

Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica L.) berdasarkan Perbedaan Pelarut Ekstraksi menggunakan Metode DPPH

Fita Sari*, Asih Imulda, Rachma Nurhayati, Krisna Kharisma Pertiwi
Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri, Indonesia
*E-mail: fita.sari@iik.ac.id

Abstract

Background: Beluntas was a plant that is easy to grow and obtained by the community and is usually used for fresh vegetables and traditional medicine since ancient times.

Objective: This section describes the objectives of the study

Method: The identification of phytochemical screening of beluntas leaves revealed the presence of flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids. The test of antioxidant activity was performed using the DPPH method as free radical and vitamin C as a comparison.

Results: The average IC₅₀ value of beluntas leaves in 70% ethanol solvent is 94.06 ppm, in ethyl acetate is 150.55 ppm, and vitamin C is 17.14 ppm.

Conclusion: This indicates that there are differences in the antioxidant activity of beluntas leaves.

Keywords: *Beluntas, Leaves, DPPH, Extract, Ethanol, Acetat Ethyl*

Intisari

Latar belakang: Beluntas merupakan tanaman yang mudah ditanam dan didapatkan oleh masyarakat serta biasanya digunakan untuk lalapan dan obat tradisional sejak zaman dahulu.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak daun beluntas yang didapatkan dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat.

Metode: Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH sebagai radikal bebas dan vitamin C sebagai pembanding.

Hasil: Hasil identifikasi skrining fitokimia daun beluntas menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Hasil rata – rata nilai IC₅₀ menunjukkan aktivitas antioksidan daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% sebesar 94,06 ppm, menggunakan pelarut etil asetat sebesar 150,55 ppm dan vitamin C sebesar 17,14 ppm.

Kesimpulan: Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan.

Kata kunci : *Beluntas, Daun, DPPH, Ekstrak, Etanol, Etil Asetat*

1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang tidak stabil serta sangat reaktif dan elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Mekanisme kerja radikal bebas adalah mengikat molekul atau sel yang ada di dalam tubuh sehingga sifatnya berbahaya karena dapat menyebabkan sel tubuh rusak dan menimbulkan berbagai penyakit (Badarinath, *et al.*, 2010). Tubuh secara terus-menerus akan memproduksi senyawa radikal dan pada akhirnya didapatkan metabolisme sel tidak normal, peradangan, serta kekurangan gizi (Sayuti, *et al.*, 2015).

Antioksidan merupakan senyawa atau dalam kadar tertentu memiliki kemampuan untuk memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Efek yang ditimbulkan di dalam tubuh dengan adanya antioksidan adalah mereduksi dan mencegah terjadinya pembentukan radikal (Sayuti, *et al.*, 2015).

Senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman mempunyai fungsi yang sangat penting bagi kesehatan termasuk dalam pencegahan terhadap penyakit degeneratif. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang memiliki peranan menangkap radikal bebas penyebab penyakit meliputi kerotenoid, fitosterol, saponin, glikosinolat, polifenol, inhibitor protease, monoterpen, fitoestrogen, dan sulfida (Sari, 2016).

Tumbuhan merupakan salah satu sumber senyawa kimia seperti karbohidrat, protein, lemak, maupun sebagai sumber senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Beluntas (*Pluchea indica* L.) adalah tanaman dari keluarga Asteraceae, masyarakat telah memanfaatkan tumbuhan ini sebagai bahan lalapan dan obat tradisional sejak zaman dahulu. Berbagai penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun beluntas mengandung berbagai metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, flavonoid. Senyawa metabolit tersebut yang diduga memiliki kemampuan dalam menangkap radikan bebas (Wanita, 2019).

