

Ekstrak Etanol Bunga Kertas (*Bougainvillea*) Pink Sebagai Anti Oksidan Dengan Menggunakan Metode DPPH

Devi Haveni¹, Mastura², Ratih Permana Sari³

^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia, FKIP Universitas Samudra

Jln. Kampus Meurandeh, Langsa 24416

E-mail: devihaveny@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak etanol bunga kertas dan mengetahui aktivitas ekstrak etanol bunga kertas sebagai antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Ekstrak etanol diperoleh melalui metode maserasi. Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Ekstrak etanol bunga kertas memiliki kandungan metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan fenol. Hasil uji aktivitas antioksidan yang dilakukan menunjukkan nilai persen inhibisi secara berturut-turut pada konsentrasi 50 ppm sebesar 23,1771%, pada konsentrasi 75 ppm sebesar 45,7855%, pada konsentrasi 100 ppm sebesar 56,6449% dan 125 ppm sebesar 78,3121%. Nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 55,71 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Berdasarkan penelitian ini, ekstrak etanol bunga kertas (*Bougainvillea*) memiliki potensi sebagai antioksidan.

Kata kunci : Bunga kertas (*Bougainvillea*), antioksidan, DPPH

Abstract

*This research was conducted to determine the content of secondary metabolites in ethanol extracts of paper flowers and to know the activity of ethanol extracts of paper flowers as antioxidants using the DPPH method. Ethanol extract was obtained through maceration method. Antioxidant testing was carried out by the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Ethanol extract of paper flowers contains secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids and phenols. The results of antioxidant activity tests carried out showed the value of percent inhibition in a row at a concentration of 50 ppm of 23.1771%, at a concentration of 75 ppm at 45.7855%, at a concentration of 100 ppm at 56.66449% and 125 ppm at 78.3121 %. The IC₅₀ value obtained was 55.71 ppm indicating strong antioxidant activity. Based on this study, ethanol extract of paper flowers (*Bougainvillea*) has potential as an antioxidant.*

Keywords: Paper flower (*Bougainvillea*), antioxidants, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan radikal bebas sangat reaktif menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat sehingga menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Akumulasi dari

kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini (Liochev, 2013).

Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh kembali elektron pasangannya. Selain itu, radikal bebas dapat mengalami tubrukan kaya energi dengan molekul lain, yang merusak ikatan didalam molekul, sehingga radikal bebas dapat merusak membran sel atau DNA sel yang rentan (Corwin, 2009). Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh sebagai

bagian dari hasil metabolisme. Sedangkan radikal bebas yang bersumber dari luar tubuh dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, termasuk kebiasaan merokok, penggunaan pestisida pada makanan, polusi dan radiasi (Mbaoji, dkk., 2016)

Antioksidan merupakan bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi pada substrat yang mudah teroksidasi dan telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih, maka tubuh membutuhkan antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat potensial untuk dikembangkan. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan tubuh yang disebabkan senyawa oksigen reaktif, mampu menghambat peroksida lipid pada makanan (Winarsi, 2007).

Senyawa antioksidan banyak ditemukan pada tumbuhan, baik pada bunga, daun maupun buah. Senyawa didalam tanaman banyak mengandung berbagai molekul penghambat radikal bebas, seperti senyawa fenolik (asam fenolik, flavonoid, kuinon, kumarin, lignan, stilbenes dan tanin), senyawa nitrogen (alkaloid, amina dan betalain), vitamin, terpenoid (termasuk karotenoid), dan beberapa metabolit endogen lainnya yang kaya akan aktivitas antioksidan (Ivanisova, dkk., 2013). Salah satu tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah bunga kertas. Bunga kertas dijadikan sebagai antioksidan karena mengandung senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid. Flavonoid memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa

flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksi lemak (Hartanto, 2012). Menurut penelitian Suparmi, dkk. (2012) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah rambutan dapat menghambat terjadinya reaksi radikal bebas di dalam tubuh. Kulit buah rambutan mengandung golongan senyawa flavonoid. Beberapa golongan senyawa flavonoid tersebut diketahui mempunyai efek anti radikal bebas atau antioksidan. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh Rao, dkk. (2015) menyatakan bahwa ekstrak metanol bunga kertas mengandung varietas senyawa fitokimia. Senyawa tersebut dapat secara efektif melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif oleh radikal bebas. Dengan demikian aktivitas ekstrak metanol bunga kertas dapat digunakan sebagai sumber senyawa antioksidan alami.

