

## SKRINING FITOKIMIA, UJI ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BINTARO (*Cerbera manghas*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

### PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT TEST AND TOXICITY TEST OF BINTARO LEAF ETHANOL EXTRACT (*Cerbera manghas*) USING THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD

Andi Deffi Ramadani<sup>1</sup>, Adrian Maulana Aditya<sup>1</sup>, Nurnaningsi T<sup>1</sup>., Erwin<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Student of Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Mulawarman, Samarinda (East Kalimantan) 75119, Indonesia

<sup>2</sup>Lecturer of Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Mulawarman, Samarinda (East Kalimantan) 75119, Indonesia

\*Corresponding Author: [erwinakkas@fmipa.unmul.ac.id](mailto:erwinakkas@fmipa.unmul.ac.id)

#### ABSTRACT

*The purpose of this study was to determine the results of phytochemical tests of bintaro leaf ethanol extract and to determine the results of antioxidant tests using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with a concentration variation of 100; 80; 60; 40; and 20 ppm obtained from bintaro leaf ethanol extract by testing its toxicity using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The results showed that the ethanol extract of bintaro leaves (*Cerbera manghas*) contains steroid compounds, saponins, and quinones. Furthermore, the  $IC_{50}$  value of the ethanol extract of bintaro leaves (*C. manghas*) was 41.68 ppm with a very strong category and the results of the toxicity test obtained the  $LC_{50}$  value of the ethanol extract of bintaro leaves (*C. manghas*) of 30.44 ppm with a very toxic category. An extract with an  $LC_{50}$  value  $\leq 30$  ppm has the potential as an anticancer drug candidate because of the correlation between the level of toxicity and anticancer activity so that these results can be concluded that the ethanol extract of bintaro leaves (*C. manghas*) has the potential to have bioactivity because it is toxic to *Artemia salina* L. shrimp larvae.*

**Keywords:** Antioxidant, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), Bintaro Leaves, Phytochemical Test

#### ABSTRAK

*Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil uji fitokimia dari ekstrak etanol daun bintaro dan untuk mengetahui hasil uji antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan variasi konsentrasi 100; 80; 60; 40; dan 20 ppm yang diperoleh dari ekstrak etanol daun bintaro dengan menguji toksisitasnya menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera manghas*) mengandung senyawa steroid, saponin, dan kuinon. Selanjutnya, didapatkan nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol daun bintaro (*C. manghas*) sebesar 41,68 ppm dengan kategori sangat sangat kuat dan hasil uji tosisitas didapatkan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak etanol daun bintaro (*C. manghas*) sebesar 30,44 ppm dengan kategori sangat toksik. Suatu ekstrak dengan nilai  $LC_{50} \leq 30$  ppm berpotensi sebagai kandidat obat antikanker karena adanya korelasi antara tingkat toksisitas dengan aktivitas antikanker sehingga hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro (*C. manghas*) berpotensi memiliki bioaktivitas karena bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L.*

**Kata kunci:** Antioksidan, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), Daun Bintaro, Uji Fitokimia

#### PENDAHULUAN

Sebagai negara kepulauan, Indonesia terdiri dari ribuan pulau yang tersebar di 34 provinsi, dengan total daratan seluas 1,9 juta kilometer persegi dan wilayah laut sebesar 6,4 juta kilometer persegi, menjadikan keseluruhan wilayah Indonesia seluas 8,3 juta kilometer persegi. Berdasarkan laporan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK) Republik Indonesia, pada tahun 2022, hutan tropis di Indonesia mencakup sekitar 62,97% dari total luas daratan, yaitu sekitar 125,76 juta hektare. Hutan tropis ini tidak hanya berperan sebagai paru-paru dunia, tetapi juga menjadi habitat penting bagi berbagai spesies flora dan fauna[1]. Indonesia juga merupakan salah satu negara dengan kekayaan biodiversitas tumbuhan obat yang tinggi. Dari sekitar 250.000 spesies tumbuhan obat di dunia, 10% di antaranya terdapat di Indonesia. Lebih dari 24.000 senyawa metabolit sekunder telah berhasil diisolasi dari berbagai tumbuhan, dan sekitar 119 senyawa bioaktif telah digunakan sebagai bahan dasar obat-obatan modern [2],[3].

