

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FENOLIK EKSTRAK METANOL
KULIT BATANG TUMBUHAN NYIRI BATU (*Xylocarpus moluccensis*)**

**ACTIVITY ANTIOXIDANT TEST OF PHENOLIC COMPOUND METHANOL
EXTRACT FROM STEM BARK NYIRI BATU (*Xylocarpus moluccensis*)**

Ade Aprilia Surya Putri* dan Nurul Hidajati

*Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
State University of Surabaya*

Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, e-mail: ade.aprilia@ymail.com

Abstrak. Tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) merupakan salah satu tumbuhan famili Meliaceae yang telah dikenal dan dimanfaatkan sebagai insektisida, antibakterial dan antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu serta aktivitas antioksidan dari ekstrak tersebut. Pada penelitian ini sampel di ekstraksi dengan cara maserasi. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia, uji pendahuluan antioksidan, dan uji aktivitas antioksidan.. Pada uji fitokimia ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) menunjukkan hasil positif mengandung senyawa fenolik dengan pereaksi $FeCl_3$, flavonoid dengan Shinoda test, dan saponin dengan metode Forth. Sedangkan hasil negatif ditunjukkan pada senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Wagner. Uji kualitatif aktivitas antioksidan menunjukkan hasil positif dengan metode KLT Autografi. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menunjukkan hasil persen peredaman diperoleh nilai IC_{50} sebesar 26,189 ppm dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, ekstrak metanol, nyiri batu.

Abstract. Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*) is one of the plant family Meliaceae were known and used as an insecticide, antibacterial, and antifungi. The aims of this research are to know the group of compound that containing in the methanol extract of stem bark nyiri batu's (*Xylocarpus moluccensis*) and to determine it's antioxidant activity from this extract. In this research sample is extracted by means of maceration, preliminary test the antioxidant activity and antioxidant activity test. The result obtained from the maceration weight methanol extract stem bark of nyiri batu's (*Xylocarpus moluccensis*) of 1678,7 grams. In phytochemical test methanol extract of stem bark nyiri batu's (*Xylocarpus moluccensis*) show positive results phenolic compounds containing with $FeCl_3$, flavonoid with Shinoda test, and saponin with Forth method. While negative results show to compound an alkaloid with Mayer, Dragendorf, Wagner reagent. Qualitative test antioxidant activity shown positive result with TLC Autography method. Antioxidant activity test uses DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method shown the result obtained percent reduction IC_{50} value 26,189 ppm as much it can be concluded that methanol extract of stem bark nyiri batu's (*Xylocarpus moluccensis*) having antioxidant activity with the category of very strong because the value of $IC_{50} < 50$ ppm.

Keywords: antioxidant activity, methanol extract, nyiri batu.

PENDAHULUAN

Tumbuhan yang berpotensi sebagai obat yang telah dibudidayakan dewasa ini masih sangat sedikit. Oleh karena itu hutan Indonesia masih merupakan plasma nutfah tumbuhan berkhasiat obat yang potensinya perlu digali secara sungguh-sungguh [1]. Istilah antioksidan saat ini sudah tidak asing lagi di telinga masyarakat Indonesia, karena antioksidan diketahui memiliki pengaruh positif bagi kesehatan manusia terutama kemampuannya dalam menetralsir dampak negatif dari radikal bebas.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam [2].

Tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) merupakan salah satu spesies tumbuhan mangrove yang banyak ditemukan di Indonesia. Tumbuhan ini dapat tumbuh di daerah pasang surut, pematang sungai, serta sepanjang sungai. Pada penelitian sebelumnya tumbuhan ini telah banyak digunakan sebagai insektisida nabati, antibakteri dan antifungi.

Aktivitas antioksidan dari isolat dan ekstrak metanol tumbuhan bakau merah belum pernah dilaporkan sehingga peneliti tertarik melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*). Pemilihan ekstrak metanol dengan pertimbangan bahwa mengingat sifatnya yang polar sehingga mampu mengikat senyawa fenolik. Pelarut tersebut bersifat melarutkan senyawa golongan metabolit sekunder dari yang kurang polar sampai dengan polar.

Pada penelitian ini peneliti menguji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana cepat, dan mudah untuk *screening* aktivitas antioksidan dari bahan makanan atau ekstrak suatu tumbuhan. Uji aktivitas antioksidan dipilih karena selama ini pengetahuan mengenai aktivitas antioksidan dari tumbuhan nyiri batu sangat kurang.

