

**Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Pule (*Alstonia scholaris*)
Khas Kalimantan dengan Metode DPPH**

**Antioxidant Test of Methanol Extract of Pule Bark (*Alstonia scholaris*) typical
of Kalimantan with the DPPH Method**

Nur Halimah*, Mahfuzun Bone, Fajar Prasetya

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: xxnurhalimah@gmail.com

Abstrak

Pule (*Alstonia scholaris*) merupakan salah satu tanaman yang secara empiris sering digunakan dalam pengobatan. Kulit batang pule memiliki kandungan flavonoid yang umumnya dapat digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder serta aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol kulit batang pule dengan menentukan nilai IC_{50} ekstrak. Uji metabolit sekunder dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan reagen uji fenolik, steroid, terpenoid, saponin, flavonoid serta alkaloid. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). Aktivitas antioksidan diukur dari kemampuan ekstrak metanol kulit batang pule meredam DPPH yang terukur dengan alat Spektrofotometer UV-Vis sehingga diperoleh data absorbansi kemudian diolah dengan metode regresi linear. Hasil menunjukkan ekstrak mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Sedangkan uji DPPH menunjukkan ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 472,473 ppm.

Kata Kunci: Antioksidan, Ekstrak Metanol, Kulit Batang Pule, DPPH

Abstract

Pule (*Alstonia scholaris*) is one of the plants that are empirically often used in medicine. Pule bark contains flavonoids which can generally be used as antioxidants. This study aims to determine the content of secondary metabolites and antioxidant activity of the methanol extract of pule bark by determining the IC_{50} value of the extract. The secondary metabolite test was carried out by reacting the extract with phenolic test reagents, steroids, terpenoids, saponins, flavonoids and alkaloids. The antioxidant activity test was carried out using the DPPH method (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil).

Antioxidant activity was measured by the ability of the methanol extract of Pule bark to reduce DPPH which was measured using a UV-Vis Spectrophotometer so that absorbance data was obtained and then processed by linear regression method. The results showed that the extract contained phenolic and flavonoid compounds. While the DPPH test showed that the extract had weak antioxidant activity with an IC50 value of 472.473 ppm.

Keywords: Antioxidant, Methanol Extract, Pule Bark, DPPH

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v14i1.576>

1 Pendahuluan

Disamping penggunaan obat sintesis, saat ini pemanfaatan tumbuhan dalam pengobatan sudah semakin digunakan oleh masyarakat. Tumbuhan obat yang berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit umumnya mengandung senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan [1]. Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan untuk menghambat radikal bebas [2]. Kandungan metabolit sekunder yang dimiliki tumbuhan yang digunakan sebagai pelindung dalam bertahan hidup dari tekanan lingkungan pada tumbuhan, dapat memiliki aktivitas antioksidan dan dimanfaatkan oleh manusia sebagai pencegahan suatu penyakit [3].

Salah satu tumbuhan yang terdapat di Indonesia yang digunakan sebagai obat tradisional adalah pohon Pule (*Alstonia scholaris*). Tumbuhan pule merupakan tumbuhan yang sering ditemui dan mudah didapat di Kalimantan. Sejak dahulu, khasiat pule sebagai tumbuhan obat sering digunakan dalam masyarakat terutama daun dan kulit batangnya sebagai pilihan masyarakat dalam pengobatan tradisional [4].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari ekstrak metanol kulit batang pule serta mengetahui aktivitas antioksidan dilihat dari persen inhibisi pada ekstrak.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kaca arloji, spatel, sendok tanduk, gelas kimia, batang pengaduk, corong kaca, labu ukur, pipet tetes, pipet ukur, propipet, tabung reaksi, timbangan analitik, dan spektrofotometer UV-Vis. rotary evaporator, corong buchner, *hot plate*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit batang pule (*Alstonia scholaris*), metanol, etanol absolute, vitamin c, DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil*), FeCl₃, HCl pekat, sebuk Mg, HCl 1 N, asam sulfat pekat, asam asetat glasial, pereaksi *mayer*, *wagner* dan *dragendroff*.

2.2 Prosedur

Prosedur dalam penelitian ini terdiri dari pembuatan simplisia, ekstraksi, uji metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan.

2.2.1 Pembuatan Simplisia

Sampel kulit batang pule (*Alstonia scholaris*) dikumpulkan sebanyak 3 kg diambil dari daerah Tenggarong, Kalimantan Timur. Sampel dibersihkan dari zat pengotor yang menempel lalu dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian ditiriskan. Sampel dirajang hingga menjadi ukuran yang lebih kecil kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 400°C. Setelah proses pengeringan maka diperoleh simplisia kulit batang pule yang siap untuk diekstraksi.

2.2.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Simplisia kering sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan dengan metanol. Wadah ditutup dan disimpan di tempat yang terlindung dari sinar matahari. Diaduk setiap hari selama 3 hari, kemudian disaring dan diambil filtratnya untuk kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan prosedur yang sama hingga diperoleh ekstrak pekat.