Tanaman obat telah lama digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional, terutama di negara-negara berkembang dan belum berkembang di dunia, hingga saat ini. Beberapa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman obat telah berhasil dikembangkan menjadi obat modern. Salah satu contoh suksesnya adalah artemisinin, obat antimalaria yang dikembangkan dari tanaman *Artemisia annua* L., yang telah digunakan di Cina selama lebih dari 4000 tahun[3];[4]. Indonesia, dengan kekayaan alam yang melimpah dan ribuan spesies tumbuhan, memiliki potensi besar untuk mengembangkan flora dan faunanya dalam industri farmasi. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) mengelompokkan obat tradisional ke dalam tiga kategori, yaitu jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka, berdasarkan tingkat bukti ilmiah yang mendukung keamanan dan efektivitasnya [5].

Bintaro (*Cerbera manghas*) adalah tanaman bakau yang memiliki potensi sebagai obat. Tanaman ini banyak tumbuh di wilayah pesisir selatan Asia Timur dan sekitar Samudra Hindia. Ekstrak daun bintaro mengandung berbagai senyawa kimia seperti alkaloid, tanin, dan kardenolida, yang diketahui memiliki

manfaat dalam pengobatan. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi dikembangkan lebih lanjut untuk aplikasi medis karena memiliki sifat bioaktif yang dapat mendukung pembuatan obat-obatan herbal atau modern. Dengan kandungan kimianya, bintaro menjadi salah satu sumber daya alam yang potensial untuk dikaji dalam dunia farmasi[6]. Tumbuhan ini juga dikenal dengan nama lain seperti *Cerbera lactaria* dan *C. odollam*, memiliki sebutan lokal seperti pohon pong pong, otalanga, dan mangga laut. Tanaman ini memiliki berbagai kegunaan, termasuk sebagai tanaman hias dan penghijauan di perkotaan. Selain itu, bintaro sering dimanfaatkan sebagai bahan baku kerajinan bunga kering dan pestisida herbal. Dengan kandungan kimianya yang berpotensi untuk pengobatan, bintaro juga dikembangkan sebagai tanaman obat. Tanaman ini memiliki nilai ekologis dan ekonomis yang penting bagi masyarakat, khususnya di daerah pesisir [7].

Secara etnobotani, masyarakat Dayak Bakumpai Desa Bagus Kabupaten Barito Kuala memanfaatkan sebagai obat demam kejang. Di samping itu, Bintaro juga digunakan sebagai penghijauan dan bayangan di kawasan Desa Bagus. Batangnya dibuat sebagai penutup parang dan buahnya digunakan sebagai umpan untuk pancingan ikan [8]. Jadi Bintaro merupakan tumbuhan obat yang selama ini digunakan terutama dalam menurunkan panas bagi penderita dema. Dalam makalah ini akan dilaporkan hasil penelitian ini yang menggali potensi daun bintaro (*Cerbera manghas*) sebagai sumber fitokimia yang bermanfaat, khususnya di daerah tropis. Melalui kombinasi skrining fitokimia, uji antioksidan, dan uji toksisitas, artikel ini menawarkan pendekatan yang komprehensif dalam mengevaluasi manfaat kesehatan dari ekstrak daun bintaro. Ini memberikan wawasan yang lebih dalam tentang potensi dan keamanan penggunaan daun bintaro sebagai bahan obat.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu lumpang, alu, oven, *aluminium foil*, gelas kimia 1000 mL, *plastic wrap*, neraca digital, wadah maserasi, vacuum rotary evaporator, kaca arloji, botol vial, batang pengaduk, mikropipet, aquarium, lampu kuning,

tabung mikrosentrifuge, mikroplat, pipet tetes, wadah sampel, tabung reaksi dan *Spectrofotometer UV-Vis*.

### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun bintaro, etanol, aquades, metanol, reagen Liebermann-Burchard (anhidrida asetat, asam sulfat pekat), reagen Dragendorff, serbuk Mg, HCl pekat, larutan FeCl<sub>3</sub> 1%, NaOH 1 N, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), telur udang, air laut, dan DMSO.

## **Prosedur Penelitian**

### **1. Pengambilan Sampel**

Sampel berupa daun Bintaro (*Cerbera manghas*) yang dikoleksi dari sekitar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman.

### **2. Preparasi Sampel**

Daun bintaro (*Cerbera manghas*) yang diperoleh terlebih dipilih, diambil yang masih bagus dan segar kemudian dicuci bersih dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Setelah sampel kering, dihaluskan menggunakan lumpang dan alu hingga sampel menjadi halus.

