

**UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN RAMBUTAN
(*Nephelium lappaceum*) DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil)**

**FITOCHEMICAL TEST AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RAMBUTAN LEAVES
EXTRACT (*Nephelium Lappaceum*) WITH DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil)**

Fransiscus X. Rico Pangaribuan, Saibun Sitorus dan Chairul Saleh
Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Mulawarman

ABSTRACT

*Research about antioxidant test of rambutan leaves extract (*Nephelium lappaceum*) by using radical compound DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) has been carried out. This research aims to determine antioxidant activity level of rambutan leaves extract and to determine kind of secondary metabolites in it. Concentration used in rambutan leaves extract are 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm. Result of fitochemical shows that secondary metabolites in n-hexane extract were alkaloid and flavonoid, secondary metabolites in ethyl acetat extract were alkaloid, flavonoid and phenolic, secondary metabolites in ethanol extract were alkaloid and phenolic where as secondary metabolites in ethanol-water extract was phenolic. IC₅₀ value in each extract of n-hexane, ethyl acetat, ethanol and ethanol-water in a row were 56,48 ppm; 16,82 ppm; 25,47 ppm and 8,59 ppm. The highest antioxidant activity level was in ethanol-water.*

Keywords: *Nephelium lappaceum* Extract, Secondary Metabolites, Antioxidant, DPPH.

PENDAHULUAN

Perubahan pola hidup masyarakat berdampak pada munculnya berbagai penyakit degeneratif. Beberapa penyakit degeneratif berhubungan erat dengan radikal bebas diantaranya kanker, penyakit jantung dan pembuluh darah, pikun, katarak dan penurunan fungsi kognitif. Proses penuaan dini juga berhubungan dengan radikal bebas. Antioksidan dipercaya mampu untuk mencegah beberapa penyakit ini. Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh [1]. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner [2].

Rambutan (*Nephelium lappaceum*. L) merupakan salah satu tanaman buah yang banyak terdapat di Indonesia. Secara tradisional tanaman rambutan digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit, antara lain kulit buahnya untuk mengatasi disentri dan demam, kulit kayu untuk mengatasi sariawan, daun untuk mengatasi diare dan menghitamkan rambut, akar untuk mengatasi demam serta bijinya untuk mengatasi diabetes melitus[3].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun rambutan (*Nephelium*

lappaceum) dan mengetahui besarnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) terhadap radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam IC₅₀. Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidan peredaman radikal bebas adalah metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan radikal. Peneliti menggunakan daun rambutan karena pemanfaatan pada daun rambutan sebagai obat-obatan sangat kurang di masyarakat sehingga dilakukan penelitian pada daun rambutan untuk meneliti kandungan senyawa aktif yang memiliki senyawa antioksidan pada daun rambutan. Dengan adanya senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada daun rambutan maka dapat diolah menjadi obat-obatan dan digunakan dalam kehidupan masyarakat luas.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, corong kaca, gelas ukur 1000 mL, pipet tetes, serangkaian alat *rotary evaporator*, neraca analitik, sikat tabung, cawan petri, waterbath, spatula, tabung reaksi, labu ukur, rak tabung, pipet mikro, alat inkubasi 37°C, gelas kimia, kuvet dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) *n*-heksan, etil asetat, etanol, aquades, pereaksi Dragendroff, dietil eter, CH₃COOH anhidrat, H₂SO₄ pekat, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃ 1%, kapas, vaselin, aluminium foil, tissue, metanol pro analis, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl*) dan vitamin C.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel daun rambutan yang telah kering kemudian dimaserasi dengan cara peredaman sampel dengan pelarut etanol pada suhu ruang. Filtrat yang diperoleh disaring dengan corong kaca dan kertas saring lalu pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol.

Selanjutnya ekstrak kasar etanol tersebut difraksinasi dengan caranya sebagai berikut: ekstrak kasar etanol difraksinasi dengan *n*-heksana di dalam corong pisah sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi etanol dan fraksi *n*-heksana. Kemudian dilakukan penambahan *n*-heksana secara berulang kali hingga diperoleh fraksi *n*-heksana yang jernih. Fraksi *n*-heksana dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disebut sebagai ekstrak pekat fraksi *n*-heksana.

Selanjutnya fraksi etanol difraksinasi yaitu dilakukan penambahan etil asetat secara berulang hingga diperoleh fraksi etil asetat yang jernih. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disebut sebagai fraksi etil asetat.

Pada ekstrak kasar etanol fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat kemudian akan dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl* (DPPH) dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis.

