

ANALISIS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) DARI EKSTRAK DAUN BIDARA (*Ziziphus spina-christi L.*)

*(Analysis of Secondary Metabolite Compounds and Antioxidant Activity Test of Bidara Leaves (*Ziziphus spina-christi L.*) Extract)*

Nandang Safrudin¹ dan Fitri Nurfitasari²

¹Guru Kimia SMAN 1 Cikeusal Kabupaten Serang

²Jurusan Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten

ABSTRAK

Bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang mempunyai potensi mengobati berbagai macam penyakit. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis senyawa metabolit sekunder dari daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) dan menguji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH secara spektroskopi pada panjang gelombang 515 nm. Hasil analisis kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) menunjukkan bahwa daun bidara mempunyai kandungan alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol adalah: 211.83 ppm; 60.48 ppm; 33.48 ppm. Sebagai pembanding digunakan vitamin C memiliki nilai IC₅₀ sebesar 6.42.

Kata kunci: daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*), vitamin C, antioksidan, DPPH

ABSTRACT

*Bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) is one the plants in Indonesia that have potential to treat various diseases. This research was conducted to analyze the secondary metabolites of bidara leaves (*Ziziphus spina-christi L.*) and test the antioxidant activity. Measurement of antioxodant activity with DPPH method spectroscopy at a wavelength of 515 nm. The result of the analysis of the secondary metabolites in bidara leaves (*Ziziphus spina-christi L.*) The showed that the compound bidara leaves has a alkaloids, saponins, steroids, terpenoids and tanins. The antioxidant activity based on the IC₅₀ value extract of *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol are : 211.83; 60.84; 33.48 ppm. The As a comparison used vitamin C comparator has an IC₅₀ value of 6.42.*

Key words: bidara leaves (*Ziziphus spina-christi L.*), vitamin C, antioxidants, DPPH

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan dikenal mengandung berbagai golongan senyawa kimia tertentu sebagai bahan obat yang mempunyai efek fisiologis terhadap organisme lain atau sering

disebut sebagai senyawa bioaktif. Senyawa alam hasil isolasi dari tumbuhan juga digunakan sebagai bahan asal untuk sintesis bahan-bahan biologis aktif dan sebagai senyawa model untuk merancang senyawa baru yang lebih aktif dengan sifat toksik yang lebih rendah (Salni *et al.*, 2011).

Antioksidan dapat menangkap radikal bebas dan mendetoksifikasinya, Tumbuhan dapat menjadi sumber antioksidan yang potensial dan perlu dieksplorasi lebih lanjut untuk mendapatkan alternatif senyawa penangkap radikal yang aman dan mempunyai aktivitas besar (Kumaran, 2007).

Radikal bebas yang berlebihan dapat mengakibatkan penyakit, terutama kanker. Umumnya manusia pada keadaan normal memiliki antioksidan dalam tubuhnya, tetapi paparan radikal bebas yang berlebihan tidak mampu ditahan oleh tubuh, sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar (eksogen). Antioksidan eksogen biasanya berupa obat-obatan atau dari bahan sintesis, tetapi efek samping penggunaannya berbahaya sehingga pemanfaatan antioksidan dari bahan alami menjadi pilihan masyarakat (Rahayu *et al.*, 2015).

2. BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, peralatan maserasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, aluminium foil, oven, gunting, gelas ukur 10 mL, pipet volume 2 mL, pipet ukur 0.5 mL, gelas kimia 50 mL, penangas air, kertas saring, corong kaca, spatula, *rotary vacuum evaporator*, kuvet, dan Spektrofotometer.

Sampel daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) diambil didaerah Tegal Cabe, kecamatan Citangkil kota Cilegon. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquades, aquades panas, metanol, etil asetat, *n*-heksana, FeCl₃ 1%, HCl 2 M, H₂SO₄ pekat, pereaksi dragendorff, dan pereaksi wagner, DPPH.

Tahap Preparasi Sampel

Sampel daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) diambil dalam kondisi segar berwarna hijau. Sampel daun bidara dibersihkan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di ruangan terbuka selama 7 hari, setelah kering dipotong kecil-kecil.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Tahap Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Sebanyak 1000 g sampel daun bidara dimasukkan kedalam wadah kaca kemudian direndam dengan *n*-heksana sebanyak 6000 mL. Wadah kaca ditutup dan didiamkan selama 1 x 72 jam dengan dilakukan pengadukan. Kemudian hasil ekstrak disaring untuk memperoleh hasil filtrat dan sampel yang telah diekstrak, diekstrak kembali dengan pelarut etil asetat sebanyak 6000 mL dan didiamkan selama 1 x 72 jam dengan dilakukan pengadukan. Kemudian hasil ekstrak disaring, diekstrak kembali dengan pelarut metanol sebanyak 6000 mL dan didiamkan selama 1 x 72 jam dengan dilakukan pengadukan, kemudian dievaporasi pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

Tahap Uji Fitokimia

Uji alkaloid

Dilakukan dengan metode Wagner dan Dragendorff. Ekstrak kental daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) ditambah dengan 1 mL HCl 2 M dan 9 mL aquades dipanaskan selama 2 menit, didinginkan, dan kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing ditambah dengan pereaksi wagner dan dragendorff. Adanya endapan kemerahan menunjukkan positif mengandung alkaloid.