### **3. Ekstraksi**

Simplisia sebanyak 105 gram daun bintaro (*Cerbera manghas*), diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol selama 3 kali 24 jam. Filtrat yang diperoleh dari hasil penyaringan, ditampung ke dalam wadah tertutup rapat. Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan pelarutnya pada suhu rendah (di bawah suhu didih pelarutnya) menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental [9]; [10].

### **4. Uji Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan untuk ekstrak daun bintaro (*Cerbera manghas*) yang meliputi uji alkaloid, triterpen, steroid, fenolik, flavonoid dan saponin, di mana ekstrak kental yang diperoleh kemudian direaksikan dengan pelarut atau reagent yang biasa digunakan dalam uji fitokimia jika terjadi perubahan warna menandakan bahwa ekstrak yang diuji mengandung senyawa metabolit sekunder sesuai dengan reagen yang digunakan [11][12]. Uji kandungan triterpen/steroid dilakukan dengan menambahkan larutan ekstrak dengan reagen Liebermann-Burchard (2 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes asam sulfat) jika terjadi perubahan warna menjadi hijau atau biru, menandakan

keberadaan steroid, sedangkan perubahan warna menjadi jingga atau ungu menunjukkan keberadaan triterpen. Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan larutan ekstrak dengan reagen Dragendorff (8 g KI dilarutkan dalam 20 mL air suling dan 0,85 g bismuth (Bi(NO)<sub>3</sub>, asam tartat dan kalium iodide), adanya alkaloid dalam ekstrak ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga[13]; [14]

Uji fenolik dilakukan dengan cara mencampurkan beberapa mL larutan ekstrak dengan beberapa tetes larutan FeCl<sub>3</sub>. Setelah dikocok jika terbentuk perubahan warna menjadi merah, ungu, biru tua, biru, atau hijau menandakan adanya kandungan fenolik. Uji flavonoid dilakukan dengan cara beberapa mL larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambah sedikit serbuk/pita Mg yang diikuti beberapa tetes HCl pekat. Jika perubahan warna terjadi menjadi merah, kuning, atau jingga, itu menandakan keberadaan flavonoid [15]. Sedangkan uji kuinon dilakukan dengan menambahkan beberapa mL NaOH 1 N ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan ekstrak, kemudian diamati perubahan warnanya. Reaksi positif akan ditandai dengan terbentuknya warna kuning hingga merah. Sedangkan uji saponin dilakukan dengan melarutkan 1 mg sampel ditambahkan ke dalam air panas, lalu beberapa tetes HCl pekat ditambahkan. Keberadaan saponin dapat terdeteksi dengan adanya busa yang tetap bertahan selama sekitar 15 menit setelah sampel dikocok [16];

### **5. Uji BioAssya**

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT (brine shrimp lethality test) di mana telur udang ditetaskan selama dua kali 24 jam. Sedangkan ekstrak dilarutkan dalam etanol (ditambah beberapa tetes DMSO jika tidak mau larut), kemudian diencerkan menjadi 1000, 500, 250, 125, 62,5; 31,25; 15,625 ppm. Selanjutnya tiap-tiap konsentrasi tersebut ditambah 10 larva udang (bersama dengan airnya sehingga konsentrasi larutan ekstrak menjadi 500, 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 ppm. Masing-masing dilakukan triplo. Setelah 24 jam, larva udang yang hidup dan mati dihitung untuk menentukan nilai probitnya yang dipakai dalam menentukan nilai LC<sub>50</sub>. [17]; [18]; [11]; [19], sedangkan Uji antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal

DPPH sebagaimana prosedur yang dilakukan untuk beberapa penelitian sebelumnya [10]; [20]; [21].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi diawali dengan mengumpulkan sampel daun bintaro (*C. manghas*) yang diperoleh di sekitar Gedung A Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman. Sampel kemudian dibersihkan dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu - yang bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam sampel agar tidak mudah ditumbuhi jamur. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk untuk memperluas permukaan sampel, sehingga proses kontak pelarut dengan sampel lebih maksimal dan lebih banyak senyawa metabolit sekunder yang tertarik. Setelah itu, serbuk daun bintaro ditimbang dan diperoleh berat keringnya sebesar 105 gram.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama tiga hari. Selama maserasi, perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel sampel menyebabkan dinding sel pecah, sehingga metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya dapat larut dalam pelarut organik yang digunakan. Untuk mencapai hasil yang optimal, pengadukan dilakukan secara berkala agar konsentrasi larutan di dalam botol maserasi tetap seimbang. Setelah maserasi selesai, larutan disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator, di mana pelarut menguap pada titik didih yang lebih rendah akibat tekanan yang dikurangi. Ekstrak etanol daun bintaro yang diperoleh kemudian ditimbang, menghasilkan berat sebesar 12 gram, dengan rendemen sebesar 8,75%.

