

ANALISIS FITOKIMIA DAN ANTIOKSIDAN METODE DPPH EKSTRAK METANOL DAUN SALAM (EUGENIA POLYANTHA)

Anjas Wilapangga¹, Lina Puspita Sari²
^{1,2}Laboratorium Terpadu, Universitas Esa Unggul
Jalan Arjuna Utara No.9, Kebon Jeruk, Jakarta Barat - 11510
anjaswilapangga@yahoo.com

Abstract

Daun Salam contains essential oil (sitral and eugenol), tannins and flavonoids. This research aims to understand the test results of Phytochemical and antioxidant activity. Daun Salam (Eugenia polyantha) extracted in maceration with methanol. Extract and tested Phytochemical and antioxidant activity of DPPH method. Results of the study showed extracts of leaves (Eugenia polyantha) have chemical contents, namely alkaloids, flavonoids, saponins, steroids, these terpenoids and tannins, test method of DPPH antioxidant activity of sample extract with the bay leaf in the get the value of IC-50 amounted to 19.97 ppm.

Keywords: Daun salam, phytochemicals, antioxidants

Abstrak

Daun Salam mengandung minyak atsiri (sitral dan eugenol), tanin dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji fitokimia dan aktivitas antioksidan. Ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) diekstraksi secara maserasi dengan metanol. Ekstrak dipisahkan dan diuji fitokimia dan aktivitas antioksidan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) mempunyai kandungan kimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid dan tanin, Uji aktivitas antioksidan metode DPPH dengan sampel ekstrak daun salam di dapatkan nilai IC-50 sebesar 19,97 ppm.

Kata kunci : Daun salam, fitokimia, antioksidan

Pendahuluan

Tuntutan jaman yang serba cepat, kesibukan bekerja menjadikan sebagian masyarakat kita lebih menyukai pola makan serba instan. Seringnya mengkonsumsi makanan instan ini berdampak negative terhadap kesehatan . Ini disebabkan karena makanan instan kebanyakan mengandung pengawet, pewarna, pemberi rasa, tinggi lemak, tinggi protein, banyak gula, garam namun rendah serat. Pola makan ini menjadi pemicu timbulnya berbagai penyakit degenerative seperti tekanan darah tinggi, diabetes mellitus, jantung koroner, stroke, obesitas hingga kanker (Sutomo, 2007). Makanan tertentu seperti makanan cepat saji (fast food), makanan kemasan, makanan kalengan juga ditengarai berpotensi meninggalkan racun dalam tubuh karena kandungan lemak, pengawet serta sumber radikal bebas (Sibuea, 2004).

Metodologi Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan universitas Esa Unggul. Mulai Dari Bulan Desember sampai Maret 2017-2018

Bahan dan Alat

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi: Daun salam, methanol pa,air suling dan DPPH.

Alat

Alat-alat yang digunakan meliputi: Gelas Piala, tabung reaksi, Saringan, Rotary Evaporator, Neraca analitik, pipet volumetri, kertas kalkir, inkubator, Labu takar, pipet tetes, vortex, spektrofotometer UV-VIS dan alat gelas lainnya.

Ekstraksi

Ekstraksi Daun Salam menggunakan pelarut methanol. Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Sebanyak 1000 gram daun salam yang sudah dikeringkan kemudian di cacah kecil-kecil dimasukkan kedalam beaker gelas kemudian ditambahkan pelarut hingga 1000 mL. Maserasi dilakukan selama 7 hari kemudian dipisahkan dengan rotary evaporator. Untuk menghilangkan pelarutnya.

Pemeriksaan Alkaloid

Sampel sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) dilarutkan dalam 2 mL HCl 2 % (v/v), kemudian

dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditetesi dengan pereaksi Dragen droff sebanyak 2-3 tetes. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga atau orange. (Farnsworth, 1966).

Pemeriksaan Flavonoid

Sampel sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) dilarutkan dalam 2 mL metanol, kemudian ditambah serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga. (Depkes RI, 1989).

Pemeriksaan Saponin

Sampel sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) dilarutkan dalam akuades pada tabung reaksi dan dikocok selama 15 menit. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm lebih dan tetap stabil selama 15 menit. (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Steroid

Sebanyak 2 mL sampel ($\pm 0,05\%$ b/v) ditambah dengan pereaksi Liebermann Burchard 1 mL. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warnahijau atau biru.

Pemeriksaan Terpenoid

Sampel sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) ditambah dengan pereaksi Liebermann-Burchard 1 mL. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu.

