

PHYTOCHEMISTRY SCREENING AND ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY USING DPPH OF TAYA (*Nauclea orientalis*) ETHANOL LEAF EXTRACT

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN DPPH PADA EKSTRAK ETANOL DAUN TAYA (*Nauclea orientalis*)

Wahyu Nugroho¹, Denada A.C²

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Palangka Raya, Kampus Unpar Tunjung Nyaho, Jl. H. Timang, 73111A

e-mail: nugrohokimia@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to perform phytochemical screening and antioxidant test on Taya ethanol leaf extract (*Nauclea orientalis*). The ethanol extract was obtained by extracting the leaves of Taya by 10 grams using 100 mL of ethanol, macerated for 3 × 24 hours at room temperature then sealed, then filtered to obtain the filtrate, then concentrated. The extract is then used to identify secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, terpenoids, steroids, saponins and phenolics. The antioxidant activity of the ethanol extract was measured by DPPH. The results showed that Taya plant leaves contained a group of secondary metabolite compounds of alkaloids, terpenoids, flavonoids, saponins and phenolics, while for steroids were not identified. The results of antioxidant activity test extract showed that ethanol extract have antioxidant activity with IC₅₀ value that is 352,251 ppm.

Keywords: *Nauclea orientalis*, Phytochemistry Screening, Antioxidant, DPPH

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining fitokimia dan uji antioksidan pada ekstrak etanol daun Taya (*Nauclea orientalis*). Ekstrak etanol diperoleh dengan cara mengekstraksi daun Taya sebanyak 10 gram menggunakan 100 mL etanol, dimaserasi selama 3×24 jam pada suhu kamar kemudian ditutup rapat, setelah itu disaring sehingga diperoleh filtrat, kemudian dipekatkan. Ekstrak kemudian digunakan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin dan fenolat. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol diukur dengan DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun tumbuhan Taya mengandung golongan senyawa metabolit sekunder alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan fenolat, sedangkan untuk steroid tidak teridentifikasi. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yakni 352,251 ppm.

Kata Kunci: *Nauclea orientalis*, Uji Fitokimia, Antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia sangat terkenal dengan keanekaragaman jenis tumbuhan dari berbagai jenis, bahkan Indonesia diakui sebagai negara dengan keanekaragaman jenis tumbuh-tumbuhan terbesar kedua di dunia. Negara Indonesia menyimpan kekayaan yang sangat ternilai harganya, terletak di daerah tropik sehingga memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dibandingkan dengan daerah subtropik dan kutub.

Di Pulau Kalimantan, salah satu tumbuhan yang biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah daun dari tumbuhan Taya (*Nauclea orientalis*). Daun tanaman Taya di Kalimantan Tengah atau dalam bahasa Dayak Ngaju disebut "dawen taya" adalah tanaman berkayu keras. Di daerah lain, tanaman bernama Latin *Nauclea orientalis* ini juga banyak terdapat di Pulau Bali (disebut bengkel), di Boven Digul Papua dan juga di Pulau Timor.

Daun Taya merupakan tumbuhan berkayu keras yang tumbuh liar di pedalaman hutan Kalimantan Tengah. Tanaman ini diambil daunnya sebagai penambah nikmat sensasi masakan. Walaupun pahit di lidah, enak sensasi rasa pahitnya. Menanamnya seperti singkong, batangnya ditanam ke tanah dengan posisi arah calon daun ke atas.

Daun Taya memiliki permukaan yang licin, hampir mirip daun salam, namun lebih lembut. Batangnya seperti daun salam dan memiliki bunga-bunga kecil berwarna kuning gading yang tertempel pada batok buah. Namun buah dan bunganya tidak bisa dimakan, hanya daunnya yang dimanfaatkan untuk sayur.

Klasifikasi Tumbuhan Taya adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub Kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Nauclea
Spesies	: <i>Nauclea orientalis</i> L



Gambar 1. Tanaman Taya (*Nauclea orientalis*)

Kandungan metabolit sekunder dari daun Taya yang tumbuh di Kalimantan Tengah belum diketahui. Masyarakat lokal biasa memanfaatkan daun Taya dalam kehidupan sehari-hari sebagai sayur, masker wajah, obat sakit perut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Pendidikan Kimia FKIP Universitas Palangka Raya.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain yaitu pisau, sendok, neraca analitik, kaca arloji, gelas kimia 50 mL, labu takar 100 mL, kertas saring, labu erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 100 mL, spatula, rak tabung reaksi, pipet tetes, corong kaca, pipet ukur + karet, keranjang, plat tetes, gunting,

aluminium foil, tisu, rotary evaporator, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain yaitu daun taya, aquades (H_2O), Etanol ($EtOH$), asam klorida (HCl), besi (III) klorida ($FeCl_3$), serbuk magnesium (Mg), asam sulfat (H_2SO_4), dan asam asetat anhidrida ($(CH_3CO)_2O$).

Preparasi Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah daun Taya (*Nauclea orientalis*) asal kota Palangka Raya. Daun dikeringkan, dibersihkan dan dibuat serbuk.