Uji fitokimia adalah metode skrining yang digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan. Metode ini penting dalam penelitian farmakologi karena senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, memiliki potensi bioaktivitas yang beragam, seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba. Dengan uji ini, para peneliti dapat mengeksplorasi dan memanfaatkan kandungan fitokimia tumbuhan yang berpotensi sebagai

bahan dasar obat atau suplemen kesehatan, sehingga memberikan kontribusi besar terhadap pengembangan obat tradisional dan modern. Dalam uji fitokimia ini yang meliputi uji senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kuinon, yang positif terkandung dalam ekstrak adalah steroid, saponin, dan kuinon, seperti tercantum dalam tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bintaro

No.	Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil Uji
1.	Alkaloid	-
2.	Triterpenoid	-
3.	Steroid	+
4.	Fenolik	-
5.	Flavonoid	-
6.	Saponin	+
7.	Kuinon	+

Keterangan:

(+) = Terdapat senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder.

Golongan senyawa steroid dapat dideteksi menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menjadi larutan biru. Senyawa saponin dapat dideteksi dengan metode Forth yang ditandai dengan terbentuknya busa, dalam ekstrak etanol daun bintaro terbentuk busa. Selanjutnya senyawa kuinon dapat dideteksi dengan reaksi penggaraman dan hidrolisis kuinon menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menjadi endapan hijau kemerahan kemudian warna larutan kembali berubah menjadi cokelat [22]. Senyawa-senyawa tersebut dapat tertarik dengan baik oleh pelarut etanol sebab etanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar cenderung polar, sehingga mampu menarik senyawa polar dan senyawa non polar.

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk mengetahui potensi bioaktivitas suatu ekstrak berdasarkan sifat toksik dari senyawa [19]. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan suatu uji toksisitas yang dilakukan dengan menggunakan *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. *A. salina* digunakan sebagai hewan uji disebabkan *A. salina* memiliki tipe DNA-

*dependent* RNA polimerase dan juga *ouabaine-sensitive* Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> *dependent* ATPase yang menyerupai pertumbuhan sel manusia. Dalam uji ini, digunakan larutan Dimetil Sulfoksida (DMSO) sebagai pelarut dikarenakan merupakan pelarut yang bersifat aprotik, sehingga dapat melarutkan senyawa polar dan juga non polar. Selain itu, DMSO juga tidak bersifat toksik,

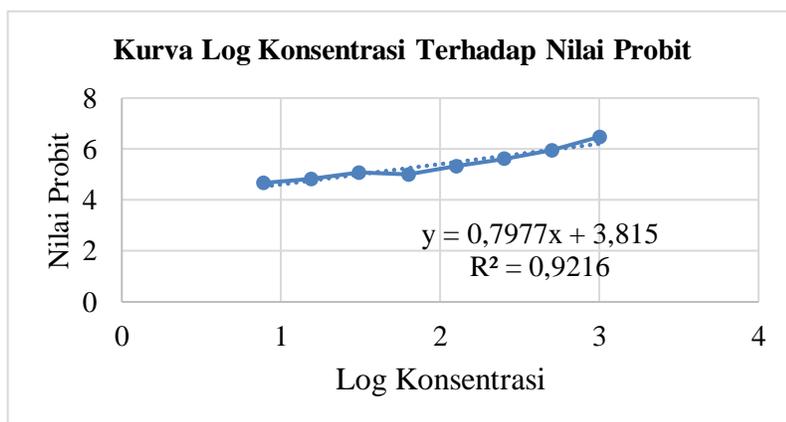
sehingga dapat menjadi jaminan jika kematian *A. salina* disebabkan oleh senyawa yang terkandung di dalam ekstrak, bukan disebabkan oleh pelarut [23]. Pada uji BSLT digunakan beberapa variasi konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui besarnya nilai LC<sub>50</sub> yang menyatakan kematian 50% populasi hewan uji. Adapun hasil uji BSLT dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji BSLT Ekstrak Etanol Daun Bintaro