2.2.3 Uji Metabolit Sekunder

Ekstrak metanol kulit batang pule dilarutkan dalam aquades kemudian ditambahkan pereaksi uji metabolit sekunder.

a. Alkaloid

Ekstrak sebanyak 3 ml ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml amonia dikocok kemudian dipanaskan. Setelah itu ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 3-5 tetes lalu dikocok. Diambil lapisan atas kemudian diujikan dengan pereaksi *mayer* dengan hasil positif jika terdapat endapan putih, pereaksi *dragendroff* dengan hasil positif jika terdapat endapan merah jingga, serta pereaksi *wagner* dengan hasil positif jika terdapat endapan coklat.

b. Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 0,05 g serbuk Mg dipanaskan. Kemudian ditambahkan HCl pekat lalu dikocok dan dipanaskan kembali. Hasil positif jika terdapat perubahan warna menjadi warna merah, kuning atau jingga.

c. Fenol

Ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml $FeCl_3$ 10%. Hasil positif jika terjadi perubahan warna menjadi biru tua, biru hitam, atau hitam.

d. Saponin

Ekstrak ditambahkan 10 ml aquadest dikocok hingga berbusa kemudian ditambahkan HCl 1 N. Hasil positif jika busa bertahan.

e. Steroid

Ekstrak ditambahkan pereaksi *Liebermann-Bouchard* (asam asetat anhidrat- H_2SO_4). Hasil

positif jika adanya perubahan warna menjadi warna merah kecoklatan.

f. Terpenoid

Ekstrak ditambahkan pereaksi *Liebermann-Bouchard* (asam asetat anhidrat- H_2SO_4). Hasil positif jika adanya perubahan warna menjadi warna coklat-ungu.

2.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Dilarutkan 4 mg DPPH dengan etanol absolute hingga 100 ml di dalam labu ukur. Dipipet DPPH 40 ppm sebanyak 2 ml dan ditambah 2 ml etanol absolute dalam tabung reaksi. Dikocok hingga homogen lalu diinkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap. Selanjutnya, diukur menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* pada panjang gelombang 500-530 nm.

Dilarutkan ekstrak metanol kulit batang pule dalam etanol absolute dan dibuat seri konsentrasi 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm dalam 10 ml. Dipipet 2 ml masing-masing konsentrasi dan ditambah 2 ml DPPH 40 ppm di dalam tabung reaksi. Dikocok hingga homogen lalu diinkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap. Selanjutnya, diukur menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* pada panjang gelombang 517,5 nm.

3 Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, kulit batang pule (*Alstonia scholaris*) digunakan sebagai sampel. Sampel dipotong kecil-kecil bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga proses ekstraksi berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin besar [5].

Sampel kemudian di ekstraksi menggunakan metode maserasi. Tujuan pemilihan metode maserasi karena cara pengerjaannya yang sederhana dan cepat namun sudah dapat menarik senyawa kimia dari sampel dengan maksimal. Keuntungan utama dari metode ini ialah tidak dilakukan pemanasan sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung di dalam sampel akibat pengaruh suhu dan senyawa yang tidak tahan pemanasan [6]. Agar senyawa kimia di dalam sampel dapat terekstrak secara menyeluruh maka dilakukan remaserasi atau pengulangan

dengan penggantian pelarut. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain selektivitas, kelarutan, dan titik didih.

Hasil uji metabolit sekunder ekstrak metanol kulit batang pule (*Alstonia scholaris*) ditunjukkan dalam Tabel 1. Hasil positif terhadap senyawa flavonoid dan fenol. Senyawa golongan alkaloid, saponin, steroid, dan terpenoid menunjukkan hasil negatif.

Tabel 1. Hasil uji metabolit ekstrak metanol kulit batang pule (*Alstonia scholaris*)

Jenis senyawa	Hasil (+/-)
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Fenol	+
Saponin	-
Steroid	-
Terpenoid	-

Keterangan:

(+) = mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Pada uji flavonoid sejumlah ekstrak dilarutkan dalam aquadest kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan serbuk magnesium, kemudian ditambahkan HCl pekat dan dipanaskan. Tujuan penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat ini untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid. Agar flavonoid dapat diidentifikasi, maka ikatan glikosida dengan flavonoid dalam tanaman harus diputus dengan cara mereduksi ikatan tersebut. Yang mana hasil yang didapatkan positif karena terbentuk warna merah, kuning atau jingga. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan, yang mana hasil menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan, sehingga dapat dikatakan positif [7].

Pada uji fenol dilakukan dengan cara melarutkan sejumlah ekstrak dalam aquadest, kemudian ditambahkan 1 ml FeCl₃. Reaksi FeCl₃ dengan ekstrak metanol kulit batang pule membuat pembentukan warna pada uji, yang peran adalah ion Fe³⁺ yang mengalami hibridisasi [8].

