

UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN (METODE DPPH) DARI DAUN BIRIBA (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.)

PHYTOCHEMICAL TEST AND ANTIOXIDANT ACTIVITY (DPPH METHOD) FROM LEAVES OF BIRIBA (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.)

Feni Sumarni*, Chairul Saleh, Djihan Ryn Pratiwi

Program Studi S1 Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: fenisumarni05@gmail.com

Received: 01 November 2018, Accepted: 01 March 2019

ABSTRACT

Phytochemical test and antioxidant activity test of biriba leaves (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.) has been done. Extraction from biriba leaves was carried out using several solvents, namely ethanol, n-hexane and ethyl acetate. From phytochemical test results from leaves of biriba (*R. mucosa*) containing secondary metabolites namely alkaloids, phenolics, flavonoids and steroids. Based on the results of the antioxidant test using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method showed that the crude extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and residual ethanol fraction had IC₅₀ values of 159.72; 119.62; 40.12 and 38.35 ppm, respectively. From the results of the antioxidant test it is known that the ethanol fraction of the remaining biriba leaves has the strongest antioxidant activity with IC₅₀ values of 38.35 ppm.

Keywords: *Biriba (Rollinia mucosa (Jacq.)Baill.), Phytochemical Test, Antioxidant Activity Test, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl)*

PENDAHULUAN

Negara Indonesia yaitu negara dengan sumber daya alam yang cukup melimpah, khususnya sumber daya alam hayati. Hal ini dikarenakan Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang curah hujannya rata-rata tinggi disepanjang tahunnya sehingga tanaman tumbuh dengan subur [1]. Terdapat beranekaragam jenis tanaman di Indonesia yang mempunyai banyak manfaat bagi kehidupan, salah satunya sebagai bahan obat tradisional [2].

Kemampuan dari suatu tanaman dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya, sehingga tanaman memiliki berbagai macam manfaat berdasarkan kandungan metabolit sekundernya diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, antimikroba, antiinflamasi bahkan sebagai antikanker.

Tanaman yang berpotensi dijadikan sebagai tanaman obat yaitu famili Annonaceae. Famili Annonaceae sekarang telah dilaporkan memiliki sekitar 130 genus dan hampir 2500 spesies [3]. Diantara famili Annonaceae lainnya terdapat beberapa genus yang sering dijadikan untuk obat

salah satunya yaitu *Rollinia*. Genus *Rollinia* merupakan genus yang pertumbuhan pohonnya cukup cepat dan dapat tumbuh hingga ketinggian 50 meter selama kebutuhan airnya tercukupi [4].

Spesies dari genus *Rollinia* ini salah satunya yaitu *Rollinia mucosa*. *Rollinia mucosa* atau yang dikenal dengan nama biriba atau srikaya malinau merupakan tanaman yang berkerabat dengan srikaya dan sirsak, dimana tanaman ini diketahui dapat berpotensi sebagai obat karena memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder. Menurut Mubarakah *et al.*, [5] daun srikaya di dalamnya terkandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Sari *et al.*, [6] melaporkan bahwa daun sirsak mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Caetano & Dadoun [7] dan Campos *et al.*, [8] melaporkan bahwa pada kulit batang biriba terkandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai antijamur dan antimikroba. Serta Shi *et al.*, [9] melaporkan bahwa pada daun biriba terdapat senyawa acetogenin yang memiliki aktivitas untuk mengobati penyakit tumor pada manusia.

Berdasarkan dari uraian di atas, biriba merupakan salah satu famili Annonaceae yang menunjukkan berbagai macam aktivitas biologis yang bermanfaat khususnya sebagai antioksidan. Oleh karena itu, perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap daun biriba untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kasar dan fraksi-fraksi dari daun biriba serta besar aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *beaker glass*, Erlenmeyer, blender, corong kaca, corong pisah, botol kaca gelap, botol semprot, tiang statif, klem, neraca analitik, *rotary evaporator*, pipet tetes, pipet mikro, spatula, batang pangaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spektrofotometer *visible* dan lain-lain.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun biriba (*R. mucosa*), etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat, larutan DPPH, Kuersetin, *Aquadest*, kertas saring, kapas, larutan HCl_(p), asam asetat glasial, larutan HNO₃, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Dragendroff, larutan H₂SO_{4(p)}, larutan H₂SO₄ 2 N, larutan FeCl₃ 1%, serbuk Mg dan *aluminium foil*.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi daun biriba

Sampel daun biriba sebanyak 400 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian difraksinasi secara berturut-turut menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat.