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah Larva (ekor)	Jumlah Larva Mati (ekor)					Mortalitas (%)	Nilai Probit
			I	II	III	Rata-rata	Kontrol		
1000	3,00	10	10	8	10	9,3	0	93,3	6,48
500	2,70	10	10	6	9	8,3	0	83,3	5,95
250	2,40	10	8	6	8	7,3	0	73,3	5,61
125	2,10	10	8	4	7	6,3	0	63,3	5,33
62,5	1,80	10	8	5	5	6	1	50,0	5,00
31,25	1,49	10	7	2	7	5,3	0	53,3	5,08
15,625	1,19	10	4	5	7	5,3	1	43,3	4,82
7,8125	0,89	10	5	4	5	4,7	1	36,7	4,67

Berdasarkan data yang ada di Tabel 2. dapat dibuat regresi linier antara log konsentrasi terhadap nilai probit. Analisa probit digunakan

untuk menghitung nilai LC<sub>50</sub> karena variabel respon bersifat biner.

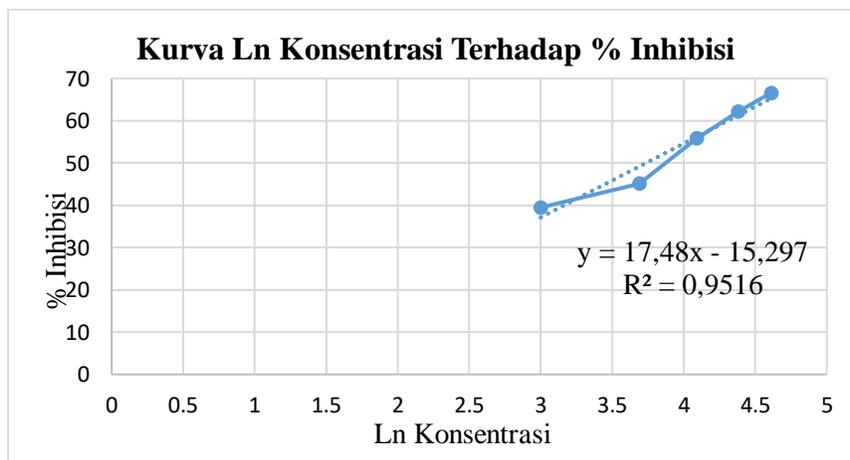


**Gambar 1.** Kurva Uji BSLT Ekstrak Etanol Daun Bintaro

Berdasarkan kurva regresi linier yang terdapat pada Gambar 1. didapatkan persamaan garis  $y = 0,7977x + 3,815$  dengan nilai  $R^2 = 0,9216$ , sehingga dapat dihitung besarnya nilai  $LC_{50}$  dengan cara mensubstitusi nilai  $y = 5$  (nilai probit 50% kematian hewan uji) ke persamaan tersebut. Selanjutnya mengubah nilai  $x$  menjadi anti log  $x$ , sehingga didapatkan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak etanol daun bintaro sebesar 30,44 ppm dengan kategori sangat toksik. Adapun kategori toksisitas dalam uji BSLT menurut Meyer yaitu sangat toksik ( $LC_{50} \leq 30$  ppm), toksik ( $31 \text{ ppm} < LC_{50} < 1000$  ppm), dan tidak toksik ( $LC_{50} > 1000$  ppm). Suatu ekstrak dengan nilai  $LC_{50} \leq 30$  ppm berpotensi sebagai kandidat obat antikanker karena adanya korelasi antara tingkat toksisitas dengan aktivitas antikanker [24].

Mekanisme kematian larva udang *Artemia salina* L. berkaitan dengan fungsi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit batang bintaro seperti alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Adapun sistem kerja dari senyawa alkaloid yaitu membuat larva udang gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak mampu mengenali makanannya dengan cara menghambat reseptor perasa yang ada di mulut

