

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENENTUAN TOTAL
KANDUNGAN FENOLIK EKSTRAK ETANOL DAUN NANAMUHA
(*Bridelia monoica* Merr)**

Julia Elsa Lakoro¹⁾, Max R. J. Runtuwene¹⁾, Paulina V.Y. Yamlean¹⁾
Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Nanamuha (Bridelia monoica Merr.) is a plant that was used as a cancer and tumor drug by the Sangihe Islands community. This plant contains phenol compounds, flavonoids, alkaloids and tannins. The purpose of this study was to determine the potential of nanamuha leaves that grow in the Sangihe Island to have antioxidant activity and determine the total phenolic ethanol extracts of nanamuha leaf. The extraction method used is maceration with ethanol solvent p.a. The extracts obtained was determined total phenolic and antioxidant activity test using DPPH method. Based on the results obtained, the ethanol extracts of nanamuha leaves has antioxidant activity with an IC₅₀ value of 75,03 µg / mL and the result showed that the total phenol content the ethanol extracts of nanamuha leaves of 53,34 mg / L.

Keywords : *Nanamuha leaf, total phenol, antioxidant activity, DPPH*

ABSTRAK

Nanamuha (*Bridelia monoica* Merr.) merupakan tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat kanker dan tumor oleh masyarakat Kepulauan Sangihe. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid, alkaloid dan tanin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dari daun nanamuha yang tumbuh di Kepulauan Sangihe ini memiliki aktivitas antioksidan dan menentukan total fenolik dari ekstrak etanol daun nanamuha. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol p.a. Ekstrak yang diperoleh ditentukan total fenolik dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Berdasarkan hasil yang didapatkan ekstrak etanol daun nanamuha memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 75,03 µg/mL dan hasil penelitian menunjukkan total kandungan fenolik ekstrak etanol daun nanamuha sebesar 53,34 mg/L.

Kata kunci : Daun Nanamuha, Total fenol, Aktivitas antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berguna untuk menjaga daya tahan tubuh dari serangan penyakit. Salah satu penyebab terjadinya penyakit dalam tubuh adalah radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas juga dijumpai pada lingkungan seperti pada logam (contohnya besi dan tembaga), asap rokok, obat, makanan dalam kemasan, dan lain lain (Droge, 2002).

Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas baru melalui reaksi berantai yang akhirnya jumlahnya terus bertambah dan menyerang sel-sel tubuh (Rohdiana, 2001). Dalam melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, diperlukan suatu bahan baku obat tradisional dari luar tubuh yang berfungsi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Windono *et al*, 2001).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan untuk menetralsi radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan dapat diperoleh dari makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E dan beta karoten serta senyawa fenolik. Antioksidan dari tumbuhan bekerja menghalangi kerusakan oksidatif dengan membentuk kelat dengan senyawa logam

katalik, dan menangkap oksigen (Najoan *et al.*, 2016).

Secara turun temurun masyarakat Indonesia telah menggunakan obat tradisional sebagai salah satu upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan jauh sebelum layanan kesehatan formal dengan obat-obatan modernnya menyentuh masyarakat. Pengetahuan mengenai tumbuhan obat memiliki karakteristik berbeda-beda pada suatu wilayah. Pengetahuan tersebut biasanya merupakan warisan turun-temurun hanya sebagian kecil masyarakat yang mengetahui jenis-jenis tumbuhan obat. Masyarakat khususnya yang bermukim disekitar kawasan hutan seringkali menggunakan tumbuhan alam untuk pengobatan tradisional. Daun Nanamuha merupakan salah satu tanaman berkhasiat obat yang dimanfaatkan sebagai obat kanker dan tumor oleh masyarakat Kepulauan Sangihe khususnya kampung Sensong Tabukan tengah. Menurut Rumouw (2015), daun Nanamuha (*Bridelia Monoica* Merr) mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid dan tanin. Senyawa-senyawa aktif tersebut memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antioksidan dan penentuan total kandungan fenolik ekstrak etanol daun Nanamuha (*Bridelia Monoica* Merr) yang di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan

Oktober 2018 sampai bulan Desember 2019 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah Ayakan *mesh* 65, gelas arloji, Timbangan analitik (AE Adam) blender (Philips), Tabung reaksi (Pyrex), Rak tabung, Pipet tetes, Mikropipet 1000 μL (SHCHEER), cawan petri (Pyrex), Mikropipet 200 μL (SHCHEER), Gelas Piala (Iwaki), Gelas Ukur (Pyrex), Labu Takar (Iwaki), Erlenmeyer (Pyrex), Batang pengaduk, Spatula, Corong, *Vacum rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), vortex, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah Daun Nanamuha, Etanol p.a, Reagen Folin-Ciocalteu, DPPH, Natrium karbonat 2%, Asam Galat, Aquadest, N-Heksan.

Pengambilan Sampel

Sampel daun Nanamuha diambil di Kabupaten Kepulauan Sangihe, di desa Sensong kecamatan Tabukan Tengah. Bagian yang digunakan ialah daun. Sampel yang diambil dibawa ke laboratorium untuk dibersihkan dari kotoran dan serangga dengan air mengalir.

Preparasi Sampel

Sampel daun Nanamuha (*Bridelia monoica* Merr) dikering anginkan selama \pm 2 hari. Setelah itu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C hingga benar-benar kering. Setelah kering sampel di blender hingga berbentuk serbuk lalu diayak dengan ayakan *mesh* 65.

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 150 gram serbuk daun nanamuha dimaserasi dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:5 selama 3 kali 24 jam sesekali sambil diaduk. Hasil ekstraksi kemudian di saring untuk mendapatkan filtrat. Selanjutnya dilakukan remaserasi 1 kali selama 2 hari. Kemudian filtrat yang diperoleh setiap pergantian larutan di gabungkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga mendapatkan ekstrak kental dari daun Nanamuha.

Penentuan Total Kandungan Fenolik

Kandungan total fenolik ekstrak etanol daun Nanamuha (*Bridelia Monoica*. Merr) ditentukan dengan metode Folin Ciocalteu. Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 25%. Kemudian di vortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 2%. Selanjutnya, campuran diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 750 nm menggunakan spektrometer UV-Vis. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun Nanamuha (*Bridelia monoica* Merr) ditentukan dengan metode Molyneux (2004), yakni larutan stok ekstrak etanol daun Nanamuha (*Bridelia Monoica Merr*) dibuat konsentrasi 1000 µg/mL dengan cara sebanyak 10 mg ekstrak etanol daun Nanamuha (*Bridelia Monoica Merr*). Kemudian, dimasukkan ke dalam 10 mL pelarutnya. Ekstrak etanol daun Nanamuha (*Bridelia Monoica Merr*) dibuat dalam beberapa konsentrasi, yaitu 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20µg/mL, 25µg/mL. Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM. Larutan sampel yang telah dibuat, diencerkan dengan berbagai variasi konsentrasi dengan total volume 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji. Selanjutnya, ke dalam tabung reaksi larutan uji ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah 30 menit, diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dari setiap variasi konsentrasi dicatat dan dihitung % *scaveingnya* dan nilai IC₅₀. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali.

Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan % *inhibisi* dinyatakan dengan persamaan berikut :

$$\% \textit{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansikontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode maserasi. Digunakan metode maserasi karena memiliki keunggulan yaitu cara pengerjaan yang cepat, peralatan yang digunakan sederhana, relatif mudah dan murah. Selain itu, pemilihan metode ekstraksi secara maserasi yaitu dengan melihat dari sifat zat aktif flavonoid yang akan ditarik yang tidak tahan akan panas (Gandjar dan Abdul, 2008).