Uji Fitokimia

Uji fotokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan fenolik.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Pembuatan larutan uji menggunakan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm. Larutan pembanding menggunakan Vitamin C (kontrol positif) dengan konsentrasi 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm, 12 ppm dan 15 ppm.

Larutan uji dan larutan kontrol positif, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM kemudian ditambahkan dengan metanol hingga 5 mL, homogenkan. Larutan blanko, larutan uji dan larutan vitamin C (pembanding) segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 516,9 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan yang diperoleh kemudian dicatat dan dihitung persen hambatan aktivitas radikal bebasnya. Perhitungan serapan yang diperoleh menggunakan rumus:

$$\% \text{ hambatan} = \frac{\text{Ab blanko} - \text{Ab sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Berat kering dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 200 gram. Sampel daun rambutan dimaserasi dengan menggunakan etanol. Selanjutnya disaring dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak total dari etanol. Selanjutnya dari ekstrak total etanol di fraksinasi dengan menggunakan pelarut organik *n*-heksana dan etilasetat. Dari masing-masing hasil fraksinasi kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Adapun berat dari masing-masing ekstrak total dan fraksinya diperoleh pada Tabel 1.

Tabel 1. Persen rendemen ekstrak etanol total, *n*-heksana, etilasetat dan etanol-air dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum*).

Ekstrak	Berat Botol Kosong (gr)	Berat Botol + Sampel (gr)	Berat Sampel (gr)	% Rendemen
Etanol Total	102	150	48	24%
Fraksi <i>n</i> -heksana	104,70	106,04	1,34	13,4%
Fraksi Etilasetat	101,50	106,65	5,15	51,5%
Fraksi Etanol Air	104,70	105,90	1,2	12%

Uji Fitokimia

Dari hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa di dalam ekstrak total etanol terdapat jenis senyawa alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin dan fenolik. Pada ekstrak fraksi *n*-heksana terdapat jenis senyawa

alkaloid, steroid, triterpenoid dan flavonoid. Pada ekstrak fraksi etilasetat terdapat jenis senyawa alkaloid, steroid, saponin, flavonoid dan fenolik. Pada ekstrak fraksi etanol-air terdapat jenis senyawa triterpenoid, saponin dan fenolik. Hasil uji fitokimia

dari masing-masing ekstrak dan fraksinya diperoleh pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia dari ekstrak etanol total, *n*-heksana, etilasetat dan etanol-air dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum*).

Metabolit Sekunder	Ekstrak Total	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak Etilasetat	Ekstrak Etanol-Air
Alkaloid	+	+	+	-
Steroid	+	+	+	-
Triterpenoid	+	+	-	+
Saponin	+	-	+	+
Flavonoid	-	+	+	-
Fenolik	+	-	+	+

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak total dan masing-masing fraksi dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas (DPPH). Pengujian dilakukan dengan menggunakan data absorbansi

yang telah diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum 516,9 nm. Nilai dari persen hambatan dan IC₅₀ pada masing-masing ekstrak diperoleh pada Tabel 3.

Tabel 3. Persen Hambatan dan Nilai IC₅₀ pada Ekstrak Etanol Total, *n*-heksana, Etilasetat dan Etanol-air dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum*).

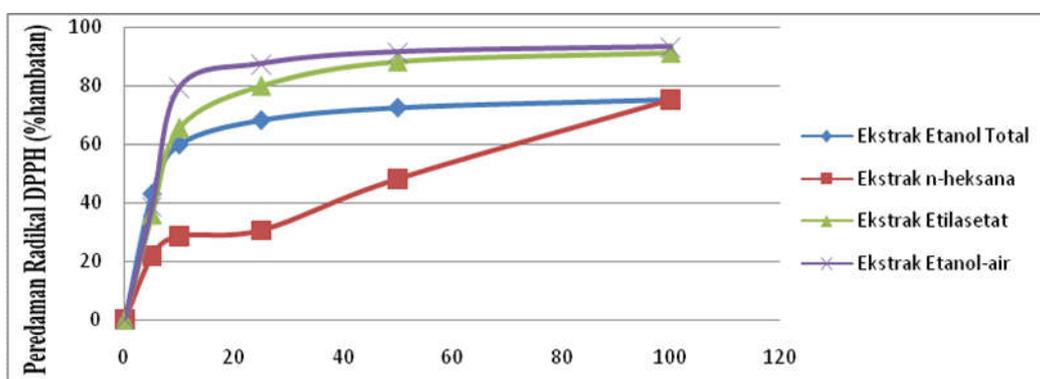
Ekstrak	Konsentrasi	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Hambatan	IC ₅₀ (ppm)
Etanol Total	5	0,398	0,227	42,965	25,47
	10		0,160	59,799	
	25		0,127	68,090	
	50		0,110	72,362	
	100		0,099	75,126	
<i>n</i> -heksana	5		0,311	21,859	56,48
	10		0,284	28,643	
	25		0,276	30,653	
	50		0,206	48,241	
	100		0,098	75,377	
Etilasetat	5		0,255	35,929	16,82
	10		0,137	65,578	
	25		0,080	79,899	
	50		0,047	88,191	
	100		0,035	91,206	
Etanol-Air	5		0,244	38,693	8,59
	10		0,082	79,397	
	25		0,050	87,437	
	50		0,034	91,457	
	100		0,027	93,216	
Vitamin C	3		0,142	64,321	3,619
	6		0,065	83,668	
	9		0,041	89,698	
	12		0,026	93,467	
	15		0,017	95,729	