Uji fitokimia

Uji alkaloid (uji Dragendroff)

Ekstrak kasar daun biriba (*R. mucosa*) dan fraksi-fraksinya dilarutkan dengan pelarut yang sesuai lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff (campuran Bi(NO₃)₂.5H₂O dalam asam nitrat dan larutan KI). Terbentuknya endapan berwarna jingga hingga merah coklat menunjukkan adanya alkaloid [10].

Uji fenolik

Ekstrak kasar daun biriba (*R. mucosa*) dan fraksi-fraksinya dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, lalu ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 1%. Adanya fenolik ditunjukkan dengan

terbentuknya warna hijau, merah, biru, ungu atau hitam [11].

Uji triterpenoid dan steroid (uji Liebermann-Burchard)

Ekstrak kasar daun biriba (*R. mucosa*) dan fraksi-fraksinya dilarutkan dengan pelarut yang sesuai dan ditambahkan dengan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat glasial dan H₂SO₄ pekat) sebanyak 3 tetes. Uji positif triterpenoid dengan terbentuknya warna merah atau ungu dan uji positif steroid menghasilkan warna hijau atau biru [11].

Uji flavonoid

Ekstrak kasar daun biriba (*R. mucosa*) dan fraksi-fraksinya dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, lalu ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif mengandung flavonoid ditandai dengan adanya warna merah, hijau, kuning atau jingga [11].

Uji saponin

Ekstrak kasar daun biriba (*R. mucosa*) dan fraksi-fraksinya dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, lalu dikocok dengan kuat. Uji positif saponin ditandai dengan adanya busa hingga ketinggian 1-3 cm dan bertahan selama 5 menit setelah ditambahkan dengan HCl pekat sebanyak 1 tetes [11].

Uji aktivitas antioksidan

Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH dilarutkan ke dalam 50 mL pelarut etanol 96% dalam labu takar dan larutan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan terlindung dari sinar matahari langsung.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Larutan DPPH 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 3 mL etanol 96%, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum 400-800 nm.

Pembuatan larutan uji

Ekstrak kasar dan masing-masing fraksi ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%, lalu dihomogenkan dan diperoleh konsentrasi larutan uji yaitu 100 ppm. Setelah itu diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm.

Pembuatan larutan pembanding kuersetin (kontrol positif)

Sebanyak 1 mg kuersetin dilarutkan dengan pelarut etanol 96% dalam labu ukur 10 mL dan didapatkan konsentrasi larutan pembanding yaitu 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm.

Pengukuran aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH yang dilakukan dengan cara memipet 3 mL larutan uji dengan masing-masing konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 100 ppm pada masing-masing konsentrasi dan dihomogenkan. Campuran tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 518 nm.

Analisis Data

Presentase aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dinyatakan dalam bentuk % inhibisi, dimana dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{sampel}})}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Abs kontrol adalah absorbansi radikal DPPH dan Abs sampel adalah absorbansi sampel dalam radikal DPPH.

Korelasi antara persen inhibisi dengan konsentrasi ekstrak diplotkan dan nilai IC₅₀ dihitung dalam persamaan regresi linier $y = ax \pm b$, dimana y sebesar 50 merupakan penghambat 50% oksidasi dan x sebagai nilai IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil esetat dan fraksi etanol sisa dari daun biriba (*R. mucosa*) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar etanol dan fraksi-fraksinya dari daun biriba (*Rollinia mucosa*)

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstrak Kasar Etanol	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol Sisa
Alkaloid	+	-	-	+
Fenolik	+	-	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	-
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-

Keterangan:

(+) : Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) : Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan pada hasil uji fitokimia maka diketahui bahwa pada ekstrak kasar etanol positif mengandung alkaloid, fenolik, steroid dan flavonoid. Pada fraksi *n*-heksana positif mengandung steroid dan flavonoid. Pada fraksi etil asetat positif mengandung fenolik, steroid dan flavonoid.

