

Uji Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas DPPH dari Ekstrak Etil Asetat Batang Penara (*Myristica Iners* Blume.)

DPPH Free Radical Scavenging Activity Test Of *Ethyl acetate Extract* of Stem Penara (*Myristica iners* Blume.)

Faizah Hanan Lestari*, Hifdzur Rashif Rija'i , Herman

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

*Email korespondensi: faizahlestari@gmail.com

Abstrak

Tumbuhan penara (*Myristica iners* Blume) merupakan tumbuhan asli dari Indonesia yang termasuk marga dari *Myristica*. Informasi ilmiah mengenai tumbuhan penara belum banyak diketahui dan masih terbatas penelitian tentang aktivitas antiradikal bebas terhadap tanaman ini. Penelitian ini bertujuan untuk uji aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikrylhidrazyll*) dari ekstrak etil asetat batang penara. Metode yang dilakukan yaitu simplisia batang penara dilakukan ekstraksi dengan maserasi bertingkat. Uji skrining fitokimia secara kualitatif dan uji antiradikal bebas secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Hasil penelitian diperoleh ekstrak etil asetat memiliki rendemen yang paling tinggi yaitu sebesar 6,5% b/b kemudian ekstrak metanol sebesar 3% b/b dan ekstrak n-heksana sebesar 0,2% b/b. Pada uji skrining fitokimia ekstrak n-heksana memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid dan flavonoid. Pada ekstrak etil asetat memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Sedangkan ekstrak metanol memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Dan nilai aktivitas antiradikal bebas dari ekstrak etil asetat tergolong kategori kuat yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 94,94 microgram/mL.

Kata Kunci: *Myristica iners* Blume, Fitokimia, Antiradikal, DPPH

Abstract

Penara plant (*Myristica iners* Blume) is a native Indonesian plant from *Myristica* genus. Scientific information and research about the Penara plant is not widely known and anti-free radical activity of this plant is still limited. The aim of this study is the DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikrylhydrazyl*) free radical

scavenging activity test of the ethyl acetate extract of Penara stem will be tested. The method used is extraction with graded maceration. Qualitative phytochemical screening test and quantitative anti-free radical test with UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 515 nm. The results in this study indicate that the ethyl acetate extract had the highest yield of 6.5% w/w, then methanol extract was 3% w/w and n-hexane extract was 0.2% w/w. In the phytochemical screening test, the n-hexane extract contains a group of alkaloids and flavonoids. The ethyl acetate extract contains a group of alkaloids, flavonoids and tannins. While the methanol extract contains a group of alkaloids, flavonoids, and tannins. And the value of the free antiradical activity of the ethyl acetate extract belongs to the strong category which has an IC₅₀ value of 94,94 microgram/mL.

Keywords: *Myristica iners* Blume, Phytochemical, Antiradical, DPPH

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v15i1.619>

1 Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai negara tropis yang dianugerahi kekayaan sumber daya hayati yang sangat melimpah. Berbagai macam tumbuhan Indonesia telah banyak dimanfaatkan bagi kehidupan antara lain sebagai bahan obat alami [1]. Namun, masih sedikit dilakukannya penelitian pada tumbuhan di Indonesia salah satunya batang penara (*Myristica iners* blume).

Myristica iners Blume merupakan salah satu marga dari *Myristica* dengan nama lokal penarahan, dara-dara, pala hutan, kumpang dan lain-lain [2]. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan asli dari Indonesia dengan penyebaran ada di Kalimantan, Sumatera, Jawa, Malaysia, Filipina, Thailand dan lain-lain [3]. Tumbuhan ini mempunyai ketinggian 5-40 meter dengan diameter batang hingga 59 cm [4]. Selain itu, tumbuhan ini memiliki cabang ramping berwarna coklat tua, daun tipis dan lonjong hingga 7 inci serta buahnya berbentuk lonjong besar hingga 3 inci panjangnya dan setengah tebal [5].

Tumbuhan ini sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional yaitu sebagai obat susah buang air besar dengan memanfaatkan pada bagian kulit batang penara [6]. Selain itu pada bagian batang penara juga dimanfaatkan sebagai obat bisul dan getah penara dimanfaatkan sebagai obat untuk memudahkan buang air kecil, serta kulit dan

batang penara dapat dimanfaatkan sebagai bahan aromatik [7].