Pengujian kandungan metabolit sekunder dilakukan untuk menentukan kualitas ekstrak. Setelah itu pengujian aktivitas ekstrak etanol bunga kertas sebagai antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder didalam ekstrak etanol bunga kertas dan mengetahui aktivitas ekstrak etanol bunga kertas sebagai antioksidan dengan menggunakan metode DPPH.

METODE

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bunga kertas yang berwarna pink (merah jambu) sebanyak 2 kg. Sampel ini diambil dengan cara memetik bunganya dari pohon.

Cara membuat ekstrak etanol bunga kertas

Bunga kertas diangin-anginkan, dirajang halus kemudian dimaserasi dengan etanol selama 48 jam sebanyak 3 kali pengulangan, selanjutnya disaring dan diangin-anginkan kembali selama 24 jam, sehingga dihasilkan ekstrak etanol kental.

Skrinning fitokimia

Skrinning fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol bunga kertas. Metabolit sekunder yang diuji antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan fenol.

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam larutan HCl encer kemudian disaring, lalu ditambahkan reagen *wagner*. Terjadinya endapan berwarna kuning menandakan adanya senyawa alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol dilarutkan kembali dengan 2 mL etanol dan ditambahkan 3 tetes larutan NaOH. Terjadinya perubahan intensitas warna kuning menjadi tidak berwarna pada penambahan H_2SO_4 mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid.

c. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam 20 mL aquades, kemudian larutan dikocok dalam labu ukur selama 10 menit. Terbentuknya busa setinggi 1 cm mengidentifikasi adanya senyawa saponin.

d. Uji Triterpenoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam kloroform dan disaring, kemudian filtrat ditambahkan beberapa tetes asam sulfat dan dikocok. Terbentuknya warna kuning emas menandakan adanya senyawa triterpen.

e. Uji Fenol

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol dilarutkan kembali dengan 2 mL etanol dan ditambahkan 3 tetes larutan $FeCl_3$. Terbentuknya warna hitam kebiruan menandakan adanya senyawa fenol.

Uji Antioksidan pada bunga kertas menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

a. Penentuan konsentrasi pada sampel

Berat sampel (kristal yang sudah dimurnikan) ditimbang 2,5 mg dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL kemudian ditambah dengan metanol p.a sampai tanda batas sebagai diperoleh konsentrasi sampel 500 ppm (Larutan induk), Dari larutan induk (larutan uji 500 ppm) dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm. Setelah konsentrasi dalam masing-masing ppm di peroleh selanjutnya masing-masing tabung tambahkan 0,6 mL DPPH (0,1 mM) lalu tambah metanol sampai tanda/volume 3 mL. Selanjutnya inkubasi selama 30 menit dalam inkubator pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ baru dilakukan pengujian. Semua sampel yaitu sampel ekstrak etanol bunga kertas yang telah diinkubasi diuji nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

b. Pembuatan Larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 0,1 mM

Serbuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (BM 394,32) sebanyak 1,98 mg dilarutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Volume dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas, kemudian ditempatkan dalam botol gelap.

c. Pembuatan Larutan Blangko

Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan metanol p.a sebanyak 2 mL. Tutup dengan aluminium foil. Campuran dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya, serapan larutan blangko diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Kuvet dibersihkan terlebih dahulu bagian luarnya dengan menggunakan tisu. Setelah itu dimasukkan metanol p.a pada kedua kuvet ke arah bawah. Ukur absorbansinya. Keluarkan metanol p.a pada kuvet yang kedua, lalu buang dan bilas dengan blanko DPPH, lalu diisi dengan blanko DPPH. Ukur absorbansinya (ukur blanko sebelum mengukur sampel). Setelah blanko lalu diukur larutan uji, kuvet dicuci dengan metanol, lalu dibilas dengan sedikit sampel uji buang, baru isi sampel uji sampai penuh, dibersihkan dengan tisu sampai kering lalu diukur dan dibaca absorbansinya. Penentuan Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*)

Parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah dengan nilai *efficient concentration* (EC_{50}) atau sering disebut nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH, untuk menghitung nilai IC_{50} diperlukan data persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% $y = ax + b$.