Sedangkan pada fraksi etanol sisa positif mengandung alkaloid, fenolik dan flavonoid.

Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan yang dilakukan terhadap ekstrak kasar etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi

etil esetat dan fraksi etanol sisa dari daun biriba (*R. mucosa*) yaitu dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh pada ekstrak kasar, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan

fraksi etanol sisa yaitu berturut-turut sebesar 159,72; 119,62; 40,12 dan 38,35 ppm. Sedangkan nilai IC₅₀ pada larutan pembanding kuersetin sebesar 1,95 ppm.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan

Jenis Ekstrak	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Kasar	159,72
Fraksi <i>n</i> -Heksana	119,62
Fraksi Etil Asetat	40,12
Fraksi Etanol Sisa	38,35
Kuersetin	1,95

Pada uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada ekstrak kasar dan fraksi-fraksinya diperoleh nilai IC₅₀ yang lebih kecil dibandingkan dengan larutan pembanding kuersetin, hal ini dikarenakan ekstrak dan fraksi-fraksinya merupakan senyawa yang belum murni sedangkan kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang murni.

Tingkat aktivitas antioksidan tertinggi yang diperoleh dari keempat fraksi tersebut yaitu pada fraksi etanol sisa dengan nilai IC₅₀ sebesar 38,35 ppm, dimana semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat apabila 50-100 ppm, sedang apabila 101-150 ppm dan lemah apabila 150-200 ppm.

Pada uji aktivitas antioksidan diketahui bahwa pada fraksi etanol sisa memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan apabila dihubungkan dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap fraksi etanol sisa yaitu mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenolik dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa yang umum berpotensi sebagai antioksidan

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dapat disimpulkan bahwa pada fraksi etanol sisa memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dimana diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 38,35 ppm dengan hasil uji fitokimia positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenolik dan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Achmad, S. A., Hakim, E. H., Erwin., Syah, M. Y., Nario, A., Mariko, K., Lukman, M., Didin, M., & Hiromitsu, T. 2001. Artoindonesianin B suatu senyawa yang bersifat toksik terhadap sel tumor P-388 dari tumbuhan *Artocarpus altilis*. *Bulletin The Indonesian Society of Natural Product Chemistry*, 1, 20-27.
- [2] Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang mataoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2(2), 128–132.
- [3] Westra, L. Y. T., & Maas, P. J. M. 2012. Tetrameranthus (Annonaceae) revisited including a new species. *PhytoKeys*, 12(0), 1-21.
- [4] Love, K., & Paull, R. E. 2011. Rollinia. *Collage of Tropical Agriculture and Human Resources*, 1–6.
- [5] Mubarokah, I. Z., Aznam, N., & Nurani, L. H. 2005. Uji aktivitas antioksidan infusa daun srikaya (*Annona squamosa* L.). *Journal FMIPA-UNY*, 91–98.
- [6] Sari, D. Y., Wijaya, S., & Setiawan, H. K. (2015). Fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara kromatografi kolom. *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan*, 2(2), 50–53.
- [7] Caetano, L. C., & Dadoun, H. 1986. Pallidine and aporphinoid alkaloids from *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products*, 50(2), 330.
- [8] Campos, L. M. M., Nunan, E. A., Caetano, L. C., Dadoun, H. A., & Oliveira, A. B. 1985. Antimicrobial activity in *Rollinia mucosa* (Baill.) (Annonaceae) Extract. *Reuniao Anual SBPC*, 37, 815.

- [9] Shi, G., MacDougal, J. M., & McLaughlin, J. L. 1997. Bioactive Annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*, 45(4), 719–723.
- [10] Robinson, T. 1995. *Kandungan Kimia Organik*

- Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB.
- [11] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Kedua*. Bandung: ITB.