Informasi ilmiah mengenai tanaman penara belum banyak diketahui dan masih terbatasnya penelitian tentang aktivitas antiradikal bebas terhadap tanaman ini. Oleh karena itu, penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-pikrylhidrazyl*) dari ekstrak etil asetat batang penara

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu toples kaca, *buncher*, batang pengaduk, spatel besi, gelas kimia, wadah ekstrak, desikator, *rotary evaporator*, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, propipet, *hotplate*, penjepit tabung, plastik wrap, aluminium foil, labu ukur, vial coklat, spektrofotometer UV-VIS, kaca arloji, timbangan analitik (Precisa®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang penara (*Myristica iners* Blume.), *aquadest*, n-heksana, etil asetat, metanol, pereaksi mayer, pereaksi dragendorf, pereaksi wagner, pereaksi Lieberman-bouchard, FeCl₃ 1%, HCl, serbuk Mg, kertas saring, DPPH.

2.2 Pengumpulan dan Identifikasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang penara (*Myristica iners* Blume.)

yang diperoleh dari Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus Samboja, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Sampel tanaman diidentifikasi di Herbarium Wanariset Balai Konservasi Sumber Daya Alam Samboja, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur dengan nomor spesimen FF15.21. di Kecamatan Samarinda Ulu, Kota Samarinda, Kalimantan Timur.

2.3 Preparasi Sampel

Dilakukan sortasi basah pada sampel kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, ditiriskan dan dikeringkan ditempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung lalu sampel dihaluskan sampai diperoleh simplisia dan dilakukan penimbangan terhadap simplisia.

2.4 Ekstraksi Sampel

Simplisia batang penara sebanyak 736 g dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut yang berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Simplisia batang penara direndam menggunakan pelarut n-heksana sebanyak 3 L selama 24 jam, kemudian filtrat disaring menggunakan kertas saring dan dilakukan replikasi dengan cara yang sama. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C sampai 50 °C sehingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu, ampas dari n-heksana dikeringkan dan dilakukan maserasi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat (diulangi perlakuan yang sama). Selanjutnya, ampas etil asetat dikeringkan dan dilakukan maserasi kembali dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam toples dan dikeringkan di dalam desikator.

2.5 Menghitung Nilai Rendemen

Ekstrak yang sudah kering kemudian dilakukan perhitungan nilai rendemen dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan cara masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian dilarutkan dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol sebanyak 10 mL. Lalu, dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/terpenoid, dan saponin pada masing-masing ekstrak.

2.6.1 Uji Alkaloid

Masing-masing ekstrak diambil 2 mL kemudian dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi dan masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi yang berbeda. Pada tabung reaksi 1 ditambahkan 2-3 tetes pereaksi dragendorff, tabung reaksi 2 ditambahkan 2-3 tetes pereaksi mayer, pada tabung reaksi 3 ditambahkan 2-3 tetes pereaksi wagner. Hasil dikatakan positif alkaloid pada pereaksi dragendorff jika terbentuk endapan coklat jingga, pada pereaksi mayer terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning [8], pada pereaksi wagner terbentuk endapan merah, coklat [9] atau coklat kemerahan [10].

2.6.2 Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak diambil 2 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat 5 tetes. Hasil dikatakan positif flavonoid jika pada masing-masing larutan terbentuk warna merah, jingga atau kuning.[8]

2.6.3 Uji Tanin

Masing-masing ekstrak diambil 2 mL kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Hasil dikatakan positif tanin jika pada masing-masing larutan terbentuk warna biru atau hijau kehitaman.[8]

2.6.4 Uji Steroid/Terpenoid

Masing-masing ekstrak diambil 2 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2-3 tetes pereaksi lieberman-bouchard. Hasil dikatakan positif steroid jika terbentuk cincin biru kehijauan pada perbatasan larutan, sedangkan jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet maka positif terpenoid.[8]

2.6.5 Uji Saponin

Diambil 2 ml masing-masing ekstrak kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 ml air panas dan dikocok kuat selama 10 detik hingga muncul buih. Selanjutnya ditambahkan HCl 2 N sebanyak 1 tetes untuk mengamati ketahanan buih. Hasil dikatakan positif saponin ditandai adanya buih yang stabil [11]

2.7 Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Secara Spektrofotometri UV-VIS

2.7.1 Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak batang penara ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan sedikit etil asetat p.a sambil diaduk dan dihomogenkan. Lalu, dicukupkan volumenya sampai 10 ml sehingga didapatkan larutan stok 100 ppm. Setelah itu, dibuat larutan variasi seri konsentrasi 20 ppm; 40 ppm; 60 ppm; 80 ppm; dan 100 ppm.

1. Diambil 0,2 ml dari larutan stok dan dimasukkan kedalam labu ukur lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 20 ppm.
2. Diambil 0,4 ml dari larutan stok dan dimasukkan kedalam labu ukur lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 40 ppm.
3. Diambil 0,6 ml dari larutan stok dan dimasukkan kedalam labu ukur lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 60 ppm.
4. Diambil 0,8 ml dari larutan stok dan dimasukkan kedalam labu ukur lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 80 ppm.
5. Diambil 1 ml dari larutan stok dan dimasukkan kedalam labu ukur lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm.