Pemeriksaan Tanin

Sampel sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) dilarutkan dalam akuades 10 mL dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat ditambah 4-5 tetes FeCl_3 2,5% (b/v). Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman

Uji Antioksidan Metode DPPH

Preparasi pembuatan larutan induk untuk antioksidan (1000 ppm)

1. Larutan induk contoh $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan cara menimbang sampel sebanyak 25 mg
2. Kemudian dilarutkan dengan metanol (p.a) dalam labu takar 25 mL keemudian dihomogenkan

Pembuatan Larutan DPPH 0,5 mM

Serbuk DPPH 4,9 mg dilarutkan dengan methanol kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, volumenya dicukupkan dengan methanol.p.a sampai tanda batas (DPPH 0,5 M).

Pembuatan Larutan standar vit C

Senyawa vit C ditimbang sebanyak 5,0mg dilarutkan ke dalam metanol.p.a hingga 100,0 mL. Larutan tersebut diambil sebanyak 0,2; 0,4; 0,8; 1,0; 1,2; 1,6 dan 2,0mL lalu ditambah dengan metanol p.a hingga 10,0mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar rutin sebesar 1, 2, 4, 5, 6, 8, dan $10\mu\text{g/mL}$

Sampel

1. Larutan induk pada buret semimikro, diturunkan sebanyak 0,1 mL; 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL ke dalam labu takar 25 mL
2. Kemudian ditambahkan 5 mL larutan DPPH (Larutan berwarna Ungu) dan ditambahkan metanol hingga tanda batas
3. Masing-masing sampel diukur pada spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm
4. Kemudian dihitung nilai % inhibisi

Blanko

1. 5 mL DPPH dimasukkan kedalam tabung reaksi
2. Kemudian ditambahkan metanol hingga 5 mL atau sampai tanda batas

Catatan : masing-masing tabung reaksi ditutup menggunakan tutup kapas, hal ini dilakukan untuk mencegah pelarut metanol menguap

Penentuan Persen Peredaman

Penentuan persen pemerangkapan radikal bebas oleh sampel uji ekstrak etanol daun salam, menggunakan metode pemerangkapan radikal bebas 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), yaitu dihitung dengan menggunakan rumus (Andayani, *et al.*, 2008) :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{A_{\text{Blanko}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A Blanko = Absorbansi Tidak mengandung sampel
A Sampel = Absorbansi Mengandung Sampel

Penentuan Nilai IC50

Nilai IC50 merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/mL}$) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu meredam proses oksidasi DPPH sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi ($Y=AX+B$) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai kordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik,

suatu senyawa dikatakan sebagai anti oksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC50 bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC50 bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika IC50 bernilai 151-200 ppm (Mardawati, et al., 2008).

Hasil dan Pembahasan Ekstraksi

Sebanyak 1000 gram serbuk simplisia Daun Salam dimaserasi sebanyak 3 kali pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut methanol masing-masing 500 ml hingga tersaring sempurna. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan vakum rotavapor. Ekstraksi dilakukan

dengan metanol dimaksudkan agar semua senyawa tersari dengan baik, karena methanol merupakan pelarut yang bersifat universal dan dapat mengekstraksi semua senyawa metabolit.

Hasil Rendeman

Hasil ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya ditimbang bobotnya dan dibandingkan dengan simplisia awal yang digunakan. Perbandingan dalam persen menyatakan nilai rendeman dari ekstrak tersebut. Nilai rendeman ekstrak methanol daun salam didapat 27.03%.

Tabel 1
Hasil Uji Fitokimia

Skrining Fitokimia	Hasil Positif Menurut Pustaka	Hasil Yang diperoleh	Kesimpulan
Alkaloid	Terbentuk Endapan Putih (Pereaksi Mayer)	Terbentuk Endapan Putih	+
Flavonoid	Terbentuk Warna merah Tua	Terbentuk Warna merah Tua	+
Saponin	Terbentuk Buih Yang stabil	Terbentuk Buih Yang stabil	+
Steroid	Terbentuk warna biru kehijauan	Tidak Terbentuk warna biru kehijauan	-
Terpenoid	Terbentuk warna kecoklatan atau Violet	Terbentuk warna kecoklatan atau Violet	+
Tanin	Terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan	Terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan	+

Uji Fitokimia

Alkaloid

Hasil yang diperoleh dari analisis senyawa alkaloid pada pereaksi mayer yaitu terbentuk endapan putih. Sehingga diketahui bahwa daun salam positif mengandung alkaloid. Prinsip dari metode ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Menurut Sastroamidjojo (1996), metode ini memiliki kelemahan yaitu pereaksi-pereaksi tersebut tidak saja dapat mengendapkan alkaloid tetapi juga dapat mengendapkan beberapa jenis senyawa antara lain, protein, kumarin, α -piron, hidroksiflavin, dan tanin. Reaksi tersebut dikenal dengan istilah "false positive".

