

**SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH DARI
TUMBUHAN BIJI KLUWIH (*Artocarpus camansi* Blanco)**

***PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST USING DPPH
METHOD OF KLUWIH SEED (*Artocarpus camansi* Blanco)***

Iqlimah Sulistiawati*, Chairul Saleh, Erwin

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

*E-mail: iqlimahsulistiawati95@gmail.com

Received: 14 May 2019, Accepted: 01 September 2020

ABSTRACT

Phytochemical screening and antioxidant activity test using DPPH method of Kluwih seed (*Artocarpus camansi* Blanco) have been done. Maceration of Kluwih seed was carried out using methanol. The phytochemical test showed *A. camansi* contains secondary metabolites including alkaloids, phenolics, flavonoids and steroids. Based on the result of the antioxidant test using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method, the result exhibited that the crude extract had an IC_{50} value of 63.63 ppm.

Keywords: *Kluwih (Artocarpus camansi Blanco), Phytochemical Screening, Antioxidant Activity test, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).*

PENDAHULUAN

Senyawa metabolit sekunder merupakan sintesis dari makhluk hidup seperti tumbuhan dan hewan maupun mikroba melalui proses biosintesis yang berfungsi untuk menunjang kehidupan dan mempunyai aktivitas farmakologi dan biologi [1]. Metabolit sekunder ini bersifat non-esensial untuk pertumbuhan organisme yang dapat ditemukan dengan bentuk yang tidak sama antara satu spesies dengan yang lainnya [2]. Famili Moraceae terdiri dari 60 genus dan 1400 spesies. Genus utama dari famili Moraceae adalah *Artocarpus* yang memiliki 50 spesies dan tersebar mulai dari Asia Selatan, Asia Tenggara hingga kepulauan Solomon, Kepulauan Pasifik, Australia Utara dan Amerika Tengah. Khususnya di pulau Kalimantan, Terdapat 25 spesies dari tumbuhan *Artocarpus*. Beberapa spesies dari *Artocarpus* telah diteliti dan menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari senyawa terpenoid dan flavonoid, sehingga tanaman ini memiliki potensi sebagai sumber obat [3].

Indonesia adalah negara beriklim tropis yang curah hujannya rata-rata tinggi disepanjang tahun sehingga tumbuhan dapat tumbuh dengan subur [4]. Kekayaan sumber daya alam hayati di Indonesia, antara lain dicirikan dengan keanekaragaman jenis

tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat bagi kehidupan masyarakat, diantaranya sebagai pengobatan tradisional [5].

Metabolit sekunder pada tumbuhan *Artocarpus camansi* Blanco (kluwih) telah diketahui adanya kandungan kimia senyawa fenolik seperti kalkon, flavonoid, santon dan stilben. Pada *Artocarpus camansi* Blanco telah diisolasi senyawa flavon sederhana yakni artokarpetin, noratocarpetin dan morin [6]. Tumbuhan kluwih merupakan salah satu spesies dari *Artocarpus* yang memiliki potensi sebagai obat. Daun tumbuhan kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) telah diteliti untuk menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes militus [7]. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan memperoleh hasil bahwa ekstrak daun kluwih mengandung flavonoid [8].

Penelitian yang dilakukan oleh Samosir (2010) menunjukkan bahwa tumbuhan kluwih dan buahnya dapat melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas hal ini dikarenakan adanya kandungan antioksidan dalam tumbuhan dan buah-buahan tersebut [9].

Berdasarkan informasi di atas, maka diduga biji kluwih juga memiliki senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini mengkaji metabolit sekunder yang ada pada ekstrak kasar metanol biji

kluwih dan dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode perendaman radikal bebas (DPPH) untuk memberikan informasi awal tentang pemanfaatan biji tanaman kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut pisau, gunting, neraca analitik, corong pisah, corong kaca, botol vial, wadah gelas, gelas beaker, botol kaca gelap, *rotary evaporator*, *hot plate*, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu ukur, erlenmeyer, blender, dan spektrofotometer *visible*).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco), metanol, aquadest, DPPH, vitamin C dan HCl 2N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Liebermann-Burchard, CH₃COOH glasial, asam nitrat, serbuk Mg, HCl (p), FeCl₃ 1%, kertas saring, aluminium foil, tissue, plastik wrap, kertas label, dan kapas.

Prosedur Penelitian

Persiapan sampel

Sampel biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) yang terkumpul dibersihkan dari kotoran yang menempel serta dikeringanginkan pada suhu ruang sampai sampel benar-benar kering. Sampel yang telah dikering dipotong kecil-kecil dan dihaluskan.

Ekstraksi

Ekstraksi sampel biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilakukan dengan cara maserasi. Sampel yang telah halus, kemudian direndam dalam pelarut metanol selama beberapa hari dalam suhu ruang. Maserasi dilakukan secara berulang-ulang hingga larutan ekstrak tidak berwarna lagi. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan dihilangkan metanolnya dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak metanol biji kluwih.

