

	<p>EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DAN UJI ANTIOKSIDAN DARI DAUN MEDANG PERAWAS (<i>Litsea Odorifera val</i>) DENGAN METODE 1,1-DIPHENYL 2-PICRYLHIDRAZYL (DPPH)</p> <p>I Nyoman Candra^{1*}, Theo Kuntara²AgusSundaryono³ ^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Bengkulu *E-mail :inyomancandra2015@gmail.com</p>					
						

ABSTRACT

*Litseaodorifera*val.(MedangPerawas) is well recognized in Muko-Mukoregency, Bengkulu Province and used as construction material. In Serawai and Lembak Ethnic groups, it is traditionally used as medication for mouth sprue, stomachache, and boil as well as used for inducing lactation. This research aims to extract secondary metabolite compound group contained in *Litseaodorifera* val. leaf and to examine its antioxidant activity potency against 1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl (DPPH). A Fresh leaves from *Litseaodorifera* val. collected from Tahura Forest, Central Bengkulu area were separated into two parts: one run into chemical screening and the second was used for extraction experiment using ethanol, ethyl acetate, hexane and acetone. Secondary metabolite compound groups contained in those extracts were tested for antioxidant activity potency. The results showed that the extract of *Litseaodorifera* val. leaf contained compound group of flavonoid, saponin, tannin, phenolic and terpenoid. The extract of *Litseaodorifera* val. Leaf crude extract, ethyl acetate, acetone, ethanol and hexane can reduce free radical of DPPH with IC₅₀ of 250.7; 66.7; 69.7; 100.3 and 181.9 ppm respectively. Those are higher compared to vitamin C whose IC₅₀ was 28.3 ppm. The extract of *Litseaodorifera* val. leaf has potency as antioxidant activity that can be developed through further research.

Keywords: *Litseaodorifera* val., antioxidant, DPPH, secondary metabolite

ABSTRAK

Tanaman *Litsea odorifera* val (Medang Perawas) sangat terkenal di Kabupaten Muko-Muko, Propinsi Bengkulu dan digunakan sebagai bahan bangunan. Di kalangan Suku Serawai dan Lembak di Bengkulu, tanaman ini sering digunakan untuk mengobati sariawan, sakit perut, bisul dan juga untuk meningkatkan air susu ibu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengekstrak golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun Medang Perawas dan menguji kemampuannya sebagai antioksidan menggunakan metode 1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl (DPPH). Daun Medang Perawas yang segar yang diambil dari Kabupaten Bengkulu Tengah dipisahkan menjadi dua bagian: bagian pertama di gunakan uji skrining fitokimia, sedangkan bagian kedua dikeringkan pada suhu ruang dan kemudian diekstrak dengan menggunakan etanol, etilasetat, heksana dan aseton. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antioksidannya menggunakan DPPH. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun Medang Perawas mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin, tannin, fenolik dan terpenoid. Ekstrak kasar daun Medang Perawas pada fraksi etilasetat, aseton, etanol dan heksana terbukti dapat menurunkan jumlah radikal bebas dengan nilai IC₅₀ berturut turut adalah: 250,7; 66,7; 69,7; 100,3 and 181,9 ppm. Nilai IC₅₀ tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan IC₅₀ dari vitamin C yaitu 28,3 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak dari daun Medang Perawas memiliki potensi untuk digunakan sebagai antioksidan dan dapat dikembangkan lebih lanjut.

Kata kunci: *MedangPerawas*, antioksidan, DPPH, metabolitsekunder

PENDAHULUAN

Penggunaan senyawa antioksidan semakin pesat dengan semakin masifnya perkembangan ilmu pengetahuan serta bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas yang dikaitkan dengan berbagai macam penyakit degenerative, seperti kanker[1].

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat meredam radikal bebas karena dapat menyumbangkan satu buah electron kepada

radikal bebas yang memiliki satu elektron yang tidak berpasangan [2].

Sesuai dengan asalnya, antioksidan dapat dibedakan kedalam antioksidan alami, dan antioksidan buatan (sintesis). Antioksidan alami banyak tersebar di dalam makanan dan tanaman obat yang umumnya merupakan senyawa kelompok polifenol dan karoten, terbukti memperlihatkan berbagai macam efek biologi yang meliputi anti peradangan, anti penuaan, anti-aterosklerosis dan anti kanker[3].