METODE PENELITIAN

Alat

Spektrofotometer UV-Vis, Seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, seperangkat alat penyaring Buchner, *rotary vacuum evaporator* (Buchi Switzerland R-215), pompa vakum, timbangan digital, corong pisah, alat penyemprot, pipet tetes, pipet volume, pelat tetes, dan peralatan gelas (gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, Erlenmeyer, corong kaca, kaca arloji, dan cawan petri, tabung reaksi), spatula

Bahan

Serbuk kulit batang tumbuhan nyiri batu, metanol teknis, metanol p.a, HgCl₂, KI, Bi(NO₃)₃, I₂, NH₃ pekat., H₂SO₄ 2N, FeCl₃, HCl pekat, pita Mg, aquades, dan DPPH.

Prosedur Penelitian

Pengumpulan dan Penyiapan Sampel

Sampel tumbuhan yang berupa kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) diperoleh dari daerah Sedati, Sidoarjo, Jawa timur dan telah diidentifikasi terlebih dahulu di Herbarium, LIPI, Pasuruan, Jawa timur. Selanjutnya, sampel dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel, dipotong-potong sampai berukuran kecil, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering digiling menjadi serbuk halus siap untuk diekstraksi.

Tahap Ekstraksi

Serbuk halus dari kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) seberat 2,5 kg dimaserasi berturut-turut dengan menggunakan pelarut metanol teknis masing-masing sebanyak 20 liter. Maserasi ini dilakukan dengan merendam sampel menggunakan pelarut pada suhu kamar selama 24 jam dan diulangi sebanyak 3 kali.

Hasil maserasi dengan pelarut metanol teknis disaring secara vakum dengan menggunakan penyaring Buchner sehingga diperoleh ekstrak metanol dan residu. Ekstrak

yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sampai menghasilkan ekstrak metanol kulit batang kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*).

Tahap Uji Fitokimia

Uji Kandungan Alkaloid

Sebanyak 2 gram ekstrak dilarutkan dengan metanol dan amonia sampai pH 8-9 kemudian disaring. Filtrat yang didapatkan ditambah dengan 2 mL H₂SO₄ 2N dan dikocok hingga membentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas (asam sulfat) dan lapisan bawah. Kemudian lapisan atas dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing 5 tetes dan diletakkan pada tabung reaksi. Setelah itu masing-masing tabung reaksi ditetesi dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Jika hasil pengujian berturut-turut terbentuk endapan berwarna putih, coklat, dan merah atau jingga maka sampel mengandung alkaloid [3].

Uji Kandungan Saponin

Uji kandungan saponin dilakukan dengan metode *Forth*. Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambah dengan 5 ml aquades kemudian dipanaskan. Hasil positif senyawa saponin jika terbentuk buih yang tidak hilang selama 2-4 menit [3].

Uji Kandungan Flavonoid

Uji kandungan flavonoid dilakukan dengan *Shinoda test*. Pita Mg diletakkan di plat tetes dan ditambah 1 tetes HCl pekat. Setelah itu ditetesi dengan ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol. Hasil positif senyawa flavonoid jika terbentuk warna oranye, merah atau biru [3].

Uji Kandungan Fenolik

Sebanyak 1-2 tetes ekstrak dimasukkan ke dalam plat tetes dan ditambah 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Hasil positif jika terbentuk warna hijau, hitam kebiruan atau hitam yang kuat [3].

Tahap Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu

Tahap uji kualitatif aktivitas ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) adalah sebagai berikut: ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu dilarutkan dalam metanol teknis. Selanjutnya ditotolkan pada plat KLT, dibiarkan sebentar sampai mengering. Kemudian disemprotkan larutan DPPH 0,004% pada plat KLT, dibiarkan selama 30 menit [4].

Tahap Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu

Tahap uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) adalah sebagai berikut: membuat larutan induk dengan cara melarutkan 0,1 gram ekstrak etil metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) dengan metanol p.a di dalam labu ukur 100 mL. Membuat larutan uji dari larutan induk pada variasi konsentrasi 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm, diambil sebanyak 300 µl dari masing-masing variasi larutan berkonsentrasi lalu dimasukkan kedalam vial berwarna gelap dan ditambah sebanyak 3 ml larutan DPPH 0,004 %, dikocok dengan kuat dan dibiarkan selama 30 menit di ruangan gelap. Kemudian diukur absorbansinya pada λ maks 517 nm. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap kontrol dimana larutan sampel diganti dengan metanol. Selanjutnya ditentukan harga % peredaman (%P) absorbansi larutan DPPH serta harga IC₅₀. Harga %P ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% P = \frac{A_K - A_S}{A_K} \times 100\%$$

Keterangan:

A_K = Absorbansi kontrol

A_S = Absorbansi sampel

% P = Persen peredaman absorbansi larutan DPPH

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Tahap Ekstraksi

Hasil dari proses maserasi berupa filtrat ekstrak metanol kulit batang tumbuhan. Kemudian filtrat hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* menghasilkan ekstrak metanol sebesar 1678,7 gram.