Pada proses maserasi serbuk simplisia sebanyak 150 gram, dilarutkan dalam 750 ml heksan. Maserasi dilakukan 3 kali 24 jam kemudian disaring, didapat filtrate pertama, selanjutnya untuk filtrate pertama di destilasi uap lalu rendam lagi ditambah 300 ml hexane selama 2 hari. Dilakukan hal yang sama hingga diperoleh filtrate ke 6 sampai kandungan klorofil pada ekstrak terlihat berkurang. Selanjutnya ekstrak direndam dengan etanol 800 ml selama 2 hari. Kemudian disaring dan di evaporasi, lalu dimasukkan ke dalam oven 40°C tujuannya agar tidak merusak senyawa yang terkandung dalam ekstrak hingga diperoleh massa konstan yang disebut ekstrak kental.

Total Kandungan Fenolik

Kandungan total fenolik ekstrak etanol daun Nanamuha, ditentukan dengan metode Folin Ciocalteu. Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Kemudian di vortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 2%. Selanjutnya, campuran diinkubasi selama 30 menit. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak. Hasil pengujian disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Total Kandungan fenolik (mg/g)

Absorbansi	Fenolik	Rata-rata
0,328	38,54	
0,430	51,79	53,34
0,568	69,71	

Hasil pengujian total kandungan fenolik pada tabel di atas, ekstrak daun Nanamuha diketahui positif mengandung senyawa fenolik. Tingginya kandungan fenol yang terekstraksi dikarenakan pengaruh pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Pelarut seperti methanol dan etanol merupakan pelarut yang sangat luas digunakan dan efektif untuk ekstraksi

komponen-komponen fenolik dari bahan alam (Katja dan Suryanto, 2009).

Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun Nanamuha menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengujian disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	Inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak Etanol	5	0,502	19,90	75,03
	10	0,481	22,48	
	15	0,476	23,09	
	20	0,447	26,65	
	25	0,431	28,61	

Hasil tabel hasil pengujian, menunjukkan bahwa ekstrak terhadap DPPH memiliki nilai IC_{50} yaitu 75,03 $\mu\text{g/mL}$. Diketahui bahwa ekstrak etanol mengandung empat senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Menurut Molyneux (2004), aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas

antioksidannya sangat kuat, nilai IC_{50} berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC_{50} berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya sedang, nilai IC_{50} berada diantara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah, sedangkan apabila nilai IC_{50} berada di atas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Nanamuha merupakan antioksidan dengan aktivitas kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Nanamuha memiliki kandungan total fenolik sebesar 53,34 mg/L dan ekstrak etanol daun Nanamuha memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 75,03 μ g/mL.

SARAN

Dengan hasil penelitian yang didapatkan, sebaiknya dilakukan pengujian lain seperti uji Antimikroba

DAFTAR PUSTAKA

Abdelhady, M.I.S., Motaal, A.A., dan Beerhues, L. 2011. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Standardized Extracts from Leaves and Cell Cultures of Three *Callistemon* Species. *American Journal of Plant Sciences*. **2(6)** : 847-850

Andayani, R., Lisawati, Y., Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat

(*Solamun lycopersium L.*) *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. **13**:3-4

Blois, MS. 2005. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature.USA*.**181**: 1191-1200.

Burda, Oleszek, W. 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **49**: 2774-2779

Droge, W. 2002. Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev*. **82**: 47-95

Harborne, J. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Katja, D.G. dan Suryanto, 2009. Efek Penstabil Oksigen Singlet Ekstrak Pewarna dari Daun Bayam Terhadap Fotooksidasi Asam Linoleat, Protein, dan Asam Askorbat. *Chem. Prog* **2**: 27-33

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal science of Technology*. **26(2)**:211-219.

Rumouw, Djemrie. 2015. Identifikasi dan Analisis Kandungan Fitokimia Tumbuhan Alam Berkhasiat Obat yang Dimanfaatkan Masyarakat Sekitar Kawasan hutan Lindung Sahendaruman. *Journal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. **4(2)**:53-66.

Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara. Surabaya.