktivitas antioksidan yang bisa diketahui persentase peredamannya. Radikal bebas DPPH mengambil atom hidrogen yang ada di senyawa.

Proses perubahan warna akibat berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Ini terjadi ketika elektron ditangkap oleh antioksidan, dan elektron tidak memiliki kesempatan untuk beresonansi. Saat elektron tidak berpasangan berubah jadi elektron berpasangan dengan tambahan donor hidrogen, radikal bebas terjadi pada antioksidan, alhasil membentuk DPPH yang stabil. Aktivitas scavenging radikal bebas dinyatakan sebagai persentase pengurangan DPPH, dikatakan sebagai konsentrasi yang mengakibatkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC₅₀). Nilai IC₅₀ adalah ukuran yang baik dari efisiensi antioksidan untuk senyawa murni. Pengujian absorbansi peredaman radikal dilakukan

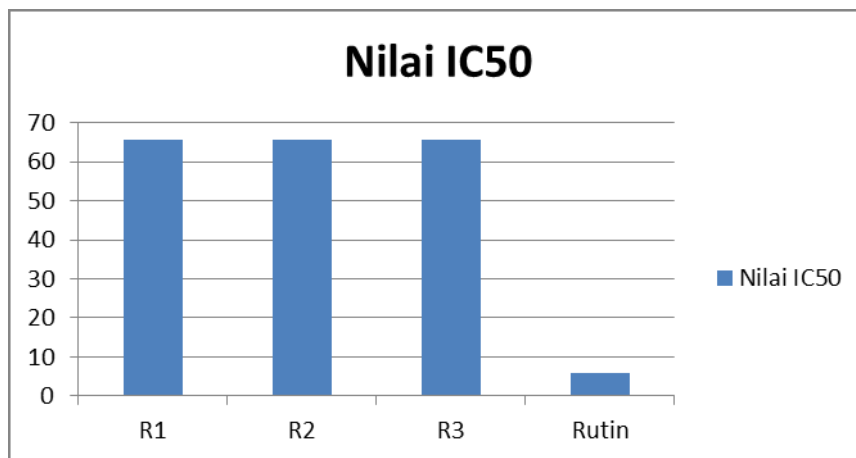
pembuatan seri konsentrasi terlebih dahulu pada ekstrak dan masing-masing fraksi, kemudian ditambahkan DPPH pada setiap seri konsentrasi dan dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 517. Pembacaan absorbansi pada penelitian ini dilakukan dengan waktu operating time yang telah ditentukan dan dihitung persen peredamannya.

Berdasarkan data persen peredaman dari ekstrak etanolik, setiap fraksi serta rutin, lalu data dianalisis probit serta dihitung nilai IC₅₀ memakai

persamaan *regresi linier* menggunakan rumus $Y = a + bx$. Nilai IC₅₀ ialah angka yang memperlihatkan konsentrasi sampel uji untuk bisa meredam DPPH sejumlah 50%. Makin kecil nilai IC₅₀, makin efektif sebagai antioksidan, kemudian dihitung nilai persen koefisien variasi dengan simpangan baku relatif ataupun koefisien variasi 2%, yang didapatkan memakai metode mengetahui kedekatan hasil sampel kepada nilai nominal serta presisi. Nilai IC₅₀ dari larutan uji ekstrak dapat dilihat pada gambar grafik dibawah ini.

Tabel 2. Nilai IC₅₀

NO	Larutan uji	Nilai IC50±SD
1	R1	65,49±0,156
2	R2	65,76±0,641
3	R3	65,76±0,091
5	Rutin	5,796±0,027



Gambar 3. Kurva panjang gelombang maksimum (nm)

Hasil perhitungan nilai IC_{50} diketahui bahwa ekstrak etanol daun bintangur memiliki nilai IC_{50} . Hal tersebut mengartikan bahwa ekstrak mengandung senyawa aktif golongan flavonoid yang berpotensi meredam radikal bebas dengan kadar senyawa aktif pada. Rutin dipakai jadi pembanding di metode DPPH disebabkan rutin telah diketahui sebagai glikosida flavonoid yang terbukti aktivitas antioksidannya.

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini yakni :

1. Rendemen ekstrak daun bintangur basah terhadap simplisia kering sebesar 14,64%. Dan ekstrak terhadap simplisia kering 5,22%
2. Pengaruh pemberian fraksi ekstrak etanol daun bintangur terhadap aktivitas antioksidan kepada radikal DPPH berturut-turut Nilai IC_{50} yaitu 65,49 ppm, 65,76 ppm, dan 65,76 ppm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih keseluruhan pihak yang sudah membantu penelitian ini :

1. Direktur Poltekkes Kemenkes Medan

2. Kepala Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Poltekkes Kemenkes Medan
3. Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan
4. Tim Peneliti

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK and Lichtman AH. 2002., *Cellular and molecular immunology*, 6th edition. Philadelphia: Elsevier Science.
- Ahmad N. 2006. *Fitokimia II*. Fakultas Farmasi. Universitas Muslim Indonesia
- Anonim. 2008. *Direktorat Obat Asli Indonesia*. Badan POM RI, Jakarta
- “Dalimartha, S. dan Soedibyo, M. 1999, Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen., Trubus Agriwidya, Jakarta. hal. 36-40
- Fajriaty, I., Hariyanto, I. H., Andres, A., & Setyaningrum, R. (2018). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F.). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(1), 54-67.”

- Flora E. 2011. *Tanaman Obat Indonesia untuk pengobatan Herbs Medicine Herba Tanaman Obat, Indonesia*
- “Gandjar I.G. dan Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan III. Pustaka Pelajar; Yogyakarta
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (Eds.). (2001). *Antioxidants in food: practical applications*. CRC press.
- Shanmugapriya, A., Kalaiarasi, G., Kalaivani, P., Dallemer, F., & Prabhakaran, R. (2016). CT-DNA/BSA protein binding and antioxidant studies of new binuclear Pd (II) complexes and their structural characterisation. *Inorganica Chimica Acta*, 449, 107-118”
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan alami & radikal bebas*. Pustaka Poltekkes Padang, Padang