Flavonoid

Dari hasil analisis diketahui bahwa daun salam positif mengandung senyawa flavonoid. Daun salam yang digunakan dilarutkan dengan pelarut methanol kemudian dipanaskan. Pemanasan dilakukan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat larut dalam air panas. Hasil yang diperoleh dari analisis senyawa flavonoid ini adalah terbentuk warna merah tua setelah ditetesi HCl dan bubuk Mg. Menurut Robinson (1995), warna merah

yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium.

Saponin

Hasil yang diperoleh dari analisis senyawa saponin ini adalah bahwa daun salam mengandung saponin. Saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid dan triterpenoid sebagai gugus nonpolar. Senyawa yang memiliki gugus polar dan non polar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus polar menghadap keluar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap kedalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa, karena itu dalam analisis ini dilihat kemampuan sampel dalam membentuk busa.

Steroid dan Triterpenoid

Pada analisis ini diperoleh bahwa daun salam negative mengandung steroid dan positif mengandung triterpenoid. Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat glasial. Hasil yang diperoleh pada analisis

triterpenoid yaitu terbentuk warna kecoklatan sedangkan pada analisis steroid terbentuk warna biru kehijauan

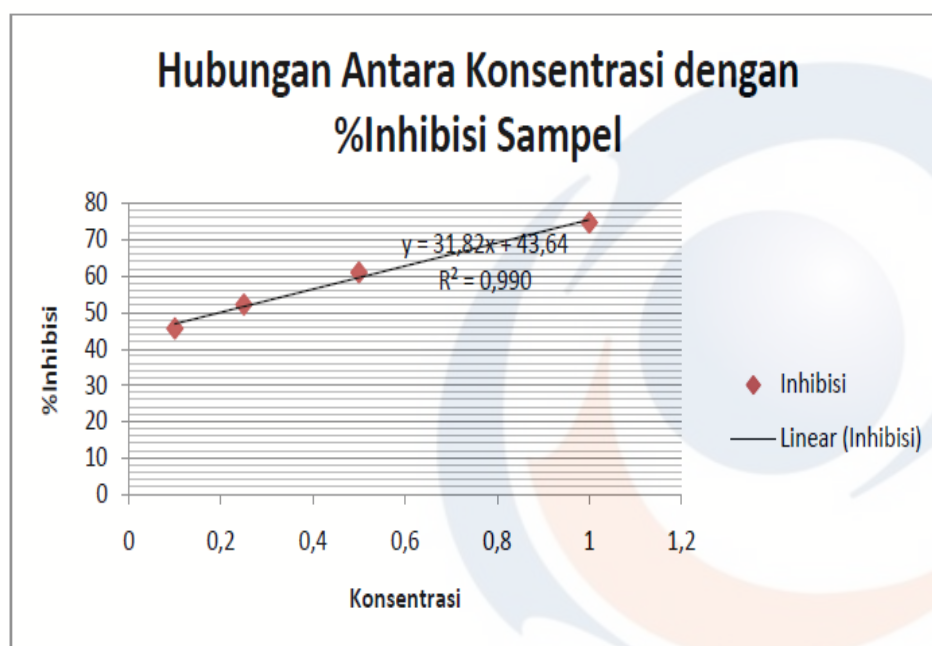
Tanin

Analisis terhadap senyawa tannin pada daun salam diketahui bahwa daun salam positif mengandung tanin. Tanin dibagi menjadi dua golongan dan masing-masing golongan memberikan reaksi warna yang berbeda terhadap FeCl₃ 1 %. Golongan tannin hidrolisis akan menghasilkan

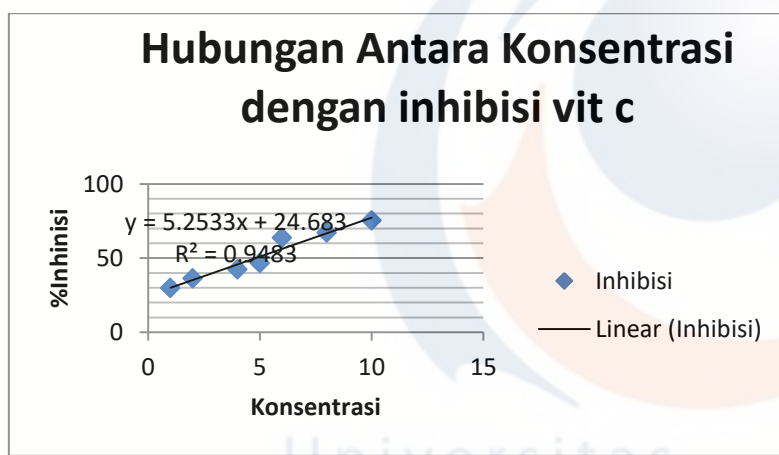
warna biru kehitaman dan tannin kondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Pada saat penambahannya, diperkirakan FeCl₃ 1 % bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Hasil reaksi itulah yang akhirnya menimbulkan warna. Pereaksi FeCl₃ 1 % digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin. Pada daun salam diketahui terdapat adanya tannin kondensasi karena hasil pengamatan, daun salam menghasilkan warna hitam kehijauan.