Uji saponin

Dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) dalam 10 mL air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, adanya saponin terbentuk buih yang tidak hilang selama 10 menit.

Uji terpenoid dan Steroid

Dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak kental daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) dilarutkan dengan kloroform, setelah itu ditambahkan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 mL, selanjutnya ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Adanya triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan, sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya cincin biru kehijauan.

Uji Tanin

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

Dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) dalam 10 mL aquades kemudian disaring dan filtrat ditambah dengan 3 tetes FeCl₃ 1%. Senyawa tanin ditunjukkan jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman, ungu, dan biru atau hitam pekat.

Uji Antioksidan Metode DPPH

Sebanyak 50 mg sampel dilarutkan dengan 50 mL metanol (1000 ppm) sebagai larutan induk. Dari larutan induk 1000 ppm dibuat deret standar dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100 ppm yang masing-masing direaksikan dengan DPPH. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit, kemudian serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 515 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sampel daun bidara yang sudah dipotong-potong sebanyak 1000 g diekstraksi dengan *n*-heksana. Etil asetat dan metanol menghasilkan 4,9391; 7,2592; dan 11,4480 g ekstrak kental. Alasan pemilihan maserasi bertingkat sebagai metode ekstraksi agar zat-zat yang terdapat dalam simplisia dapat terekstraksi dan dipisahkan berdasarkan perbedaan kepolarannya. Ekstraksi dengan pelarut *n*-heksana bertujuan untuk menarik senyawa non polar, etil asetat untuk menarik senyawa yang bersifat kurang polar (semi polar), dan metanol untuk menarik senyawa kimia yang bersifat polar.

Uji Fitokimia

Komponen yang terdapat pada daun bidara diidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dengan uji kualitatif dengan pereaksi khusus untuk golongan alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, dan tanin. disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun bidara

Uji Fitokimia	Ekstrak	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Metanol	Terbentuk endapan berwarna orange	+
	Etil asetat	Terbentuk endapan berwarna orange	+
	<i>n</i> -heksana	Terbentuk endapan berwarna orange	+
Triterpenoid	Metanol	Terjadi perubahan menjadi violet	+
	Etil asetat	Terjadi perubahan menjadi hijau biru	-
	<i>n</i> -heksana	Terjadi perubahan menjadi violet	+
Steroid	Metanol	Terjadi perubahan menjadi violet	-
	Etil asetat	Terjadi perubahan menjadi hijau biru	+
	<i>n</i> -heksana	Terjadi perubahan menjadi violet	-
Saponin	Metanol	Terbentuk buih	+
	Etil asetat	Terbentuk buih	+
Saponin	<i>n</i> -heksana	Tidak terbentuk buih	-
Tanin	Metanol	Terjadi perubahan menjadi hijau kehitaman	+
	Etil asetat	Terjadi perubahan menjadi kuning kehijauan	-
	<i>n</i> -heksana	Terjadi perubahan menjadi kuning	-

Hasil uji fitokimia dapat diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol, etil asetat, dan *n*-heksana daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). Senyawa metabolit sekunder yang positif terkandung dalam ekstrak daun bidara yaitu alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin.

Uji alkaloid pada uji wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Hasil positif alkaloid pada uji dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid.

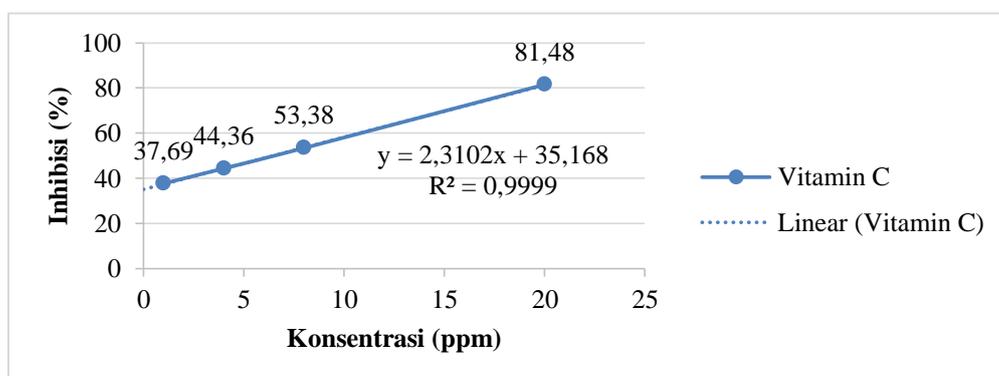
Uji saponin ekstrak metanol dan etil asetat dari daun bidara dengan menggunakan aquadest panas menunjukkan adanya busa yang dapat bertahan selama 10 menit sedangkan pada ekstrak *n*-heksana tidak menunjukkan adanya busa.