larva sehingga larva udang mati kelaparan [25]. Mekanisme kematian *A. salina* berkaitan dengan keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol batang bajakah. Senyawa alkaloid akan bertindak sebagai racun mulut, sehingga *A. salina* gagal menerima stimulus rasa dan mati kelaparan. Keberadaan senyawa saponin dapat mengikat oksigen di dalam air, hal ini disebabkan sifatnya yang mirip seperti surfaktan, sehingga kadar oksigen berkurang dan *A. salina* mati dikarenakan kekurangan [26]. Selain itu, keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid dapat menyebabkan terhambatnya transport ion  $Na^+$  dan  $K^+$ , sehingga pemasukan ion  $Na^+$  dan  $K^+$  menjadi tak terkendali dan membran sel pada *A. salina* pecah. Hal ini dikarenakan gugus -OH yang terdapat dalam senyawa fenolik dan flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel [23]. Sementara itu, keberadaan senyawa triterpenoid dan steroid menyebabkan kompetisi kolesterol pada *A. salina*, sehingga dapat menyebabkan tidak seimbang sistem metabolisme pada *A. salina* karena kurangnya penyerapan kolesterol di dalam usus [27].



**Gambar 2.** Kurva Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bintaro

Berdasarkan kurva regresi linier yang terdapat pada Gambar 2. didapatkan persamaan garis  $y = 17,48x - 15,297$  dengan nilai  $R^2 = 0,9516$ , sehingga dapat dihitung besarnya nilai  $IC_{50}$  dengan cara mensubstitusi nilai  $y = 50$  (nilai inhibisi 50% terhadap radikal DPPH) ke persamaan tersebut. Selanjutnya mengubah nilai  $x$  menjadi anti Ln  $x$ , sehingga didapatkan nilai

$IC_{50}$  dari ekstrak etanol daun bintaro sebesar 41,68 ppm dengan kategori sangat sangat kuat. Suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai  $IC_{50} < 50$  mg/L, kuat dengan nilai 50-100 mg/L, sedang dengan nilai 101-250 mg/L, lemah nilai berkisar 250-500 g/L dan tidak aktif apabila diatas 500 mg/L [28].

**Tabel 3.** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bintaro *C. manghas*

Konsentrasi (ppm)	Ln Konsentrasi	Inhibisi (%)	Persamaan Regresi	IC <sub>50</sub> (ppm)
20	3,00	39,5	$y = 17,48x - 15,297$	41,68
40	3,69	45,09		
60	4,09	55,81		
80	4,38	62,11		
100	4,61	66,59		

Pada dasarnya pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan pengukuran penangkapan radikal DPPH akibat adanya antioksidan yang mampu menetralkan molekul radikal bebas. Dengan demikian radikal DPPH yang tadinya berwarna ungu akan kehilangan warnanya jika terdapat antioksidan karena antioksidan tersebut akan menyumbangkan elektronnya kepada radikal DPPH, sehingga radikal yang tadinya tidak stabil (akibat adanya elektron yang tidak berpasangan) menjadi stabil (elektronnya) dalam radikal bebas menjadi berpasangan, karena menerima sumbangan elektron dari antioksidan [29].

Kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal DPPH dinyatakan sebagai persentase penangkapan radikal. Nilai yang lebih tinggi menunjukkan bahwa sampel senyawa yang digunakan memang memiliki potensi antioksidan. Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh dari plot hubungan antara konsentrasi dan persentase inhibisi penangkal radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan konsentrasi ekstrak. DPPH yang merupakan molekul radikal bebas berwarna ungu dapat menjadi senyawa kuning yang stabil jika bereaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan tersebut menyumbangkan satu elektron padanya. DPPH untuk mengurangi radikal bebas DPPH. Elektron tidak berpasangan pada DPPH memberikan serapan kuat dengan maksimum pada  $\lambda = 516$  nm dan berwarna ungu. Penanggulangan radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron yang tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil [30].

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro mengandung senyawa steroid, saponin, dan kuinon. Serta didapatkan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol daun bintaro (*C. manghas*) sebesar 41,68 ppm dengan kategori sangat kuat dan hasil uji toksitas didapatkan nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol daun bintaro (*C. manghas*) sebesar 30,44 ppm dengan kategori sangat toksik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala laboratorium dan laboran Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Biokimia, dan Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman atas segala bentuk bantuannya dalam melakukan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] B. P. Statistik, *Statistik Lingkungan Hidup Indonesia 2022*. Jakarta: Badan Pusat Statistik, 2022.
- [2] S. Sudarmono, "Biodiversity of Medicinal Plants at Sambas Botanical Garden, West Kalimantan, Indonesia," *J. Trop. Life Sci.*, vol. 8, no. 2, pp. 116–122, 2018, doi: 10.11594/jtls.08.02.04.
- [3] Erwin, "Potensi Tumbuhan Tropis Sebagai Sumber Bahan Baku Obat," *Orasi Ilm. Guru Besar Univ. Mulawarman*, 2023, [Online]. Available: [https://orasi.unmul.ac.id/file/ilmiah\\_guru/prof-dr-erwin-ssi-msi](https://orasi.unmul.ac.id/file/ilmiah_guru/prof-dr-erwin-ssi-msi)
- [4] I. W. Muderawan, "Keanekaragaman Molekul Senyawa Bahan Alam Tanaman Obat Indonesia Sebagai Bahan Baku Obat