Uji fitokimia

Uji alkaloid

Ekstrak kasar biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilarutkan dengan pelarut metanol kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (campuran Bi(NO₃)₂.5H₂O dalam asam nitrat dan larutan KI). Terbentuknya endapan berwarna jingga hingga merah coklat menunjukkan adanya alkaloid [10].

Uji saponin

Ekstrak kasar biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilarutkan dengan pelarut metanol, kemudian 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 steroid dan triterpenoid

Ekstrak kasar biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilarutkan dengan pelarut metanol 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 [12].

Uji flavonoid

Ekstrak kasar biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilarutkan dengan pelarut metanol, lalu ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif mengandung flavonoid ditandai dengan adanya warna merah, hijau, kuning atau jingga [13].

Uji fenolik

Ekstrak kasar biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilarutkan dengan pelarut metanol, lalu ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 1%. Adanya fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, biru, ungu atau hitam [11].

Pengujian aktivitas antioksidan

Pembuatan larutan uji

Ekstrak kasar dan masing-masing fraksi ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL metanol, lalu dihomogenkan dan diperoleh konsentrasi larutan uji yaitu 100 ppm. Setelah itu diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm dalam 10 mL pelarut metanol teknis [14].

Pembuatan larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH 100 ppm dilakukan dengan cara melarutkan 5 mg serbuk DPPH ke dalam 50 mL pelarut metanol dalam labu takar dan larutan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan agar terhindar dari sinar matahari [11].

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Ekstrak kasar, yang telah diperoleh kemudian dilakukan uji antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas dengan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan kuersetin sebagai kontrol positif [11].

Pembuatan larutan pembanding kuersetin (kontrol positif)

Pembuatan larutan pembanding dilakukan dengan cara menimbang 1 mg kuersetin dan dilarutkan dengan pelarut metanol teknis dalam labu ukur 10 mL dan didapatkan konsentrasi larutan pembanding yaitu 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm dalam 10 mL pelarut metanol teknis dan kemudian dihomogenkan.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan memipet larutan DPPH 100 ppm sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 3 mL metanol teknis lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur dengan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 400-800 nm.

Analisis data

Persentase aktivitas antioksidan ekstrak kasar, dengan metode peredaman radikal bebas dengan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dinyatakan dalam bentuk persen 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 diplotka 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

Tanaman kluwih yang digunakan pada penelitian ini telah dideterminasi pada Laboratorium Sistematika dan Anatomi Tumbuhan FMIPA Universitas Mulawarman, Samarinda. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco).

Hasil Ekstraksi

Pemilihan sampel biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) dilakukan secara manual dengan cara memilih biji kluwih yang tampak segar. Sampel biji kluwih yang telah terkumpul dicuci bersih. Kemudian sampel dikeringanginkan pada suhu ruang

dengan tidak terkena sinar matahari langsung. Tujuan dikeringanginkan untuk mengurangi kadar air yang terkandung di dalam sampel sehingga jamur dan bakteri tidak tumbuh dan enzim-enzim tidak bekerja. Setelah sampel kering kemudian sampel dihaluskan. Sampel dihaluskan untuk memaksimalkan interaksi pelarut metanol dengan sampel hingga diharapkan keseluruhan metabolit sekunder dapat terekstrak dengan baik.

Ekstraksi biji kluwih dilakukan menggunakan ekstraksi cara dingin, yaitu dengan metode maserasi. Keuntungan metode maserasi yaitu menggunakan peralatan yang sederhana, prosesnya relatif hemat pelarut dan dilakukan tanpa pemanasan agar tidak merusak kandungan sampel tumbuhan yang diperoleh [15].

Perendaman sampel tumbuhan pada pelarut metanol akan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang terdapat didalam sel akan terlarut dalam pelarut organik. Hasil maserasi disaring dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh 25 gram ekstrak kasar biji kluwih dengan nilai rendemen diperoleh sebesar 63,63 ppm.

Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kasar biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco) pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji kluwih mengandung alkaloid, fenolik, triterpenoid, steroid, flavonoid dan saponin.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia dari ekstrak metanol biji kluwih (*Artocarpus camansi* Blanco).

Jenis Senyawa	Ekstrak Metanol
Alkaloid	+
Steroid	+
Saponin	-
Flavonoid	+
Fenolik	+
Triterpenoid	-

Keterangan:

- (+) = mengandung senyawa metabolit sekunder
- (-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan pada hasil uji fitokimia pada ekstrak kasar posisiif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, steroid dan flavonoid. Dimana metanol yang bersifat polar menarik senyawa baik polar maupun nonpolar.

Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kasar Metanol dari Biji Kluwih (*Artocarpus camansi Blanco*).

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar metanol serta kuersetin sebagai kontrol positif ini dilakukan agar dapat mengetahui besar aktivitas antioksidan pada biji kluwih. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH, pengujian ini menggunakan data absorbansi dari ekstrak yang telah diukur dengan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang maksimum yaitu 518 nm yang sebelumnya telah ditentukan dengan mengukur absorbansi blanko yaitu larutan DPPH dalam metanol tanpa penambahan larutan uji. ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol biji Kluwih (*Artocarpus camansi Blanco*).