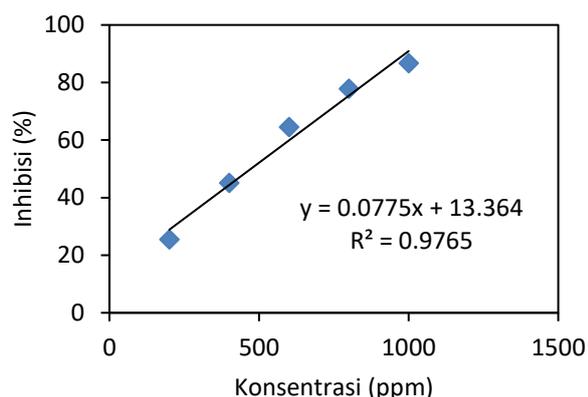
Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak methanol kulit batang pule (*Alstonia scholaris*)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi				% inhibisi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
	R1	R2	R3	Rata-rata		
200	0,488	0,490	0,490	0,4893	25,407	472,473
400	0,361	0,362	0,357	0,3600	45,122	
600	0,236	0,229	0,233	0,2327	64,533	
800	0,148	0,146	0,144	0,1460	77,744	
1000	0,086	0,090	0,087	0,0877	86,636	

Pada pengujian aktivitas antioksidan, konsentrasi ekstrak metanol kulit batang pule yang digunakan adalah 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Masing-masing konsentrasi dicampurkan dengan larutan DPPH dengan perbandingan 1:1. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap. Setelah diinkubasi, masing-masing ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517,5 nm. Pada tiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Hasil pengukuran absorbansi masing-masing konsentrasi ditunjukkan pada Tabel 2.

Dari data yang diperoleh diketahui setiap peningkatan konsentrasi ekstrak maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat

inhibisi akan naik. Absorbansi sampel turun karena elektron pada DPPH menjadi berpasangan dengan elektron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning bening [9]. Persen inhibisi meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas [5].



Gambar 1. hubungan antara konsentrasi terhadap persen inhibisi

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian DPPH pada ekstrak metanol kulit batang dari konsentrasi 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm mengalami peningkatan persen inhibisi yaitu berturut-turut 25,407%; 45,122%; 64,533%; 77,744%; dan 86,636%. Peningkatan persen inhibisi ini pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar persen inhibisi. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Frelinsia (2020) yang menyatakan bahwa persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi [9].

Dari data tersebut dapat dihitung nilai IC_{50} sebesar 472,473 ppm. Nilai tersebut merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Dari hasil pengujian yang didapatkan maka ekstrak metanol kulit batang pule memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan ekstrak metanol kulit batang pule mengandung senyawa flavonoid dan fenol serta memiliki aktivitas antioksidan kategori lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 472,473 ppm.

5 Kontribusi Penulis

Kontribusi penulis dalam penelitian ini terdiri atas peneliti utama dan peneliti pendamping. Nur Halimah sebagai peneliti utama. Sedangkan Fajar Prasetya dan Mahfuzun Bone sebagai peneliti pendamping.

6 Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

7 Daftar Pustaka

- [1] Pratiwi Dr, Bintang M, Simanjuntak P. 2014. Lelutung Tokak (Tabernaemontana Macrocarpa Jack). As Source Of Bioactive Substances , Antioxidant And Anticancer). J Ilmu Kefarmasian Indonesia. 12 (6), 267–72.
- [2] Winarsih H. 2007. Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas.
- [3] Samirana Po, Putra Pas, Leliqia Npe.2017. Uji Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil Dan Profil Bioautografi Ekstrak Etanol Kulit Batang Bidara (Ziziphus Mauritiana Auct. Non Lamk.). Jurnal Farmasi Udayana. 6 (1), 55-61
- [4] Arief, Aziz.2019. Uji Efek Antipiretik Ekstrak Daun Pule (*Alstonia scholaris*) pada Mencit (*Mus musculus*). Jurnal Kesehatan. 3 (2) : 142
- [5] Mardiyah, U., Fasya, G. A. Fauziyah, B., dan Amalia, S. 2014. Ekstraksi Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. Jurnal Achemy. 3 (1) : 42
- [6] Sa'adah, H., Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana Merr*) Menggunakan Metode Maserasi. Jurnal Ilmiah Manuntung. 1(2) : 149-153.
- [7] Muthmainnah, B. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah (*Punica granatum L.*) dengan Metode Uji warna. Media Farmasi. 8 (2) : 26
- [8] Paricia, S, Meiske, S, dan Lidya, I. 2020. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*).Jurnal MIPA. 9 (2) : 64-69
- [9] Frelinsia, V.M, Defny, S, dan Irma, A.2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* dengan Metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil*). Jurnal MIPA. 9 (3) : 29-34