- Herbal Moderen,” *Makalh Orasi Ilmish*, pp. 1–83, 2022.
- [5] A. R. Vramudya, “Laporan Pelaksanaan Kegiatan Pengabdian Kepada Masyarakat Dan Internal ISTN,” *Progr. Stud. Farm. Jakarta*, pp. 1–23, 2022.
- [6] F. Effendi, H. C. Himawan, and F. A. Syahidin, “FORMULASI SEDIAAN GEL ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BINTARO (Cerbera odollam Gaertn.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,” *J. Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, vol. 3, no. 1, pp. 43–52, 2018, doi: 10.47219/ath.v3i1.29.
- [7] Ahlan Sangkal, Rahmat Ismail, and Nurfatima S. Marasabessy, “Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Bintaro (*Cerbera manghas* L.) Dengan Pelarut Etanol 70%, Aseton dan n-Hexan,” *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 4, no. 1, pp. 71–81, 2020, doi: 10.57214/jusika.v4i1.179.
- [8] S. E. Putri, D. Dharmono, and R. Irianti, “Kajian Etnobotani *Cerbera manghas* (Bintaro) Pada Masyarakat Dayak Bakumpai Desa Bagus Kabupaten Barito Kuala Sebagai Buku Ilmiah Populer,” *JUPEIS J. Pendidik. dan Ilmu Sos.*, vol. 1, no. 4, pp. 139–152, 2022, doi: 10.57218/jupeis.voll.iss4.376.
- [9] Erwin, A. Noor, N. H. Soekamto, and T. Harlim, “Skrining Bioaktivitas Beberapa Bagian Jaringan Tumbuhan Paliasa (*Melochia umbellata* (Hout) Stapf var. *Degrabrata* K),” *Indones. Chim. Acta*, vol. 2, no. 1, pp. 22–30, 2009, [Online]. Available: <http://journal.unhas.ac.id/index.php/ica/article/view/974>
- [10] I. Mawaddah, Erwin, and C. Saleh, “Skrining Fitokimia, Uji Toksisitas dan Uji Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Daun Gelinggang (*Cassia alata* L),” *KOVALEN J. Ris. Kim.*, vol. 6, no. 1, pp. 61–66, 2020, doi: 10.22487/kovalen.2020.v6.i1.15045.
- [11] I. Febrianti, Erwin, and S. P. Pasaribu, “Skrining Fitokimia Dan Bioaktivitas Ekstrak Daun, Batang Dan Kulit Batang Tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*),” *Pros. Semin. Nas. Kim.*, pp. 90–93, 2021.
- [12] M. Wati, Erwin, and D. Tarigan, “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifilium* Walp.),” *J. Kim. Mulawarman*, vol. 14, no. 2, pp. 100–107, 2017.
- [13] M. W. R. Miftahussanadi, E. Erwin, and I. W. Kusuma, “Skrining Fitokimia dan Toksisitas dari Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl),” *ULIN J. Hutan Trop.*, vol. 5, no. 1, p. 28, 2021, doi: 10.32522/ujht.v5i1.5048.
- [14] E. Erwin, D. Nuryadi, and U. Usman, “Skrining Fitokimia dan Bioaktivitas Tumbuhan Bakau Api-Api Putih (*Avicennia alba* Blume),” *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 2, no. 4, pp. 311–315, 2020, doi: 10.25026/jsk.v2i4.152.
- [15] N. Tasmin, Erwin, and I. W. Kusuma, “Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* blanco),” *J. Kim. Mulawarman*, vol. 12, no. 1, pp. 45–53, 2014.
- [16] S. Maulina, D. R. Pratiwi, and Erwin, “Skrining fitokimia dan bioaktivitas ekstrak akar *Uncaria nervosa* Elmer (bajakah),” *J. At.*, vol. 4, no. 2, pp. 100–102, 2019, [Online]. Available: <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JA/article/download/902/556>
- [17] E. Erwin, W. R. Pusparohmana, I. P. Sari, R. Hairani, and U. Usman, “GC-MS profiling and DPPH radical scavenging activity of the bark of Tampo ( *Baccaurea macrocarpa*),” *F1000Research*, vol. 7, p. 1977, 2019, doi: 10.12688/f1000research.16643.2.
- [18] Erwin, W. R. Pusparohmana, R. D. Safitry, E. Marlina, Usman, and I. W. Kusuma, “Isolation and characterization of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol from wood bark extract of *baccaurea macrocarpa* miq. Mull. arg,” *Rasayan J. Chem.*, vol. 13, no. 4, pp. 2552–2558, 2020, doi: 10.31788/RJC.2020.1345652.
- [19] A. Karolina, D. R. Pratiwi, and E. Erwin, “Uji Fitokimia Dan Toksisitas Ekstrak Merung (*Coptosapelta tomentosa* (Blume),” *J. At.*, vol. 03, no. 2, pp. 79–82,