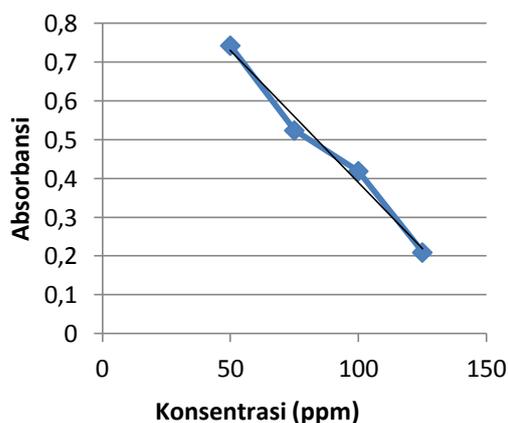
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut ini tabel hasil uji metabolit sekunder menggunakan metode penapisan fitokimia.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Kertas 70%

Pengujian senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Triterpenoid	+
Fenol	+

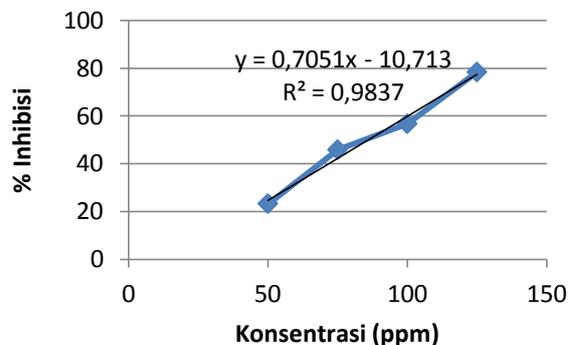
Selanjutnya grafik konsentrasi dan absorbansi pada ekstrak etanol bunga kertas (*bougainvillea*).



Gambar 1. Kurva hubungan konsentrasi dan absorbansi

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Kertas

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	% Inhibisi %	IC_{50}
50	0,7428	23,1771	55,71 ppm
75	0,5242	45,7855	
100	0,4192	56,6449	
125	0,2097	78,3121	



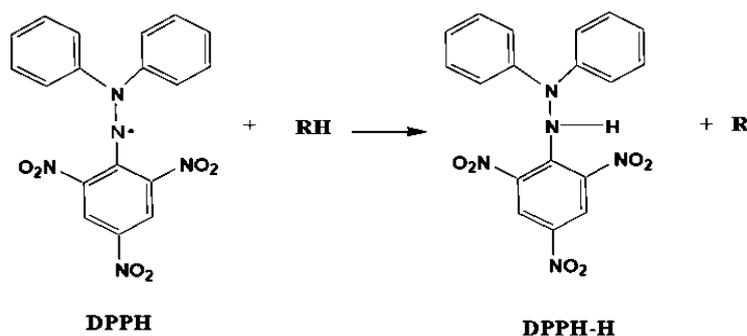
Gambar 2. Kurva hubungan konsentrasi dan % Inhibisi ekstrak

Koefisien y pada persamaan linier bernilai 50 merupakan koefisien IC_{50} , sedangkan koefisien x pada persamaan linier ini merupakan konsentrasi ekstrak yang akan dicari nilainya, dimana x yang diperoleh merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Nilai R^2 menggambarkan linieritas konsentrasi terhadap % inhibisi. Nilai R^2 yang mendekati +1 (bernilai positif) menandakan bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak, semakin meningkat pula aktivitas antioksidannya. Hal ini berkaitan dengan jumlah senyawa metabolit sekunder yang terlarut di dalam ekstrak dan memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan gambar 2 diperoleh nilai $y = 0,7051x - 10,713$, maka dapat ditentukan nilai IC_{50} dengan mengganti nilai y dengan angka 50. Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh, ekstrak etanol bunga kertas memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yaitu 55,71 ppm. Uji kandungan

senyawa metabolit sekunder menggunakan metode penapisan fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalam bunga kertas menggunakan etanol 70%, kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian metabolit sekunder untuk golongan senyawa yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan fenol. Hasil metabolit sekunder yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 1.