2.7.2 Pembuatan dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 4 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml metanol di dalam labu ukur (yang ditutup aluminium foil) sehingga diperoleh konsentrasi 40 ppm. Lalu, dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit kemudian dilakukan

pengukuran serapan panjang gelombang dari rentang 510 nm sampai 520 nm dengan blanko etil asetat.

2.7.3 Pengujian Aktivitas Antiradikal

Dibuat larutan blanko dengan cara diambil 2 ml DPPH 40 ppm dan 2 ml etil asetat kemudian dimasukkan kedalam vial coklat. Lalu, dibuat larutan sampel uji dengan cara diambil 2 ml dari masing-masing seri konsentrasi (20 ppm; 40 ppm; 60 ppm; 80 ppm; 100 ppm) dan dimasukkan ke dalam vial coklat. Kemudian ditambahkan 2 ml larutan DPPH 40 ppm dan dihomogenkan lalu diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu, dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Selanjutnya, nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier.

Adapun rumus persentase peredaman radikal DPPH dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Dimana : A : Nilai absorbansi DPPH
B : Nilai absorbansi Blanko

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil % Rendemen

Simplisia batang penara yang telah dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat kemudian diperoleh ekstrak kental n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol batang penara. Selanjutnya, dilakukan perhitungan nilai rendemen. Nilai rendemen ekstrak batang penara dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil % Rendemen Ekstrak Batang Penara

Jenis Ekstrak	Bobot simplisia	Bobot Ekstrak	Rendemen (%)
n-heksana	732 g	1,5 g	0,2 %
Etil asetat	732 g	47,9 g	6,5 %
Metanol	732 g	21,7 g	3 %

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki rendemen yang paling tinggi yaitu sebesar 6,5% b/b, kemudian ekstrak

metanol sebesar 3% b/b dan paling rendah ekstrak n-heksana 0,2% b/b. Adanya perbedaan nilai rendemen disebabkan oleh jenis pelarut yang digunakan [12]. Ekstrak etil asetat menghasilkan nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa didalam batang penara lebih banyak terlarut dengan pelarut etil asetat (semi polar) dibanding pelarut metanol (polar) dan pelarut n-heksana (non polar).

3.2 Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak batang penara. Pengujian ini merupakan langkah awal untuk mengetahui ada tidaknya senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antiradikal. Adapun skrining fitokimia yang akan diuji meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/terpenoid dan saponin. Hasil pengujian fitokimia ekstrak batang penara dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Penara

Golongan Senyawa	Hasil		
	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Metanol
Alkaloid			
-Dragendorff	+	+	+
-Mayer	+	+	+
-Wagner	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Tanin	-	+	+
Steroid	-	-	-
Terpenoid	-	-	-
Saponin	-	-	-

Keterangan :

- (+) : Positif mengandung metabolit sekunder
- (-) : Negatif mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan ekstrak n-heksana memiliki kandungan golongan

senyawa alkaloid dan flavonoid. Pada ekstrak etil asetat memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Sedangkan ekstrak metanol memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin.

3.3 Hasil Uji Aktivitas Antiradikal Bebas

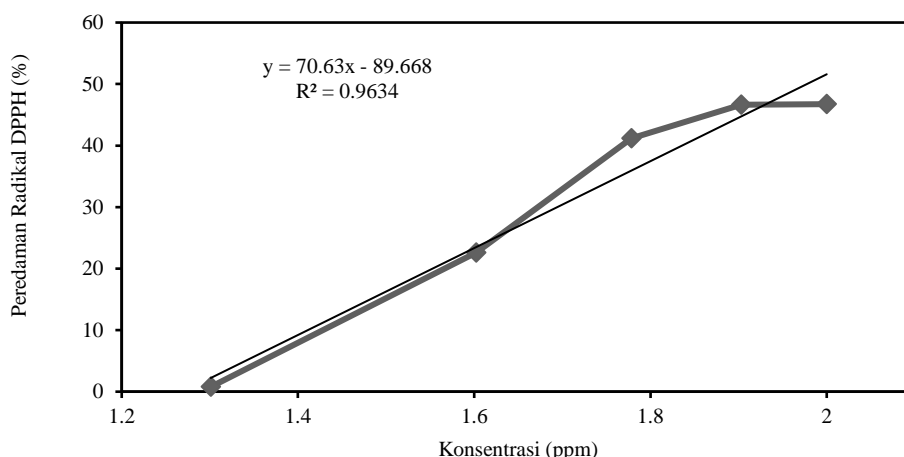
Uji aktivitas antiradikal bebas secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 515 nm. Pengujian ini menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH karena merupakan metode yang mudah digunakan, sederhana, cepat, dan memerlukan sedikit sampel [13]. Untuk mengetahui nilai aktivitas penghambatan radikal bebas dapat dinyatakan dalam IC₅₀ yang dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. IC₅₀ merupakan nilai untuk mengetahui besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50% [14]

Hasil penelitian dari ekstrak etil asetat batang penara didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 70,63x - 89,668$. Kemudian dilakukan perhitungan nilai IC₅₀ dengan mengganti nilai $y = 50$ sehingga diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 94,94 microgram/mL.