Metode DPPH yaitu metode yang pengerjaannya relatif sederhana, mudah, cepat, dan memerlukan sedikit sampel dibandingkan dengan metode lainnya. IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk menangkap radikal DPPH, IC_{50} juga digunakan sebagai parameter dalam uji radikal DPPH. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wanita (2019) menggunakan metode DPPH dengan ekstraksi maserasi terhadap aktivitas antioksidan pada daun beluntas diperoleh hasil 37,25 ppm. Suatu senyawa dianggap antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), lemah (151-200) (Tutik, *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, dalam penelitian ini akan diteliti mengenai perbedaan aktivitas antioksidan dengan pelarut etanol 70% dan etil asetat menggunakan metode DPPH. Hal ini untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak daun beluntas dengan perbedaan pelarut (Tutik, *et al.*, 2018). Pengujian aktivitas antioksidan daun beluntas dengan menggunakan perbedaan pelarut etanol 70 % dan etil asetat belum pernah dilakukan penelitian. Tujuan penelitian ini agar

dapat diperoleh hasil antioksidan pada daun beluntas dengan perbedaan pelarut etanol 70% dan etil asetat menggunakan metode DPPH.

2. Metode

2.1. Ekstrak Etanol 70% Daun Beluntas (EEDB)

Ekstrak etanol daun beluntas (EEDB) dibuat dengan cara maserasi. Serbuk simplisia sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml, selama 3 x 24 jam sambil diaduk pada suhu 25°C - 32 30°C, kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh di uapkan di atas *water bath* pada suhu 50°C, hingga diperoleh ekstrak kental (Lestari, *et al.*, 2020).

2.2. Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (EEADB)

Ekstrak etil asetat daun beluntas dibuat dengan cara maserasi. Ditimbang simplisia daun beluntas sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 1000 ml direndam selama 3 x 24 jam sambil diaduk pada suhu 25°C - 30°C, kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh diuapkan di atas *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental (Lestari, *et al.*, 2020).

2.3 Skrining Fitokimia Flavonoid

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mg serbuk Mg dan 2 ml Hcl pekat. Hasil positif terdapat flavonoid apabila terbentuk warna merah jingga atau kuning (Lestari, *et al.*, 2020).

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif Dengan Spektrofotometer UV-Vis

Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 0,05 mM dibuat dengan menimbang sebanyak 2 mg serbuk DPPH, kemudian dilarutkan ke dalam 100 ml etanol p.a didalam labu ukur 100 ml. Labu ditutup dan dikocok sampai larutan homogen dan berwarna violet. Pengerjaan dilakukan ditempat yang terlindung dari cahaya (Hasanah, *et al.*, 2016).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM dipipet ditambahkan 0,2 ml etanol p.a, didiamkan 30 menit ditempat yang terlindung dari cahaya. Larutan campuran DPPH dengan etanol selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet lalu diuji serapannya dengan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang 500-520 nm (Hasanah, *et al.*, 2016).

Pembuatan Larutan Baku Induk

Sampel ekstrak kental ditimbang 0,25 gram selanjutnya dilarutkan ke dalam 500 ml etanol p.a dalam labu ukur 500 ml, selanjutnya dipipet untuk membuat larutan konsentrasi 50 ppm, 30 ppm, 10 (Hasanah, *et al.*, 2016).

Pembuatan Larutan Baku Seri

Larutan induk masing-masing sampel ekstrak daun beluntas dipipet 1 ml, 0,6 ml dan 0,2 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml volume dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas (Hasanah, *et al.*, 2016).

Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing ekstrak sampel dalam 3 konsentrasi yaitu 50 ppm, 30 ppm, dan 10 ppm diambil 0,2 ml, dimasukkan kedalam vial, selanjutnya ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH. Larutan didiamkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapannya diukur dengan spektrofometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (Hasanah, *et al.*, 2016).

Pembuatan Larutan Baku Pembanding Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 0,25 gram kemudian dilarutkan dalam 500 ml etanol p.a dalam labu ukur 500 ml sehingga di dapatkan konsentrasi larutan pembanding 500 ppm, lalu dibuat larutan vitamin c untuk konsentrasi 6 ppm, 4 ppm, dan 2 ppm (Hasanah, *et al.*, 2016).

Pembuatan Larutan Seri Vitamin C

Larutan induk vitamin C dipipet 0,04 ml, 0,08 ml dan 0,12 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda batas (Hasanah, *et al.*, 2016).