Setelah diperoleh panjang gelombang optimumnya kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada sampel daun rambutan

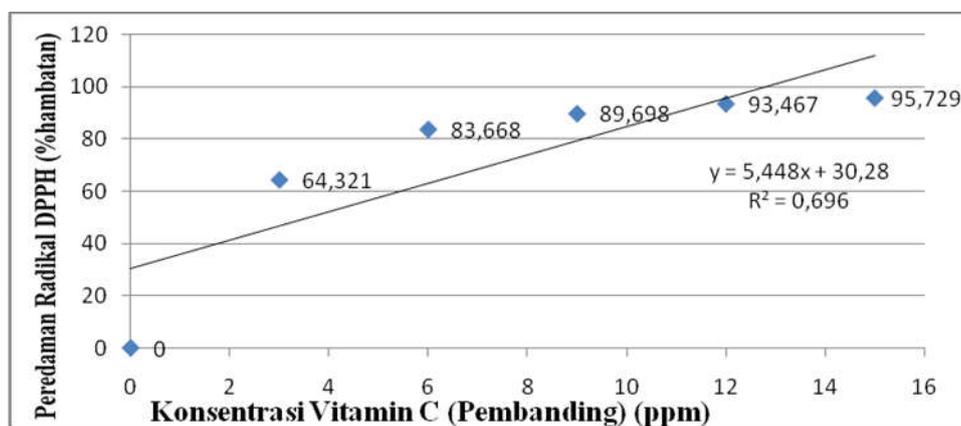
(*Nephelium lappaceum*). Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm. Untuk vitamin C

digunakan variasi konsentrasi yaitu 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm, 12 ppm dan 15 ppm. Dari hasil pengukuran dapat dihitung persen hambatan dan nilai IC_{50} dari daun rambutan (*Nephelium lappaceum*). Penentuan nilai IC_{50} menggunakan regresi linear sederhana dan diperoleh grafik persamaan regresi linear antara konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etilasetat, fraksi etanol-air dan vitamin C. Penurunan absorbansi DPPH diukur terhadap absorbansi kontrol yaitu larutan DPPH dalam etanol tanpa penambahan larutan uji. Penurunan absorbansi ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu DPPH menjadi kuning pada larutan uji. Ini menandakan terjadinya reaksi antara larutan uji

dengan senyawa radikal DPPH. Daya antioksidan ini disebabkan karena DPPH memiliki satu atom N yang elektronnya tidak berpasangan yang jika bereaksi dengan senyawa yang dapat meredam radikal bebas maka akan terjadi pengikatan satu elektron dengan elektron yang mendonorkan elektronnya membentuk *diphenylpicrylhydrazin*. Perubahan warna kuning dikarenakan jenis metabolit sekunder yang mempunyai sifat untuk meredam radikal bebas DPPH. Dengan semakin kecilnya nilai absorbansi maka akan semakin besar nilai persen hambatan pada larutan uji dan diperoleh nilai IC_{50} yang semakin kuat aktivitas antioksidannya.