Indonesia memiliki kekayaan alam yang sangat melimpah, termasuk kekayaan akan berbagai jenis tanaman obat yang telah banyak digunakan masyarakat berupa obat herbal yang berasal dari tanaman sebagai alternative dari obat sintesis. Penggunaan obat herbal ini memiliki keunggulan yaitu harganya yang relatif murah dan memiliki efek samping yang rendah .

Tanaman Medang Perawas (*Litsea odorifera* val) merupakan tanaman lokal dari Kabupaten Muko-Muko, Propinsi Bengkulu yang umumnya diambil kayunya sebagai bahan bangunan. Di kalangan Suku Lembak dan Serawai di Bengkulu , tanaman ini banyak dipakai dalam pengobatan beberapa jenis penyakit seperti sariawan, sakit perut dan bisul bahkan juga digunakan untuk meningkatkan air susu ibu (ASI). Hasil penelitian Fanyda dkk membuktikan bahwa ekstrak daun Medang Perawas dapat menaikkan pH lambung dan menurunkan tukak lambung sampai dengan 88,89% [4].

Hingga saat ini masih sedikit sekali informasi yang dapat diperoleh tentang tanaman ini terutama tentang senyawa kimia yang terkandung didalamnya khususnya kandungan dari senyawa antioksidan karena tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari daun tanaman Medang Perawas dan menguji aktivitas antioksidannya.

METODE PENELITIAN

1. Persiapan Sampel Untuk Ekstraksi

Sampel tumbuhan Medang Perawas diambil dari hutan Tahura Bengkulu Tengah. Daun Medang Perawas yang telah dipilih dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa cahaya matahari langsung yang bertujuan agar kadar air yang ada pada daun berkurang sehingga memudahkan pada saat ekstraksi serta senyawa yang terkandung tidak mengalami kerusakan.

Selanjutnya daun Medang Perawas diiris-iris dan kemudian digiling dengan mesin blender sehingga menjadi bubuk.

2. Ekstraksi Daun Medang Perawas

Ekstraksi komponen aktif daun Medang Perawas dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi. Ditimbang sebanyak 600 gram serbuk daun Medang Perawas dan diekstraksi secara maserasi dengan 10 liter pelarut etanol yang telah didestilasi terlebih dahulu.

Secara terpisah, ekstraksi juga dilakukan dengan pelarut aseton terhadap 200 gram Medang Perawas dan volume aseton (p.a) 400 mL.

Setelah direndam dengan masing-masing pelarut, dilakukan pengocokan secara berkala selama 10 hari, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama. Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat.

Ekstrak etanol pekat yang diperoleh selanjutnya di ekstraksi secara metode fasa cair-cair menggunakan corong pisah dengan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda yaitu berturut-turut diawali dengan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1:1 dan dilanjutkan dengan pelarut etilasetat dengan perbandingan 1:2.

Fraksidari masing-masing pelarut hasil ekstraksi cair-cair yang diperoleh, selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan hotplate dan dibuat menjadi beberapa konsentrasi.

Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya diuji fitokimia yaitu terhadap fraksi n-heksana etilasetat, etanol dan aseton untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Uji fitokimia juga dilakukan sama untuk ekstrak kasar dari daun segar sebelum fraksinasi..

3. Uji Fitokimia Daun Medang Perawas

(*Litsea odorifera* val.)

Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid ,alkaloid, saponin , tannin, steroid , terpenoid dan uji fenolik .

4. Pengukuran Absorbansi Peredaman Radikal Bebas DPPH

a. Pembuatan Sampel

Diambil masing-masing 10 mg ekstrak kasar Medang Perawas hasil ekstraksi bertingkat dan dilarutkan kedalam 10 ml methanol untuk

mendapatkan konsentrasi 150 ppm. Kemudian larutan methanol yang diperoleh diencerkan sehingga diperoleh 5 konsentrasi masing-masing yaitu 10, 25, 50, 100, dan 200 ppm.

b. Pembuatan Larutan Perbandingan

Antioksidan perbandingan yang digunakan yaitu antioksidan alami yaitu vitamin C yang dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 5 mg vitamin C kedalam 10 mL metanol, kemudian diencerkan sehingga diperoleh 5 konsentrasi masing-masing yaitu 1, 2, 5, 10, dan 16 ppm.

c. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dengan konsentrasi 150 ppm diperoleh dengan cara melarutkan sebanyak 15 mg kristal DPPH kedalam 10 mL pelarut methanol yang dilakukan dalam kondisi suhu rendah serta terlindung dari cahaya matahari.

d. Uji Antioksidan Dengan DPPH

Larutan ekstrak dan larutan antioksidan perbandingan yang telah dibuat dilakukan dengan masing-masing 3 kali ulangan. Diambil 1 mL sampel dan direaksikan dengan 1 mL larutan DPPH 150 ppm dan ditambahkan 2 mL etanol kedalam tabung reaksi yang berbeda dan telah diberi label penanda campuran tersebut. Kemudian larutan campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm.

Absorbansi dari larutan blanko juga diukur untuk melakukan perhitungan persen inhibisi. Larutan blanko dibuat dengan cara mereaksikan 3 mL pelarut methanol dengan 1 mL larutan DPPH 150 ppm dalam tabung reaksi. Larutan blanko ini dibuat hanya untuk satu kali ulangan saja.

Pengujian kualitatif dari metode DPPH dilakukan dengan melihat warna larutan sampel setelah dicampurkan dengan larutan DPPH [5]. Terjadinya perubahan warna ungu pada larutan DPPH yang dicampurkan menjadi berwarna ungu muda atau warna kuning menandakan adanya aktivitas antioksidan pada larutan ekstrak Medang Perawas tersebut.

e. Analisis Data

Persen inhibisi (%) dapat dihitung dengan menggunakan persamaan dari nilai hasil absorbansi yang diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}}$$

Nilai IC₅₀ sampel ditentukan dari kurva persen inhibisi vs konsentrasi sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Uji Fitokimia Daun Segar Medang Perawas dan Ekstrak Kasar

Uji kualitatif kandungan golongan senyawa metabolit sekunder pada daun segar Medang Perawas dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 tersebut terlihat bahwa kandungan golongan senyawa metabolit sekunder pada daun segar Medang Perawas adalah flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan fenolik.

Tabel 1: Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Medang Perawas Segar

Golongan senyawa Metabolit sekunder	Hasil pengujian
Flavonoid	+
Alkaloid	-
Saponin	+
Tanin	+
Steroid	-
Terpenoid	+
Fenolik	+

Keterangan: +: terdeteksi; - : tidak terdeteksi

Uji fitokimia untuk ekstrak kasar (ekstrak etanol) juga menunjukkan hasil yang sama seperti pada ekstrak daun segar yang menunjukkan bahwa tidak terjadi kerusakan yang berarti pada saat berlangsungnya proses ekstraksi. (Tabel 2)

b. Uji Fitokimia Dari Fraksi Ekstrak Daun Medang Perawas

Uji kandungan golongan senyawa metabolit sekunder pada daun Medang Perawas pada fraksi n-heksana, aseton, etilasetat dan etanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2: Hasil Uji Fitokimia Fraksi Ekstrak Daun Medang Perawas

Fraksi	Uji			
	alkaloid	flavonoid	tanin	saponin
Heksana	-	-	-	-
Aseton	-	+	+	+
Etilasetat	-	+	+	-
Etanol	-	+	+	-
Fraksi	Uji			
	steroid	terpenoid	fenolik	
Heksana	+	-	-	
Aseton	+	-	+	
Etilasetat	-	+	+	
Etanol	-	+	+	

Keterangan: + : terdeteksi; - : tidak terdeteksi

Dari Tabel 2 terlihat bahwa flavonoid, tannin dan fenolik dapat larut pada hampir semua pelarut, kecuali pada heksana yang bersifat non polar. Etanol memiliki tingkat kepolaran yang tertinggi dibandingkan etilasetat, aseton dan heksana serta Etilasetat dan aseton memiliki kepolaran yang hamper sama.

Etanol merupakan pelarut yang baik untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar seperti fenolik dan flavonoid[6].

c. Uji Peredaman Radikal Bebas

Aktivitas suatu antioksidan dapat ditentukan dari kemampuannya dalam meredam radikal bebas[7]. Hasil uji dari ekstrak daun Medang Perawas pada fraksi etanol, etilasetat, aseton dan heksana untuk meredam radikal bebas dilakukan dengan menggunakan larutan DPPH.