- 2018.
- [20] I. Sulistiawati, C. Saleh, E. Jurusan Kimia, F. Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, U. Mulawarman Jalan Barong Tongkok No, and K. Gunung Kelua, "Phytochemical Screening And Antioxidant Activity Test Using DPPH Method Of Kluwih Seed (Artocarpus camansi Blanco)," *J. At.*, vol. 06, no. 1, pp. 1–5, 2021.
- [21] R. Manik, Erwin, and Alimuddin, "Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Rambai (Baccaurea motlyeana Mull.Arg.)," *J. At.*, vol. 4, no. 1, pp. 50–55, 2019.
- [22] J. B. Harborne, *Phytochemical Methods A guide to modern techniques of plant analysis*, Third Edit., no. 3. London: Chapman & Hall, 1998. doi: 10.1007/978-94-009-5921-7\_1.
- [23] Nurbaiti and noveri rahmawati, "Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (Uncaria Cordata) (Lour.) Meer Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)," *J. Kesehat. As-Shiha*, pp. 157–166, 2022.
- [24] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, and J. L. McLaughlin, "Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents," *Planta Med.*, vol. 45, no. 1, pp. 31–34, 1982, doi: 10.1055/s-2007-971236.
- [25] Y. Arsindho, E. Erwin, and I. W. Kusuma, "Uji Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Kayu Terap (Artocarpus odoratissimus Blanco.) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)," in *PROSIDING SEMINAR NASIONAL KIMIA; SEMINAR NASIONAL KIMIA 2017*, Dec. 2017, pp. 137–142. [Online]. Available: <https://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/prosiding/article/view/562>
- [26] D. Sukandar, S. Hermanto, and E. Lestari, "Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)," *J. Kim. Val.*, vol. 1, no. 2, pp. 63–70, 2008, doi: 10.15408/jkv.v1i2.217.
- [27] B. S. Rio, S. Wulandari, and B. E. Programme, "Toxicity Test Of Rengas ( Gluta rengas ) Bark Extract To Shrimp Larvae Of Artemia salina For The Developing Of Learning Modules On The Concept Of Enviromental Balance Of Class XSenior High School," *J. Biog.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–12, 2015.
- [28] R. Wulandari, dan Pramono Putro Utomo, main contributor, corresponding author, and B. Riset dan Standardisasi Industri Pontianak JI Budi Utomo No, "Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Teh Herbal Daun Buas-Buas (Premna Cordifolia Roxb.) Screening and Antioxidant Activity of Buas-Buas Leaves Herbal Tea (Premna Cordifolia Roxb.)," pp. 117–122, 2019.
- [29] M. L. Puspitasari, T. V. Wulansari, T. D. Widyaningsih, and J. Mahar, "Antioxidant Activity Herbal Supplements of Soursop Leaf (Annona muricata L.) and Pericarp of Mangosteen (Garcinia mangostana L.): A Review," *Pangan Dan Agroindustri*, vol. 4, no. 1, pp. 283–290, 2016.
- [30] I. N. Sastrawan, M. Sangi, and V. Kamu, "Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (Foeniculum vulgare) Menggunakan Metode DPPH," *J. Ilm. Sains*, vol. 13, no. 2, p. 110, 2013, doi: 10.35799/jis.13.2.2013.3054.