

UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN (METODE DPPH) DARI DAUN RAMBAI (*Baccaurea motleyana* Mull. Arg.)

PHYTOCHEMICAL TEST AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST (DPPH METHOD) FROM RAMBAI LEAVES (*Baccaurea motleyana* Mull. Arg.)

Suyatmi*, Chairul Saleh, Djihan Ryn Pratiwi

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

*E-mail: suyatmiami787@gmail.com

Received: 15 January 2019, Accepted: 25 April 2019

ABSTRACT

The research about phytochemical test and antioxidant activity test on rambai leaves extract (*Baccaurea motleyana* Müll.Arg.) using DPPH radical immersion method had been done. This research aims to know kinds of secondary metabolite compounds in rambai leaves extract and level of antioxidant activity in rambai leaves. The result of this research showed that the secondary metabolite in rambai leaves were alkaloids, phenolics, flavonoids, saponins, steroids and triterpenoids. IC₅₀ values obtained in each crude extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction and residual ethanol fraction were 13.27 ppm, 22.81 ppm, 19.22 ppm and 13.33 ppm, respectively. The highest level of antioxidant activity was in crude extract.

Keywords: *Rambai Leaves, Phytochemical Test, Antioxidants, DPPH*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki iklim tropis dan kaya akan berbagai macam tumbuhan serta memiliki sekitar 25.000-30.000 spesies tanaman. Dimana 80% merupakan jenis tanaman di dunia dan 90% jenis tanaman yang tumbuh di Asia [1]. Tumbuhan secara fungsional tidak lagi dipandang sebagai tanaman hias saja, namun tumbuhan saat ini dapat dijadikan sebagai obat tradisional. Tumbuhan dapat digunakan pada beberapa pengobatan tradisional karena mempunyai beberapa kandungan bahan kimia aktif yang memiliki potensi efek farmakologi.

Metabolit sekunder ialah senyawa yang disintesis oleh makhluk hidup dan berperan penting dalam kelangsungan hidup suatu makhluk hidup. Oleh karena itu, keragaman metabolit sekunder dari suatu makhluk hidup sangat dipengaruhi oleh keadaan ekosistem makhluk hidup tersebut. Metabolit sekunder yang diproduksi pada tumbuhan berpotensi sebagai zat pewarna, penambah aroma makanan, obat dan antioksidan.

Senyawa yang dapat mencegah atau menghambat proses oksidasi lipid disebut antioksidan. Antioksidan sangat berperan penting dalam bidang kesehatan, kecantikan serta untuk

mempertahankan mutu produk pangan. Dalam bidang kesehatan maupun bidang kecantikan fungsi antioksidan yaitu untuk mencegah penyempitan pembuluh darah, penyakit kanker, tumor dan penuaan dini [2].

Genus *Baccaurea* merupakan salah satu takson yang berpotensi dijadikan sebagai tanaman obat karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Anggota genus *Baccaurea* yang diketahui mempunyai kandungan metabolit sekunder dan berpotensi sebagai obat salah satunya adalah Rambai (*Baccaurea motleyana* Müll.Arg.) [3], rambai merupakan tanaman buah yang dapat ditemukan di Thailand, Semenanjung Malaysia, Sumatera, Jawa, Borneo (Brunei, Serawak, Sabah, Kalimantan). Secara tradisional rambai telah dimanfaatkan sebagai bahan obat untuk mengobati peradangan pada mata dan bagian kulit sebagai bahan obat pelindung [4]. Sisillia (2009) melaporkan bahwa pada ekstrak kulit batang rambai mengandung senyawa aktif berupa saponin yang berpotensi sebagai antibakteri [5]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fitri *et al.* (2016), diperoleh bahwa buah rambai mengandung fenol dan flavonoid yang memiliki aktifitas lipid peroksida [6].

Berdasarkan dari uraian di atas, rambai merupakan salah satu genus *Baccaurea* yang menunjukkan berbagai macam aktivitas biologis yang bermanfaat khususnya sebagai antioksidan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada bagian daun rambai untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun rambai serta mengetahui besarnya aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, *beaker glass*, labu ukur, blender, Erlenmeyer, corong kaca, corong pisah, *rotary evaporator*, pipet tetes, pipet mikro, botol kaca gelap, botol semprot, neraca analitik, sikat tabung, spatula, *waterbath*, spektrofotometer *visible* dan lain-lain.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun rambai, *aquadest*, etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat, Kuersetin, larutan DPPH, asam asetat glasial, larutan HNO_3 , preaksi Dragendroff, preaksi Lieberman-Burchard, serbuk Mg, larutan FeCl_3 1%, larutan $\text{HCl}_{(p)}$, larutan $\text{H}_2\text{SO}_{4(p)}$, larutan H_2SO_4 2N kapas, kertas saring, vaselin, *aluminium foil* dan *tissue*.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi daun rambai

Sampel daun rambai sebanyak 300 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)

Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun rambai dilarutkan dengan pelarut yang sesuai lalu ditambahkan 2 tetes preaksi Dragendroff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Terbentuknya endapan berwarna jingga hingga merah coklat menunjukkan adanya alkaloid [7].