Ekstraksi

Ekstrak etanol diperoleh dengan cara mengekstraksi daun Taya sebanyak 10 gram menggunakan 100 mL etanol, dimaserasi selama 3×24 jam pada suhu kamar kemudian ditutup rapat, setelah itu disaring sehingga diperoleh filtrat, kemudian dipekatkan.

Skrining Fitokimia

1. Identifikasi Alkaloid

Lapisan ekstrak etanol dipipet 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Meyer Dragendorff. Jika terdapat alkaloid akan terbentuk endapan putih berwarna jingga atau coklat, hasil ini menunjukkan uji positif untuk uji alkaloid.

2. Identifikasi Terpenoid dan Steroid.

Diambil ekstrak etanol dimasukkan kedalam 2 lubang plat tetes masing-masing sebanyak 5 tetes ke lubang plat tetes dibiarkan sampai kering, dan ditambahkan 3 tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4) ke dalam satu lubang sedangkan lubang yang lain ditambahkan satu tetes asam asetat anhidrida dan satu tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid (pada saat penambahan asam asetat anhidrida dan asam sulfat) dan jika terbentuk warna merah atau merah ungu menandakan adanya terpenoid (pada saat penambahan asam sulfat pekat).

3. Identifikasi Saponin

Diambil 1 mL ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat-kuat, bila terbentuknya busa yang permanen selama ± 15 menit menandakan positif adanya saponin.

4. Identifikasi Flavonoid

Diambil 1 mL ekstrak etanol, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 potong serbuk logam Mg dan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan uji positif untuk uji flavonoid.

5. Identifikasi Fenolat

Diambil 1 mL ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan (besi (III) klorida) $FeCl_3$. Jika terbentuk warna biru, hijau, merah, ungu dan hitam yang kuat menandakan positif adanya senyawa fenolat.

Uji Antioksidan

Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dengan Metode DPPH (1,1 difenil-2 pikrilhidrazil)

Sejumlah 10 mg masing-masing ekstrak etanol dari daun Taya dilarutkan dalam etanol sebagai larutan induk kemudian dibuat dalam berbagai konsentrasi (10; 25; 50; 100; 200 ppm) untuk masing-masing ekstrak yang diperoleh, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 1,0 mL DPPH kemudian ditambahkan lagi 2,0 mL etanol kemudian diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 30 menit selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai pembanding digunakan vitamin C (konsentrasi 10; 25; 50; 100; 200 ppm). Nilai IC_{50} dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi (Erawati, 2012).

Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH yang digunakan dibuat dengan cara menimbang seksama lebih kurang 0,05 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 50 mL dan dicukupkan dengan etanol hingga tanda batas sehingga didapat larutan DPPH 100 ppm. Larutan ini ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm kemudian ditentukan panjang gelombang optimumnya (Bendra, Atika, 2012).

Pembuatan Larutan Blanko

Pembuatan larutan blanko dilakukan dengan cara etanol dipipet sebanyak 3 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH lalu dikocok sampai homogen, diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 30 menit (Dewi, dkk. 2016).

Pembuatan larutan vitamin C 1000 ppm

Sebanyak 10 mg vitamin C ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol kemudian dikocok hingga homogen.

Pembuatan larutan vitamin C konsentrasi (10; 25; 50; 100; 200 ppm)

Dipipet 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 mL larutan induk vitamin C masing-masing ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan etanol hingga tanda batas. Selanjutnya dipipet 1,0 mL masing-masing ke dalam 6 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambahkan dengan 1,0 mL DPPH kemudian ditambahkan lagi 2,0 mL etanol. Dikocok hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit (Ery, 2013)

Pembuatan Larutan Sampel

Pembuatan larutan seri bahan uji konsentrasi 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 mL

Dipipet 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 mL larutan induk bahan uji masing-masing ke dalam labu ukur 10,0 mL, ditambahkan etanol hingga tanda batas. Selanjutnya dipipet 1,0 mL masing-masing ke dalam 6 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambahkan dengan 1,0 mL DPPH kemudian ditambahkan lagi 2,0 mL etanol dikocok hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.

Serapan dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang 517 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan metabolit sekunder dari Tanaman Daun Taya (*Nauclea orientalis*) diidentifikasi melalui uji fitokimia. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik, saponin dan terpenoid. Analisis fitokimia menurut Harborne (1987) dilakukan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak kasar bila diuji dengan sistem biologi. Namun tujuan utamanya adalah menganalisis tumbuhan untuk mengetahui kandungan bioaktif yang berguna untuk pengobatan (Alfinda, dkk. 2008). Data hasil uji fitokimia yang diperoleh dari hasil identifikasi metabolit sekunder ekstrak etanol daun taya (*Nauclea orientalis*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit. Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawaan

yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid. Aktifitas antioksidan tidak dapat diukur secara langsung, melainkan melalui efek antioksidan dalam mengontrol proses oksidasi. Banyak metode yang bisa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Pada pengukuran aktifitas antioksidan perlu diperhatikan sumber radikal bebas dan substrat. Hal ini dikarenakan antioksidan mungkin dapat melindungi lipid dari kerusakan oleh radikal bebas, namun di waktu yang sama dapat mempercepat kerusakan molekul sel lainnya. Untuk mengatasi masalah ini dapat digunakan beberapa metode pengukuran aktifitas antioksidan untuk mengevaluasi efek dari antioksidan.