Pengukuran Serapan Larutan Vitamin C dengan Spektrofotometri Uv-Vis

Larutan uji vitamin C sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,8 ml, dikocok hingga homogen diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, selanjutnya diukur panjang gelombang maksimum (Hasanah, *et al.*, 2016).

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat. Simplisia daun beluntas diperoleh dari Kabupaten Tulungagung dan dilakukan proses determinasi. Tujuan determinasi yaitu untuk membuktikan kebenaran identitas suatu tanaman yang akan diteliti dan mencegah kesalahan saat pengumpulan bahan penelitian (Diniatik, *et al.*, 2015).

Hasil Rendemen Ekstrak Daun Beluntas dengan Pelarut Etanol 70% dan Etil Asetat.

Simplisia Daun Beluntas	Pelarut	Berat Ekstrak	% rendemen
100 gram	Etanol 70%	16,35 gram	16,35%
100 gram	Etil Asetat	15,47 gram	15,47%

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, karena prosedur serta peralatan yang digunakan relatif sederhana dan tidak mengalami proses pemanasan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai atau mudah rusak (Prayoga dan Puspitasari, 2019). Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah etanol 70% dan etil asetat, etanol dipilih karena sifatnya yang polar dan dapat melarutkan komponen antioksidan yang merupakan golongan metabolit sekunder pada daun beluntas (Nurhasnawati, *et al.*, 2017). Hasil rendemen yang diperoleh pada ekstrak daun beluntas menggunakan etanol 70% sebesar 16,35 % dan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etil asetat sebesar 15,47% seperti yang tertera pada Tabel V.1. Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi II (2017) syarat untuk rendemen untuk daun beluntas adalah tidak kurang dari 8,3 %. Hasil rendemen dari ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat di atas menunjukkan bahwa masih memenuhi syarat rendemen seperti yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia edisi II.

Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Beluntas Dengan Pelarut Etanol 70%

Tabel 1. Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit EEDB

Uji Senyawa Fitokimia	Hasil (+) Menurut Pustaka	Hasil Yang Diperoleh	Ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna merah jingga atau kuning hasil menunjukkan positif flavonoid (Lestari, <i>et al.</i> , 2020).	Positif berwarna merah jingga	(+) positif

Menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Wanita (2019) komponen senyawa metabolit sekunder yang mendukung aktivitas antioksidan pada daun beluntas adalah flavonoid.

Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Beluntas Dengan Pelarut Etil Asetat

Tabel 2. Hasil Identifikasi Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas

Uji Senyawa Fitokimia	Hasil (+) Menurut Pustaka	Hasil Yang Diperoleh	Ekstrak
Flavonoid	Terbentuk warna merah jingga atau kuning hasil menunjuk kanpositif flavonoid (Lestari, <i>et al.</i> , 2020).	Positif berwarna merah jingga	(+) positif

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lestari, *et al* (2020) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun beluntas positif mengandung flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas dengan pelarut etanol 70% dan etil asetat menggunakan metode DPPH. Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti metode lain (Sayuti, *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wanita (2019) didapatkan hasil panjang gelombang DPPH sebesar 517 nm, hal tersebut menandakan hasil yang didapatkan hampir sama dengan penelitian sebelumnya. Percobaan ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Molyneux (2004) bahwa panjang gelombang teoritis untuk pengukuran DPPH berkisar antara 500 nm – 520 nm.

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang DPPH

Panjang gelombang	Absorbansi DPPH
500	0,303
502	0,309
504	0,316
506	0,321
508	0,326
510	0,329
512	0,332
514	0,333
516	0,335
518	0,334
520	0,333

Hasil Pengukuran Ekstrak Etanol Daun Beluntas (EEDB)

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan EEDB

	IC ₅₀	Rerata IC ₅₀ ± SD
Replikasi 1	94,42 ppm	94,06 ± 0,327
Replikasi 2	93,98 ppm	
Replikasi 3	93,78 ppm	

Hasil Pengukuran Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (EEADB)

Tabel 4. Hasil Aktivitas Antioksidan EEADB

	IC ₅₀	Rerata IC ₅₀ ± SD
Replikasi 1	148,24 ppm	150,55 ± 4,811
Replikasi 2	156,08 ppm	
Replikasi 3	147,33 ppm	

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian DPPH, persen inhibisi pada ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat mengalami peningkatan dari konsentrasi yang rendah sampai dengan konsentrasi yang tinggi. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak daun beluntas menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin

tinggi pula nilai persen inhibisinya. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya oleh Hanani, *et al* (2005) yang menyatakan presentase terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya suatu konsentrasi.