Tingkat kekuatan antiradikal bebas dapat dibagi menjadi beberapa golongan. Golongan pertama dikatakan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 microgram/mL, kuat apabila nilai IC₅₀ diantara 50 microgram/mL sampai 100 microgram/mL. Sedang apabila nilai IC₅₀ diantara 101 microgram/mL sampai 150 microgram/mL dan lemah apabila nilai IC₅₀ diatas 150 microgram/mL [13]. Berdasarkan tingkat kekuatan antiradikal bebas dapat dinyatakan ekstrak etil asetat masuk ke dalam golongan kuat karena memiliki nilai IC₅₀ sebesar 94,94 microgram/mL (50 microgram/mL - 100 microgram/mL).

Tabel 3 Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etil Asetat Batang Penara

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman Radikal DPPH	Persamaan ($y=bx+a$)	IC50 (microgram/mL)
Blanko	0,468667	-		
20	0,465000	0,782361	$y = 70,63x - 89,668$	94,94
40	0,362667	22,61735		
60	0,275667	41,18065		
80	0,250000	46,65718		
100	0,249667	46,72831		



Gambar 1 Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etil asetat batang penara

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan yaitu ekstrak etil asetat batang penara memiliki rendemen yang paling tinggi yaitu sebesar 6,5% b/b, kemudian ekstrak metanol sebesar b/b 3% dan paling rendah ekstrak n-heksan sebesar 0,2% b/b. Kemudian ekstrak n-heksan memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid dan flavonoid. Pada ekstrak etil asetat memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin. Sedangkan ekstrak metanol memiliki kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Dan nilai aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH dari ekstrak etil asetat tergolong kategori kuat yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 94,94 microgram/mL.

5 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] Wulandari dan Chairul, 2011, Penapisan Aktivitas Antioksidan Dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2,2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (Dpph), Majalah Obat Tradisional, 16(1), 22 - 25
- [2] Raffles Museum of Biodiversity Research, 2022, *Myristica iners* Blume, https://asianplant.net/Myristicaceae/Myristica_iners.htm, [diakses tanggal 18 Mei 2022]
- [3] Royal Botanic Garden. 2022, Royal Botanic Garden, Kew : *Myristica iners* Blume, <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:isid:ipni.org:names:586130-1> , [diakses tanggal 18 Mei 2022]
- [4] Fern, K. 2014. Useful Tropical Plants Database. *Myristica iners blume*, <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Myristica+iners>, [diakses tanggal 18 Mei 2022]
- [5] Taylor, W. A., 2012, *Inventory of Seeds and Plants Imported, United States* : Forgotten Books
- [6] Susilo, A., dan Denny. 2016. Keragaman Tumbuhan Dan Potensi Pemanfaatannya Di Kawasan Hutan Alam Sekunder RPH Cisujen KPH Sukabumi, Jawa Barat. *Pros Sem Nas Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 2(2), 256-262
- [7] Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia I-IV* (terjemahan: *de Nuttige planten van Indenesie*). Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan: Jakarta
- [8] Arifuddin, M., dan Mahfuzun Bone. 2020. Skrining Fitokimia dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Tumbuhan Antimalaria Asal Indonesia. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(3), 174-181
- [9] Triwahyuono, D. A., dan Nurul H. 2020. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.). *Journal of Chemistry : UNES* 9(1).
- [10] Novia, D., Agung G. S. Dan Nopri S. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Dan Infusa Daun Jati (*Tectona Grandis* L.S) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (Klt). *Jurnal Ilmiah Farmacy*, 7(2)

- [11] Sulistyarini, I., Diah A. S., dan Tony A. W. 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 5(1)
- [12] Edison, Andarini D., Nurul M. A., dan Mirna I. 2020. Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar *Sargassum plagyophyllum*. *JPHPI*, 23(1).
- [13] Dahlia, A. A., Rachmat K., dan Halija. 2013. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Fraksi Dietil Eter Beruwas Laut (*Scaevola taccada* (Gaertn.) Roxb.) Menggunakan DPPH. *As-syifaa : Jurnal Farmasi* 5(1), 62-71.
- [14] Purwanto, D., Syaiful B., dan Ahmad R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen : Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 24-32.