Tabel 2
Hasil Pengamatan Uji Antioksi dan Ekstrak Metanol Daun Salam

Nama Contoh	Konsentrasi (ug/mL)	Absorbansi Blanko	Absorbansi Contoh	% inhibisi	Persamaan Regresi	IC-50 ppm
Daun Salam	0.10	0.744	0.405	45,56	Y=31,825x + 43,646	19,97
	0.25		0.356	52,15		
	0.50		0.290	61,02		
	1.00		0.188	74,73		



Gambar 1
Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dengan persen inhibisi Sampel



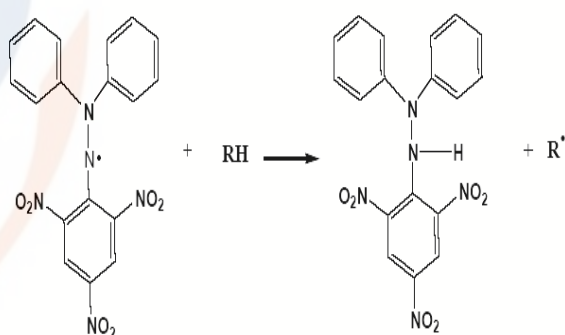
Gambar 2

Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dengan % Inhibisi Standar Vitamin C

Uji Antioksidan

Uji daya antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) dimaksudkan untuk menguatkan aktivitas suatu senyawa uji ekstrak daun salam sebagai tioksi dan karena sebagaimana diketahui daya antioksidan dapat dilakukan dengan berbagai macam metode. Meskipun suatu senyawa uji menunjukkan daya antioksidan yang tinggi dengan salah satu metode, tidak selalu akan memberikan hasil yang sama baiknya dengan menggunakan metode lainnya sehingga disarankan untuk mengukur daya antioksidan dengan berbagai macam metode (Takaya, et al., 2003).

DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. DPPH merupakan radikal yang stabil yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 517 nm.



Gambar 3

Reaksi Penangkapan Radikal oleh DPPH (Molyneux, 2004)

Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat adalah metode uji dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan

50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). Hal ini dapat dicapai dengan cara menginterpretasikan data eksperimental dari metode tersebut. DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan dan komponen tertentu dalam suatu ekstrak.

Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat pada 515 nm. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour, Ebrahimzadeh, Fazel, dan Mohammad, 2009). Perubahan absorbansi akibat reaksi ini telah digunakan secara luas untuk menguji kemampuan beberapa molekul sebagai penangkap radikal bebas.

Metode DPPH merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitive untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Koleva, van Beek, Linssen, de Groot, dan Evstatieva, 2002; Prakash, Rigelhof, dan Miller, 2010). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun salam mempunyai daya antioksidan dengan metode DPPH dengan nilai I_{C50} sebesar 19,97ppm. I_{C50} merupakan konsentrasi ekstrak daun salam yang mampu memberikan persen penangkapan radikal sebanyak 50%, semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat daya antioksidannya.

Tabel 3

Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 $\mu\text{g/mL}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/mL}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/mL}$
Lemah	> 150 $\mu\text{g/mL}$

Kesimpulan

Kandungan Positif fitokimia ekstrak metanol daun Salam yaitu Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Steroid, Terpenoid dan Tanin. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan metode DPPH dengan sampel ekstrak daun salam di dapatkan nilai IC-50 sebesar 19,97 ppm. Dapat disimpulkan bahwa sampel ekstrak daun salam memiliki tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH yang sangat kuat (Efek anti oksidannya kuat).

Daftar Pustaka

- Takaya, Y., Kondo, Y., Furukawa, T and Niwa, M. (2003). *Antioxidant Constituents of Radish*.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung, Indonesia: ITB.
- Dalimartha, Setiawan. (2003). *Atlas Tumbuhan Obat*. Jilid 3. Jakarta: Puspa Swara.
- Depkes, RI. (1995). *Farmakope Indonesia*. ed. 4. Depkes RI, Jakarta, 4, 449-450
- Farnsworth NR (1966) Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 225-276.
- Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. S. & Mohammad, N. S. (2009). *Antioxidant activity of the methanol extract of Ferulaassafotida and its essential oil composition*. *Grasas Aceites*, 60 (4).
- Koleva II, Van Beek TA, Linssen JPH, de Groot A, Evstatieva LN (2002) *Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods*. *Phytochemical Analysis* 13: 8-17