Tabel 5. Hasil Rata-Rata IC₅₀ Vitamin C

	IC ₅₀	Rerata IC ₅₀
Replikasi 1	17,48 ppm	17,14 ppm
Replikasi 2	16,83 ppm	
Replikasi 3	17,13 ppm	

Hasil rata-rata IC₅₀ yang telah diperoleh dari ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat masing – masing sebesar 94,06 ppm yang masuk kedalam kategori kuat dan 150,55 ppm yang masuk dalam kategori sedang serta vitamin C didapat rata – rata IC₅₀ sebesar 17,14 ppm yang masuk ke dalam kategori sangat kuat.

Percobaan yang pernah dilakukan sebelumnya oleh Sariwati dan Sari (2021) menyatakan bahwa senyawa kuersetin yang dimiliki daun beluntas memiliki aktivitas antioksidan, karena kuersetin memiliki kemampuan untuk perpindahan elektron dari cincin B menuju radikal bebas dan memecah radikal bebas. Vitamin C sebagai pembanding mempunyai hasil nilai IC₅₀ yang masuk dalam kategori sangat kuat karena vitamin C merupakan antioksidan alami (Sylvia, *et al.*, 2020).

4. Kesimpulan

Ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan nilai antioksidan yang lebih kuat dari pada pelarut etil asetat dengan menunjukkan hasil IC₅₀ 94, 06 ppm.

Daftar Pustaka

- [1] Badarinath, A. V et al., 2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), pp. 1276–1285. *The example for reference from book*
- [2] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017. *Farmakope Herbal Indonesia edisi 2*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [3] Diniatik, 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook f. & Th) Dengan Metode Spektrofometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, ISSN 2354-6565.
- [4] Hanani, E., Mun'im, B., Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam spons *Callispongia* sp. Dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu*

Kefarmasian. 2 (3) : 127-133

- [5] Hasanah, M., Andriani, N. & Noprizon, N., 2016. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Hasil Ekstraksi Maserasi Dan Refluks. *Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 6(2), p. 84
- [6] Lestari, K. A. P., Putri, P. P. P., Sofiyah, Majidah, M., Faizatin, I. P. 2020. Antibacterial Activity of Beluntas (*Pluchea indica* L.) Leaves Extract Using Different Extraction Methods. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. Vol.2.
- [7] Molyneux, P., 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Sci. Technol*, 77 (Vol. 26 No. 2 Mar, - Apr.) hlm. 212.
- [8] Nurhasnawati, H., Handayani, F. & Sukarmi, 2017. Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), pp. 91-95.
- [9] Prayoga.D.G.E, Nocianitri.K.A & Puspawati.N.N, 2019. Identifikasi senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) pada berbagai jenis pelarut. *Junal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(2), pp. 111-121
- [10] Sariwati, A., Sari Fita. 2021. *Bioassay Bioaktivitas Metabolisme Sekunder Tumbuhan*. Selayo : Insan Cendekia Mandiri.
- [11] Sayuti, Kesuma & Yenrina, R., 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. 1st edn. Padang: Andalan University Press
- [12] Sari, A. N., 2016. Berbagai Tanaman Rempah Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Elkawanie*, 2(2), p. 203.
- [13] Sylvia, D., Fatimah & Pratiwi, D.,2020. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(1), pp. 21- 31
- [14] Tutik, Dwipayana, I. N. A. & Elsyana, V., 2018. Identifikasi Dan Perbandingan Aktivitas ANtioksidan Ekstrak Daun Kelor Pada Variasi Pelarut Dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 1.
- [15] Wanita, D., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Dengan Metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 2(2), p. 25.