Metode DPPH menggunakan prinsip spektrum UV-Vis. Senyawa yang dimiliki oleh antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH sehingga membentuk DPPH tereduksi yang dapat ditandai dengan terjadinya perubahan warna yang semula berwarna ungu menjadi kuning pucat disertai terjadinya penurunan nilai absorbansi (Nurfadillah, dkk., 2016).



Gambar 3. Reaksi Antioksidan dan DPPH

(Sumber: Nurfadillah., dkk 2016)

Perubahan warna ungu menjadi kuning pada uji aktivitas antioksidan menandakan terbentuknya radikal antioksidan. Semakin banyak atom H dari antioksidan yang didonorkan pada DPPH maka semakin banyak radikal antioksidan yang terbentuk (Suryanto, 2012). Pada penelitian ini nilai persen inhibisi yang diperoleh pada konsentrasi 50 ppm sebesar 23,1771%, pada konsentrasi 75 ppm sebesar 45,7855%, pada konsentrasi 100

ppm sebesar 56,6449% dan pada konsentrasi 125 ppm sebesar 78,3121 %. Semakin tinggi konsentrasi sampel, maka semakin tinggi persentase inhibisinya, hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka semakin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut (Molyneux, 2004).

Penghambatan 50% diperoleh dari kurva antara persen inhibisi terhadap konsentrasi sampel dari persamaan regresi linear. Pengujian antioksidan yang dilakukan terhadap ekstrak etanol bunga kertas diperoleh nilai IC_{50} 55,71 ppm. Ekstrak etanol bunga kertas memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Menurut Mardawati, (2008) secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan kuat jika nilai IC_{50} bernilai 51-100, dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan Ekstrak etanol bunga kertas memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan fenol dan Pengujian antioksidan dengan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kertas memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 55,71 ppm

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing yang telah banyak membantu skripsi ini, kepada penguji dan seluruh dosen yang telah memberi saran dan masukan dalam penulisan skripsi ini, serta kepada kepala UPT Laboratorium Dasar Universitas Samudra dan kepala Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara, dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Corwin, E. J. 2009 *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi Ketiga. Penerjemah: Yudha, E. K., Wahyuningsih, E., Yulianti, D., dan Karyuni. P. E. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Hartanto, H. 2012. "Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Cokelat dari Kakao Lindak dengan Berbagai Cara Preparasi: Metode Radikal Bebas DPPH". *Skripsi*. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala.

Ivasinova, dkk. 2013. Antioxidant Activity of Selected Plant Products. *Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences*.

Liochev, S. I. 2013. "Reactive Oxygen Species and the Free Radical Theory of Aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 60. 1-4.

Mardawati, E. 2008. Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Gracinia Mangostana* L) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. *Laporan Akhir Penelitian*. Bandung: Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran.

Mbaoji, F. N., Ezike, A. C., Nworu, C. S., Nwabunike, I. A., Okoli, I. C., dan Akah, P. A. "Antioxidant And Hepatoprotective Potentials of *Stemonocoleus Micranthus* Harms (*Fabaceae*) Stem Bark Extract, 2016: 8(7).

Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol.* 26: 211-219.

Nurfadillah., Chadijah, S., dan Rustiah, W. 2016. Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) dengan Menggunakan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). *Al-Kimia*. 4(1).

Suparmi., Anshory, H., dan Dirmawati, N. 2012. "Uji Aktivas Antioksidan

Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*, L.) dengan Metode Linoleat-Tiosianat". *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 9(1).

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

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.