Hasil Uji Fitokimia Kandungan Kimia

Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu yang telah diperoleh kemudian diidentifikasi dengan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu. Uji yang dilakukan adalah uji alkaloid, uji saponin, uji flavonoid, dan uji fenolik. Hasil uji kualitatif ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Kualitatif terhadap Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*)

Uji Kandungan	Hasil Uji Ekstrak	Simpulan
Alkaloid :		
- Reagen Mayer	Tidak Ada Endapan Putih	-
- Reagen Dragendorff	Tidak Ada Endapan Jingga	-
- Reagen Wagner	Tidak Ada Endapan Coklat	-
Saponin	Berwarna jingga	+
Fenolik	Berwarna hitam pekat	+
Flavonoid	Berwarna orange	+

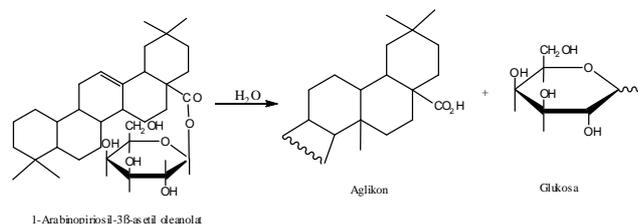
Hasil Uji Alkaloid

Uji kandungan senyawa alkaloid menunjukkan hasil negatif dengan menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat), pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), dan pereaksi Wagner (iodium dalam kalium).

Hasil Uji Saponin

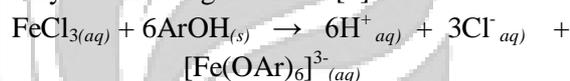
Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu memberikan hasil positif karena timbul buih yang tidak hilang selama 2-4 menit dengan mereaksikan sampel dengan

aquades kemudian dipanaskan. Pada uji saponin menggunakan metode *Forth*. Reaksi pembentukan buih pada uji saponin dinyatakan sebagai berikut [5]:



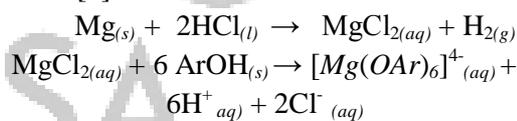
Hasil Uji Fenolik

Uji kualitatif senyawa fenolik ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu dengan menggunakan larutan FeCl_3 menunjukkan warna hitam kecoklatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tersebut termasuk ke dalam golongan senyawa fenolik. Larutan ekstrak berubah warna menjadi hitam kecoklatan. Persamaan reaksinya dapat dinyatakan sebagai berikut [6]:



Hasil Uji Flavonoid

Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu memberikan hasil positif dengan pereaksi *shinoda test* karena menghasilkan warna jingga. Hal ini dikarenakan terbentuknya kompleks $[\text{Mg}(\text{OAr})_6]^{4-}$. Persamaan reaksinya dapat dinyatakan sebagai berikut [7]:



Hasil Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu

Uji Kualitatif aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu secara kualitatif dengan metode KLT Autografi. Pada pengujian ini ekstrak metanol memberikan hasil positif ditunjukkan dengan adanya noda kuning berlatarkan warna ungu, karena sampel mampu meredam radikal bebas DPPH atau memiliki aktivitas antioksidan. Peredaman warna DPPH terjadi karena adanya

senyawa yang dapat memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazil) sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-diphenil-2-pikrilhidrazin).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu

Dalam uji aktivitas antioksidan digunakan 5 variasi konsentrasi sampel yaitu 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm. Akan tetapi dalam pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis hanya didapatkan 3 variasi konsentrasi sampel yang menunjukkan hasil absorbansi yaitu sampel dengan konsentrasi 10, 25, dan 50 ppm. Sedangkan 2 variasi lainnya yaitu 75 dan 100 ppm tidak menampilkan puncak sehingga tidak diperoleh nilai absorbansi. Hasil data uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu ditunjukkan pada Tabel 3.