Uji fenolik

Ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun rambai dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 dan dididihkan. Apabila sampel memberikan perubahan

warna dari hijau, merah, biru, ungu sampai hitam maka menunjukkan hasil positif adanya fenolik [8].

Uji triterpenoid dan steroid (uji Lieberman-Burchard)

Ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun rambai dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan preaksi Lieberman-Burchard (asam asetat glasial dan H_2SO_4 pekat) sebanyak 3 tetes. Apabila setelah dicampurkan terbentuk warna merah atau ungu, hal ini menunjukkan uji positif untuk triterpenoid. Uji positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau biru [8].

Uji flavonoid

Ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun rambai dilarutkan menggunakan pelarut yang sesuai, lalu ditambahkan dengan serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif mengandung flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga, kuning sampai merah [8].

Uji saponin

Ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun rambai dilarutkan menggunakan pelarut yang sesuai, lalu dikocok kuat. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa mencapai ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit pada permukaan cairan. Kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes HCl pekat apabila busa tetap stabil maka menunjukkan adanya saponin [8].

Uji aktivitas antioksidan

Pembuatan larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH 100 ppm dibuat dengan cara melarutkan kristal DPPH sebanyak 5 mg dalam pelarut etanol 96% sebanyak 50 mL dalam labu takar dan larutan disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari sinar matahari.

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, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol sisa ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 50 mL dan diperoleh konsentrasi larutan yaitu 100 ppm. Kemudian di encerkan menjadi beberapa konsentrasi

yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm dan masing-masing konsentrasi dibuat 3 pengulangan (triplo).

Pembuatan larutan pembanding kuersetin (kontrol positif)

Sebanyak 1 mg kuersetin sebagai pembanding ditimbang dan dilarutkan dengan pelarut etanol 96% hingga volumenya 10 mL menggunakan labu ukur dan didapatkan larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm dan 4 ppm dan masing-masing dibuat 3 pengulangan (triplo).

Pengukuran aktivitas antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan ekstrak dan larutan pembanding dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 3 mL. Ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 mL dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit ditempat yang terlindung dari cahaya. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang optimum 518 nm.

Analisis Data

Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Aktivitas inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Hasil perhitungan dimasukkan dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % aktivitas inhibisi sebagai kordinatnya (sumbu y) nilai IC₅₀ dihitung dengan persamaan $y = ax + b$.

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 rambai (*B. motleyana*) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar etanol dan fraksi-fraksi dari daun rambai (*Baccaurea motleyana*)

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

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, saponin, triterpenoid dan flavonoid. Pada fraksi *n*-heksana positif mengandung steroid dan fenolik. Pada fraksi etil asetat positif mengandung fenolik, flavonoid dan triterpenoid. 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 rambai (*Baccaurea motleyana*) 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 13,27; 22,81; 19,22 dan 13,33 ppm. Sedangkan nilai IC₅₀ pada larutan pembanding kuersetin sebesar 1,9 ppm.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan

Jenis Ekstrak	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Kasar	13,27
Fraksi <i>n</i> -Heksana	22,81
Fraksi Etil Asetat	19,22
Fraksi Etanol Sisa	13,33
Kuersetin	1,94

Pada uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada ekstrak kasar dan fraksi-fraksinya diperoleh nilai IC_{50} 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 ekstrak kasar dengan nilai IC_{50} sebesar 13,27 ppm, dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC_{50} 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 ekstrak kasar etanol memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan apabila dihubungkan dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak kasar etanol 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 ekstrak kasar etanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dimana diperoleh nilai IC_{50} sebesar 13,27 ppm dengan hasil uji fitokimia positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenolik dan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dewoto, H.R. 2007. Pengembangan obat Indonesia menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57(7).
- [2] Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak tumbuhan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesi*, 5 (1): 31-3.
- [3] Gunawan, Chikmawati, T., Sobir, & Sulistijorini. 2016. Review : Fitokimia Genus *Baccaurea* Spp ., 2(2), 96–110.
- [4] Lim T. K. 2012. *Edible Medicine and Non-Medicine Plants*: Volume 4. London New York. Springer.
- [5] Sisillia, L. 2009. *Aktivitas Antibakteri Zat Ekstraktif Kulit Kayu Rambai (Baccaurea motleyana Muell. Arg.)*. Institut Pertanian Bogor.
- [6] Fitri, A., Sudarman, A., and Yonekura, L. 2016. Screening of antioxidant activities and their bioavailability of tropical fruit byproducts from Indonesia. *Int J Pharm Phram Sci.* 8(6): 96-100.
- [7] Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- [8] Harborne, J. 1987. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Bandung: ITB.