Uji terpenoid dan steroid dalam percobaan ini menggunakan uji Lieberman-Burchard (anhidrida asetat-H₂SO₄ pekat). Hasil positif terpenoid pada ekstrak metanol dan *n*-heksana yang memberikan perubahan warna violet, hasil positif steroid pada ekstrak etil asetat terjadi perubahan warna hijau biru.

Uji tanin menggunakan pereaksi besi (III) klorida. Ekstrak kental *n*-heksan, etil asetat, dan metanol masing-masing ekstrak ditambahkan larutan FeCl₃ 1%. Hasil yang diperoleh pada ekstrak metanol daun bidara adalah positif mengandung tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman. Sedangkan pada ekstrak etil asetat dan *n*-heksana tidak memberikan warna hijau kehitaman.

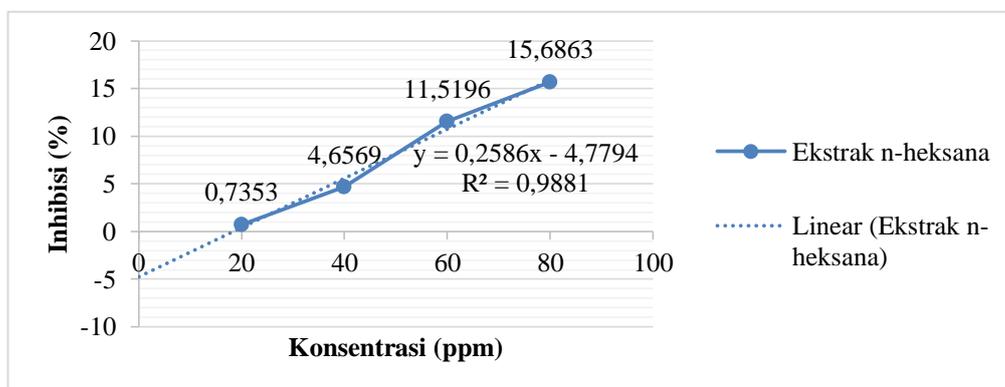
Uji Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kental *n*-heksana, etil asetat, dan metanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*) menggunakan peredaman radikal DPPH dan menggunakan larutan pembanding vitamin C.



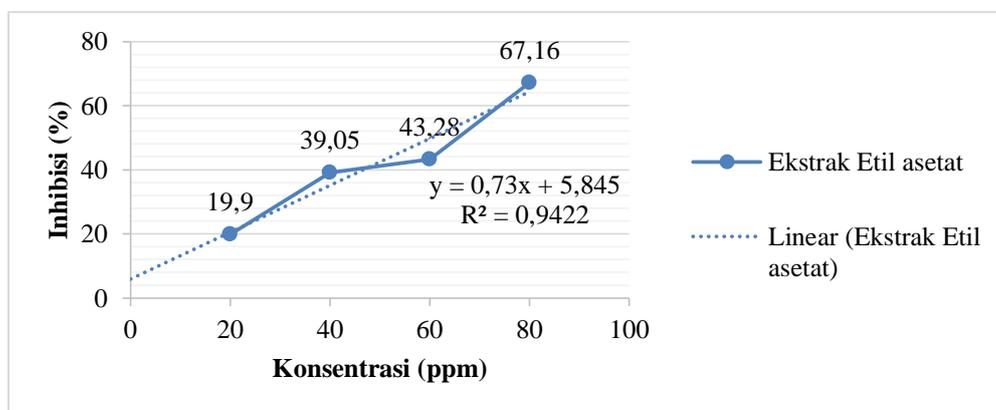
Gambar 1. Grafik (%) inhibisi DPPH dengan konsentrasi vitamin C

Hasil uji aktivitas antioksidan larutan pembanding vitamin C didapat nilai IC₅₀ sebesar 6.42 ppm, larutan pembanding tersebut memiliki nilai IC₅₀ yang rendah. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm. Hal ini dapat disebabkan karena vitamin C merupakan senyawa yang lebih murni dibandingkan dengan ekstrak-ekstrak yang diuji.