Sampel	Persen aktivitas antioksidan (%)				
	Konsentrasi (ppm)				
	10	20	30	40	50
Ekstrak kasar metanol	13,55	20,59	25,16	35,46	40,28
Kuersetin	33,66	44,74	77,70	82,69	82,13

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan yang ditunjukkan pada Tabel 2 diperoleh nilai % inhibisi pada ekstrak kasar masing-masing sebesar 13,55; 20,59; 25,16; 35,46 dan 40,28% dengan nilai IC_{50} yaitu 63,6342 ppm. Pada kontrol positif kuersetin diperoleh nilai % inhibisi masing-masing sebesar 33,66; 44,74; 77,70; 82,69 dan 82,13% dengan nilai IC_{50} yaitu 1,95 ppm. Dari hasil nilai IC_{50} yang diperoleh maka diketahui bahwa pada ekstrak kasar memiliki tingkat antikosidan yang kuat, dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi tingkat aktivitas antioksidan dari suatu sampel ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC_{50} (ppm) dan tingkat kekuatan antioksidan.

Jenis Ekstrak	Nilai IC_{50} (ppm)	Tingkat Kekuatan Antioksidan
Ekstrak Kasar	63,63	Kuat
Kuersetin	1,95	Sangat kuat

Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh pada ekstrak kasar yaitu 63,63 ppm. Sedangkan nilai IC_{50} pada larutan perbandingan kuersetin sebesar 1,95 ppm. Tingkat aktivitas antioksidan ekstrak kasar dengan nilai IC_{50} sebesar 63,63 ppm, dimana semakin kecil

nilai IC_{50} maka semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan dan memiliki sangat toksik. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila 50-100 ppm, sedangkan apabila 101-150 ppm dan lemah apabila 150-200 ppm.

Dari hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kasar biji kluwih memperlihatkan adanya kandungan flavonoid, fenolik, dan alkaloid. Fenolik, flavonoid ataupun alkaloid aromatis merupakan senyawa-senyawa yang dapat menangkap radikal bebas [16, 17].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak kasar yang paling kuat dimana diperoleh nilai IC_{50} sebesar 63,63 ppm dengan hasil uji fitokimia positif yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenolik, steroid dan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Saifudin A. 2014. Senyawa alam metabolit sekunder: Teori, konsep dan teknik pemurnian. Yogyakarta: Deepublish.
- [2] Reo A. R., Berhimpon S., dan Montolalu R. 2017. Metabolit sekunder *Gorgonio (Paramurucea clavata)*. *Jurnal Ilmiah Platax*, 5(1), 42–48.
- [3] Hakim, Alifam. 2011. Keanekaragaman metabolit sekunder genus *Artocarpus (Moreceae)*. *Bioteknologi*, 8(2):86-90.
- [4] Achmad S. A., Hakim E. H., Erwin, Syah M. Y., Nario A., Mariko K., Lukman M., Didin M., dan Hiromitsu T. 2001. Artoindonesianin B suatu senyawa yang bersifat toksik terhadap sel tumor P-388 dari tumbuhan *Artocarpus altilis*. *Buletin The Indonesian Society of Natural Product Chemistry*, 1:20-27.
- [5] Ngajow M., Abidjulu J., dan Kamu V. S. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2(2):128–132.
- [6] Erwin. 2010. Profil kimia *Artocarpus*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(1):54-56.
- [7] Eryuda F dan T.U. Soleha. 2016. Ekstrak daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dalam menurunkan Kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus. *Majority*, 5(4):71-75.
- [8] Mariana S. D., Suryanti V., dan Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia labu siam (*Sechium*

- edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*, 3(1):26-31.
- [9] Samosir O.B. Adioetomo S.M. 2010. *Dasar-dasar demografi*. Jakarta: Salemba Empat.
- [10] Robinson. 1995. Kandungan kimia organik tumbuhan tingkat tinggi. Bandung: Penerbit ITB.
- [11] Harborne J.B. 1987. *Metode fitokimia: Penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [12] Chairul S. 2015. *Kimia triterpenoid*. Edisi Pertama. Samarinda: Mulawarman University Press.
- [13] Sahidin I. 2015. *Mengenal senyawa alami: pembentukan dan pengelompokan secara kimia*. Kendari: Unhalu Press.
- [14] Sari D. Y., Wijaya S., dan 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.
- [15] Westra L. Y. T., dan Maas P. J. M. 2012. *Tetrameranthus* (Annonaceae) revisited including a new species. *PhytoKeys*, 12:1-21.
- [16] Erwin. 2015. Phytochemical analysis and antioxidant activity of the wood ethanolic extract of sirih hutan (*Piper aduncum*), *Indonesia Chimica Acta*, 8(2):11-16.
- [17] Erwin, Redda An Nisa, and Daniel. 2015. Phytochemical test, toxicity and antioxidant activity leaves kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) with DPPH method. *Indonesia Chimica Acta*, 8(1):52-59.