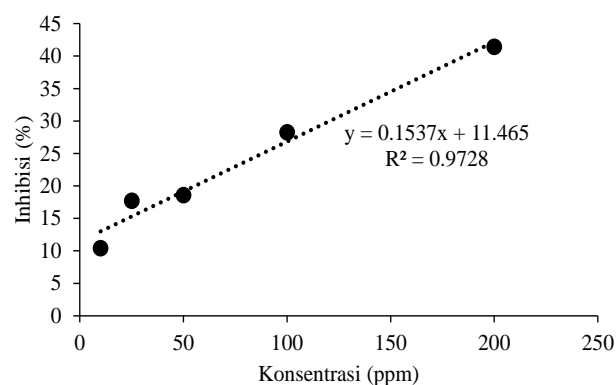
Hasil uji peredaman radikal bebas ekstrak kasar dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3: Uji Peredaman Radikal Bebas Dari Ekstrak Kasar**Tabel 4: Hasil Uji Peredaman Radikal Bebas Dari Ekstrak Hasil Fraksinasi dan Vitamin C**

Sampel/fraksi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Inhibisi (%)	IC ₅₀
Heksana	Blanko	0,806	-	181,9 ppm
	10	0,726	9,2	
	25	0,679	15,8	
	50	0,674	16,4	

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Inhibisi (%)	IC ₅₀
Blanko	0,806	-	250,7 ppm
10	0,722	10,42	
25	0,663	17,74	
50	0,656	18,61	
100	0,578	28,28	
200	0,472	41,43	

Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun Medang Perawas dinyatakan dalam IC₅₀ yang menyatakan besarnya konsentrasi sampel yang diperlukan untuk dapat melakukan penghambatan sebesar 50% [8]. Nilai IC₅₀ dihitung dengan memasukan inhibisi 50% kedalam persamaan linier dari kurva inhibisi vs konsentrasi ekstrak kasar (Gambar 1).

**Gambar 1: Regresi Linier Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar**

Diperoleh nilai IC₅₀ untuk ekstrak kasar sebesar 250,7 ppm yang mengindikasikan kurang efektifnya sampel ekstrak kasar dalam mengurangi radikal bebas[9]. Hal ini diduga akibat adanya pengaruh antagonis antara golongan senyawa dalam ekstrak, karena golongan senyawa-senyawa tersebut masih belum terpisahkan [10].

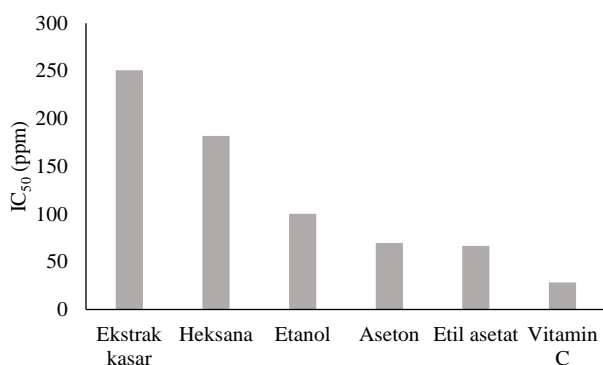
Hasil uji peredaman radikal bebas untuk fraksi heksana, aseton, etilasetat, etanol, dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4.

	100	0,497	38,3	
	200	0,39	51,6	
	Blanko	0,595		
Aseton	10	0,532	10,59	
	25	0,387	34,96	
	50	0,326	45,21	69,7 ppm
	100	0,099	83,36	
	200	0,058	90,25	
	Blanko	0,806	-	
Etilasetat	10	0,526	34,7	
	25	0,502	37,7	
	50	0,413	48,8	66,7 ppm
	100	0,396	50,9	
	200	0,054	93,3	
	Blanko	0,595	-	
Etanol	10	0,581	2,35	
	25	0,432	27,4	
	50	0,391	34,3	100,3 ppm
	100	0,306	48,6	
	200	0,061	89,7	
	Blanko	0,609	-	
Vitamin C	1	0,589	3,28	
	2	0,587	3,61	
	5	0,58	4,76	28,3 ppm
	10	0,51	16,26	
	16	0,43	29,39	

Dari Tabel 4 terlihat bahwa aktivitas antioksidan dari fraksi heksana adalah memperlihatkan aktivitas antioksidan yang terendah yang diduga karena fraksi heksana hanya mengandung golongan steroid (Tabel 2).