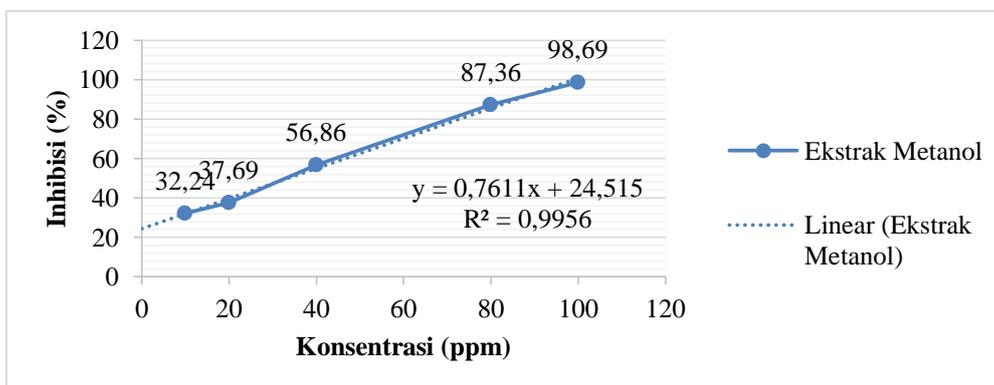
Gambar 2. Grafik (%) inhibisi DPPH dengan konsentrasi ekstrak *n*-heksana

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak *n*-heksana memiliki nilai penghambatan radikal yang lemah dibandingkan dengan ekstrak metanol dan etil asetat. Dimana nilai IC_{50} ekstrak *n*-heksana nilai IC_{50} 211.83 ppm. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan lemah jika bernilai IC_{50} 151-200 ppm (Holistic Health Solution, 2011).



Gambar 3. Grafik (%) inhibisi DPPH dengan konsentrasi ekstrak etil asetat

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat memiliki nilai penghambatan radikal yang kuat dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksana. Dimana nilai IC_{50} ekstrak etil asetat nilai IC_{50} 60.48 ppm. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan antioksidan kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 ppm. (Holistic Health Solution, 2011).



Gambar 4. Grafik (%) Inhibisi DPPH dengan Konsentrasi Ekstrak Metanol

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol memiliki nilai penghambatan radikal yang kuat dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan *n*-heksana. Dimana nilai IC_{50} ekstrak metanol 33.48 ppm. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm (*Holistic Health Solution*, 2011).

4. KESIMPULAN

Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol memiliki nilai penghambatan radikal yang kuat dimana nilai IC_{50} ekstrak metanol 33.48 ppm dan ekstrak metanol terkandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, terpenoid, saponin, dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zlbethinus Murr*) Varietas Petruk. Surakarta: Seminar Nasional Kimia IV.
- Astarina NWG, Astuti KW, & Wardianti NK. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb*). Jurnal farmasi Udayana 2(4): 26-31.
- Baud GS, MS Sangi, & HSJ Koleangan. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W.1, & Warditiani NK. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). Bali: Universitas Udayana.

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

- Harborne JB. 2006. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi kedua, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Holistic Health Solution. 2011. Khasiat Fantastis Kulit Manggis. Grasindo, Jakarta : 17-71
- Iskandar Y dan Susilawati Y. 2012. Panduan Praktikum Fitokimia. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran: Jatinangor.
- Kumaran A and Karunakaran RJ. 2007. *Antioxidants Activities of Methanol Extracts of Five Phyllanthus urinaria, Food and Chemical Toxicology*. 46: 2485-2492.
- Marlinda, M., Sangi MS, & Wuntu AD. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill*). Jurnal MIPA UNSRAT Online. 1(1): 24-28.
- Padmasari, Astuti KW, & Warditiani NK. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb*). Jurnal Farmasi Udayana 2 (4): 1-4.
- Pambayun R, Gardjito M, Sudarmadji S, & Kuswanto KR. 2007. Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (*Uncaria gambir Roxb*). Majalah Farmasi Indonesia, 18 (3).
- Praptiwi, Puspa Dewi, & Mindarti Harapini. Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas *Diphenyl Picril Hydrazil Hydrate* (DPPH) Ekstrak Metanol Knema laurina. Majalah Farmasi Indonesia, 17(1): 32 –36.
- Rahayu S, Kurniasih N, Amalia V. 2015. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. Bandung: UIN Sunan Gunung Djati Vol. 2(1): 1-8.
- Salni, Hanita M, & Ratna WM. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (*Pithcolobium lobatum Benth*) dan Penentuan Nilai KHM-nya. FMIPA. Universitas Sriwijaya. Volume 14 No. 1(D) 14109. Jurnal Penelitian Sains (diakses 27 april 2014).
- Sundari I. 2010. Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus L.*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Tomahayu RT. 2014. Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) [Tesis]. Universitas Negeri Gorontalo.
- Ukhrowi U. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mamosa*) Terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida : Studi

pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium* [Tesis]. Semarang:
49 Universitas Diponegoro.