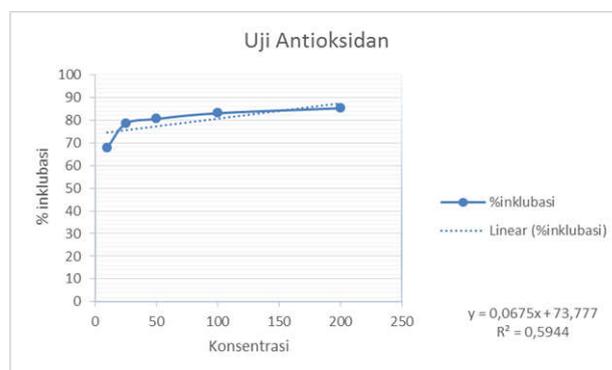
Tabel 1. Hasil Penelitian Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Etanol Daun Taya (*Nauclea orientalis*)

Metabolit	Hasil Pengamatan	Ket.
Alkaloid	Larutan berwarna kuning dan terdapat endapan berwarna coklat.	+++
Terpenoid	terbentuk warna merah pada larutan	++
Steroid	tidak terbentuk warna biru	-
Saponin	terbentuk busa pada larutan	++
Flavonoid	terbentuk warna merah pada larutan	+++
Fenolik	terbentuk warna biru, hijau kehitaman	+++

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Berdasarkan pada penelitian terdahulu metode ini paling umum digunakan. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometer UV-VIS. Penentuan panjang gelombang DPPH dilakukan pada panjang gelombang 517 nm dan selanjutnya pengukuran dengan metode peredaman radikal DPPH dilakukan pada panjang gelombang tersebut.

DPPH atau 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (α, α -difenil- β -pikrilhidrazil) merupakan suatu radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Delokalisasi elektron bebas ini juga mengakibatkan terbentuknya warna ungu pada larutan DPPH sehingga bisa diukur absorbansinya pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Ketika larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, maka warna ungu dari larutan akan hilang seiring dengan tereduksinya DPPH. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini berdasarkan dari

hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Hasil dari uji ini diinterpretasikan sebagai IC₅₀, yaitu jumlah antioksidan yang diperlukan untuk menurunkan konsentrasi awal DPPH sebesar 50%. Pada metode ini tidak diperlukan substrat sehingga memiliki keuntungan, yaitu lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat. Metode DPPH digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan. Metode ini berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa antioksidan untuk mengurangi radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen. Sebagai pembanding yang berfungsi sebagai kontrol positif dari zat uji yang mengandung senyawa antioksidan digunakan vitamin C.



Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi dengan % inkubasi

Analisis data daya hambat IC₅₀ ditentukan berdasarkan analisis regresi linier % peredaman DPPH terhadap konsentrasi senyawa. Jika IC₅₀ < 1000 ppm, maka senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yakni 352,251 ppm.

Dengan Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yakni 352,251 ppm bahwa ekstrak etanol pada daun Taya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Kemampuan peredaman radikal DPPH pada daun taya terkait dengan senyawa yang terkandung pada daun Taya yaitu flavonoid, polifenol. Senyawa polifenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan hidrogen, aktivitas antioksidan senyawa fenolik dapat dihasilkan pada reduksi netralisasi radikal bebas yang mengawali proses oksidasi atau pada penghentian reaksi radikal berantai yang terjadi. Sifat antioksidan dari flavonoid dan tanin berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas, dengan mekanisme tersebut flavonoid dan tanin memiliki efek yaitu

menghambat peroksidasi lipid dan menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air. Penggunaan kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak etanol jika dibandingkan dengan vitamin C. Apabila nilai IC_{50} sampel sama atau mendekati nilai IC_{50} kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan yang sangat kuat.

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yakni 5,49 ppm, sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yakni 352,251 ppm, yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Taya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Vitamin C dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat aktif karena nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10). Selain itu, vitamin C yang digunakan berupa senyawa murni sehingga aktivitas antioksidannya sangat aktif. Dari penelitian aktivitas antioksidan dengan DPPH didapatkan hasil, semakin besar konsentrasi sampel, maka semakin besar pula nilai persen inkubasi.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Ekstrak etanol pada daun Taya teridentifikasi mengandung senyawa golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan fenolik.
- Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yakni 352,251 ppm
- Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yakni 5,49 ppm

- Daun taya mempunyai nilai IC_{50} 352,251 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang menunjukkan bahwa daun taya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfinda, dkk. 2008 . *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga university press.
- Bendra, Atika. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Premna Oblongata Miq. Dengan Metode Dpph Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif*. Skripsi. Depok: FMIPA UI.
- Dewi, dkk. 2016. *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L)*. Jurnal Yogyakarta: Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.
- Ery. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Lakum (Cayratia Trifolia) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil1-Pikrilhidrazil)*. Jurnal. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia (Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan)*. Bandung : Institut Teknologi Bandung (ITB)