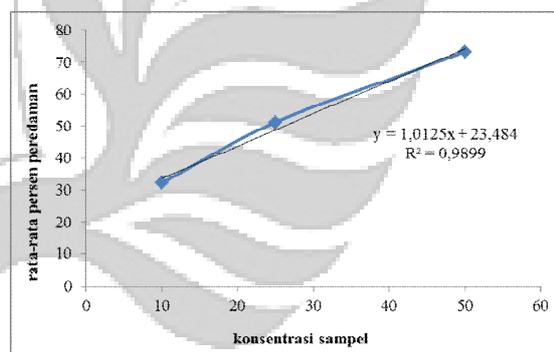
Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*).

No.	Kons. Sampel (ppm)	Nilai Abs.	% P	Rata-rata %P
1.	0	0,913	0	0
	0	0,913	0	
	0	0,913	0	
2.	10	0,678	28,129	32,129
	10	0,602	37,309	
	10	0,655	30,951	
3.	25	0,456	54,824	51,159
	25	0,520	47,146	
	25	0,521	51,507	
4.	50	0,305	72,939	73,219
	50	0,317	71,499	
	50	0,286	75,218	

Pada pengujian aktivitas antioksidan senyawa DPPH ditangkap oleh senyawa antioksidan yang melepas radikal hidrogen sehingga membentuk DPPH-H tereduksi. DPPH yang menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk diamagnetik yang stabil [10].

Pada konsentrasi 75 dan 100 ppm warna yang dihasilkan dengan larutan DPPH 0,004% yakni warna kuning. Adanya perubahan warna ini mengakibatkan adanya perbedaan rentang panjang gelombang 400-600 nm. Sampel dengan konsentrasi tersebut telah menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH yang dibuktikan dengan perubahan warna menjadi kuning. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu tidak bisa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan begitu pula dengan konsentrasi 100 ppm.

Berdasarkan hasil analisis regresi linier hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol dengan persen peredaman absorbansi DPPH diperoleh persamaan regresi $y = 1,0125x + 23,484$. Berdasarkan hasil yang diperoleh (Gambar 1) dari persamaan regresi linier kemudian dapat menentukan harga IC_{50} . Dari hasil perhitungan diperoleh harga IC_{50} sebesar 26,189 ppm.



Gambar 1. Grafik % Peredaman

Berdasarkan tabel 4 kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) termasuk golongan sangat kuat.

Tabel 4. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH [9]

Intensitas Antioksidan	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
Lemah	250-500 ppm

Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah sifatnya yang mudah rusak bila terpapar oksigen, cahaya, suhu tinggi, dan pengeringan.

PENUTUP

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) mengandung senyawa fenolik golongan flavonoid, dan saponin. Ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu memiliki potensi sebagai antioksidan memiliki potensi sebagai antioksidan dengan kategori sangat reaktif dengan nilai IC₅₀ sebesar 26,189 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Isnindar., Subagus Wahyuono., dan Erna Prawita Setyowati. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (Diospyros kaki Thunb.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-1-pikrilhidrazil)*. Majalah Obat Tradisional. Vol. 16. No. 3. Hlm. 157-164.
2. Kunchahyo, Ilham., dan Sunardi. 2007. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi, L) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH)*. Seminar Nasional Teknologi 2007. Yogyakarta.
3. Suyani, H. 1991. *Kimia Sumber Daya Alam*. Padang: Universitas Andalas.
4. Blois, M.S, 1958. Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical. *Nature*. 181: 1199-1200.
5. Noor, Y.R., Khazali, M., Suryadiputra, I.N.N. 1999. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Bogor: PHKA/WI-IP.
6. Hudaya, Susiana Prasetyo, dan Anastasia Prima Kristijarti. 2013. *Laporan Penelitian Ekstraksi, Isolasi, Dan Uji Keaktifan Senyawa Aktif Buah Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa) Sebagai Pengawet Makanan Alami*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. Universitas Katolik Parahyangan. Bandung.
7. Marlina, S.D. Suryani, V., dan Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol*. *Biofarmasi*. 3(1), 26-31.
8. Markham, K.R ., dan Wallace, J.W. 1988. *C-Glycosylxanthone and Flavonoid Variation within Filmy-Ferns (Hymenophyllaceae)*. *Phytochemistry*. 19(3), 415-420.
9. Suratmo. 2009. *Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum) sebagai Antioksidan*. <http://fisika.brawijaya.ac.id/>.
10. Armala, M. M. 2009, Daya Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Herba Kenikir (*Cosmos caudatus* H.B.K) dan Profil KLT. *Kripsi*, 39, Fakultas Farmasi. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.