Gambar 1. Grafik regresi linier antara kosentrasi dengan % Hambatan dari masing-masing ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum*)

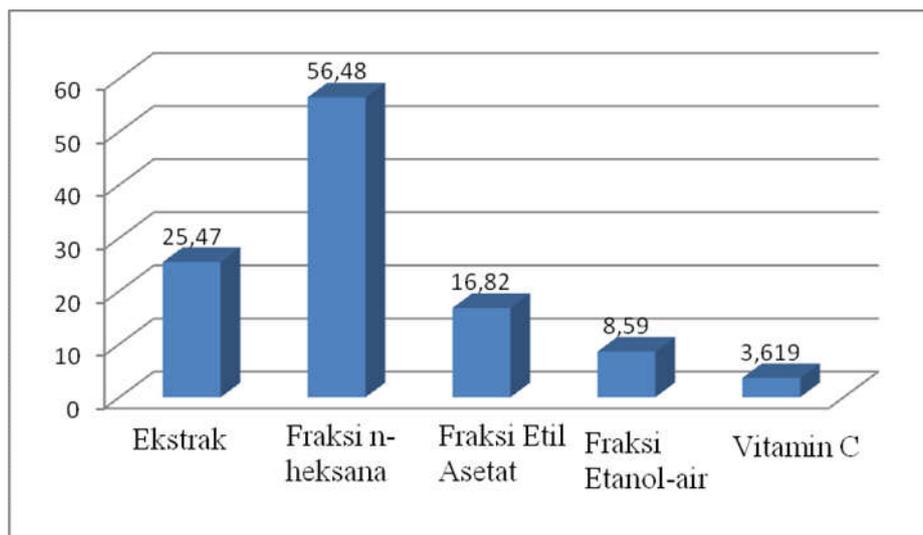


Gambar 2. Grafik regresi linier antara kosentrasi dengan % Inhibisi dari vitamin C (pembanding)

Berdasarkan penelitian nilai IC_{50} yang diperoleh pada masing-masing ekstrak etanol total, *n*-heksana, etilasetat dan etanol-air yaitu 25,47 ppm, 56,48 ppm, 16,82 ppm dan 8,59 ppm. Pada vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 3,619 ppm. Pada masing masing ekstrak dan fraksi memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar dari vitamin C, ini disebabkan sampel daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) bukan senyawa murni tetapi masih mengandung senyawa-

senyawa lain yang kemungkinan tidak memiliki aktivitas antioksidan. Bila semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas

Antioksidannya. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat jika nilai IC_{50} di antara 50-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} antara 101-150 ppm dan lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 151 ppm [4].



Gambar 3. Diagram nilai IC₅₀ pada ekstrak total etanol, *n*-heksana, etilasetat etanol-air dan vitamin C

Pada ekstrak total etanol, fraksi etilasetat dan fraksi etanol-air memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm. Sedangkan pada fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas antioksidan kuat karena masuk ke dalam kategori nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm. Sehingga dapat dikatakan pada ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) memiliki tingkat antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC₅₀ pada sampel daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) jika diurut berdasarkan kekuatan aktivitas antioksidannya maka yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu fraksi etanol-air > fraksi etilasetat > ekstrak etanol total > fraksi *n*-heksana dengan nilai IC₅₀ 8,59 ppm > 16,82 ppm > 25,47 ppm > 56,48 ppm. Sebagai larutan pembanding yang digunakan yaitu vitamin C. Vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,619 ppm. Vitamin C disebut juga antioksidan non enzimatis. Kerja antioksidan non enzimatis ini yaitu memotong reaksi oksidasi berantai atau dengan cara menangkapnya dari radikal bebas. Akibatnya radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Antioksidan primer merupakan antioksidan enzimatis. Disebut antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal sehingga senyawa radikal yang terbentuk berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.

KESIMPULAN

1. Jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing-masing ekstrak dan fraksinya yaitu pada ekstrak etanol total yaitu alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin dan fenolik. Pada fraksi *n*-

heksana jenis metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid, triterpenoid dan flavonoid. Pada fraksi etilasetat jenis metabolit sekunder yaitu alkaloid, steroid, saponin, flavonoid dan fenolik. Pada fraksi etanol-air triterpenoid, saponin dan fenolik.

2. Tingkat aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol total yaitu 25,47 ppm, fraksi *n*-heksana nilai IC₅₀ yaitu 56,48, fraksi etilasetat nilai IC₅₀ 16,82 ppm dan pada fraksi etanol-air nilai IC₅₀ yaitu 8,59 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hernani dan Rahardjo, M. 2006. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- [2] Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity, Medallion Laboratories: Analytical Progress* Vol 19 No. 2.
- [3] Masisworo, Sutanto, K., dan Anung, A., 1990. *Bertanam Rambutan*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- [4] Molyneux P. 2004. *The Use Of The Stable Free Radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant activity. Journal Science of thechnology* 26 (2): 211-219.