Di antara fraksi-fraksi tersebut, fraksi etilasetat dan aseton memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dari aktivitas antioksidan fraksi Etanol.

Hal ini diduga seperti halnya ekstrak kasar yang merupakan ekstrak induk etanol, kemungkinan didalam fraksi etanol hasil fraksinasi mengandung lebih banyak jenis golongan senyawa metabolit sekunder yang dapat saling meniadakan (antagonis).



Gambar 2: Nilai IC₅₀ Dari Ekstrak Daun Medang Perawas dan Vitamin C

Dari Gambar 2 terlihat bahwa, vitamin C masih memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan seluruh ekstrak daun Medang Perawas. Karena itu perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai pengaruh antagonis dari golongan senyawa dalam daun Medang Perawas sehingga diperoleh fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan yang maksimal.

KESIMPULAN

- Ekstrak segar dan ekstrak kasar daun Medang Perawas mengandung golongan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, tannin, fenolik dan terpenoid.
- Ekstrak daun Medang Perawas menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dari aktivitas peredaman radikal bebas yang dilakukan oleh ekstrak terhadap senyawa DPPH.
- Ekstrak daun Medang Perawas pada fraksi etilasetat dan aseton memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak fraksi lainnya.
- Meskipun memperlihatkan aktivitas antioksidan, ekstrak daun Medang Perawas memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibanding antioksidan vitamin C, yang terlihat dari nilai IC₅₀ dari vitamin C yang lebih rendah (28,3 ppm).

SARAN

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat pada daun Medang Perawas.
- Efek sinergisitas dan antagonisitas dari golongan senyawa metabolit sekunder di dalam daun Medang Perawas perlu diteliti lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Yuan, X., Wang, L., Hu, M., Zhang, L., Chen, H., Zhang, D., ... Tan, W. Oxygen Vacancy-Driven Reversible Free Radical Catalysis for Environment-Adaptive Cancer Chemodynamic Therapy. *Angewandte Chemie International Edition*. 2021: 60(38): 20943–20951.
- [2] Dizdaroglu, M., and Jaruga, P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research*. 2012:46(4): 382–419.
- [3] Baby, B., Antony, P., & Vijayan, R. Antioxidant and anticancer properties of berries. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–17.
- [4] Fannyda, R., Sundaryono, A., dan Handayani, D. Pengaruh ekstrak daun Medang Perawas (*Litseaodorifera* val.) terhadap tukak lambung *Mus Musculus* dan karakterisasi gugus fungsi dengan spektroskopi FTIR. 2014. <http://repository.unib.ac.id/id/eprint/8618>
- [5] Warsi and A R Sholichah. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction from basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) by DPPH radical scavenging method. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2017: **259**: 012008
- [6] Truong , D.H., Nguyen, D.H., Ta, N.T.A., Bui, A.V., Do, T.H., & Nguyen, H.C. 2019. Evaluation of the Use of Different Solvents for Phytochemical Constituents, Antioxidants, and In Vitro Anti-Inflammatory Activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*. 2019: 8178294
- [7] Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., ... Kim, S. K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*. 2002:163(6):1161–168.
- [8] Chandrabose, S., Kumar, T.S., Konda, R.K., Kumar, S.S. Tool development for Prediction of pIC50 values from the IC50 values - A pIC50 value calculator. *Indian Journal*. 2011:5(2): 1104-1109.
- [9] Balboa, E. M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E., & Domínguez, H. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*. 2013: 138(2-3): 1764–1785.
- [10] Heni, Savante Arreneuz dan Titin Anita Zahara, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2015 4(1); 84-90

Penulisan Sitasi Artikel ini adalah Candra, I.N., Theo Kuntara dan Agus Sundaryono, Ekstraksi Metabolit Sekunder Dan Uji Antioksidan Dari Daun Medang Perawas (*LitseaOdoriferaval*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl 2-Picrylhidrazyl (DPPH), *Alotrop*, 2022, 6(1): 87-92.