



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) ETANOL 70% DAN ETIL ASETAT MENGUNAKAN DPPH

Submitted: 19 September 2023

Edited: 22 Mei 2024

Accepted: 29 Mei 2024

Asih Imulda Hari Purwani, Fita Sari, Muhammad Dhika Ramadhan, Herlinda Mawardika

Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

Email: asih.imulda@iik.ac.id

ABSTRAK

Pluchea indica L. merupakan tanaman dari keluarga Asteraceae yang telah dikenal masyarakat sejak zaman dahulu. Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi aktivitas antioksidan daun beluntas dari ekstraksi menggunakan etanol 70% dan etil asetat. Hasil identifikasi skrining fitokimia daun beluntas menyatakan ada kandungan flavonoid, tanin, dan alkaloid. Aktivitas antioksidan metode DPPH digunakan menghambat radikal bebas dan vitamin C sebagai pembanding. Hasil rata – rata nilai IC_{50} bahwa aktivitas antioksidan daun beluntas menggunakan etanol 70% sebesar 94,06 ppm, menggunakan pelarut etil asetat sebesar 150,55 ppm dan vitamin C 17,14 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan aktivitas antioksidan daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan etanol 70% dan etil asetat.

Kata Kunci : Antioksidan, Daun beluntas (*Pluchea indica* L.), DPPH, Etanol 70%, etil asetat.

ABSTRACT

Pluchea indica L. is a herbaceous plant of the Asteraceae family that has been known to the public as fresh vegetables and traditional medicine since ancient times. This study aims to determine the antioxidant activity of beluntas leaves obtained from the extraction using 70% ethanol and ethyl acetate. The identification of phytochemical screening of beluntas leaves revealed the presence of flavonoids, tannins and alkaloids. The test of antioxidant activity was performed using the DPPH method as free radical and vitamin C as a comparison. The average IC_{50} value beluntas leaves in 70% ethanol solvent is 94.06 ppm, in ethyl acetate is 150.55 ppm and vitamin C 17.14 ppm. This shows that there is a difference in antioxidant activity of beluntas leaves (*Pluchea indica* L.) with 70% ethanol and ethyl acetate.

Keywords : Antioxidant, *Pluchea indica* L., DPPH, 70% ethanol, ethyl acetate.



PENDAHULUAN

Radikal bebas memiliki sifat tidak stabil serta reaktif dan mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Mekanisme kerja radikal bebas adalah mengikat molekul yang ada di dalam tubuh sehingga menyebabkan terjadinya berbagai penyakit yang sel tubuh rusak ⁽¹⁾. Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat proses oksidasi dengan mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas ⁽²⁾.

Tumbuhan merupakan salah satu sumber senyawa metabolit primer yang dihasilkan seperti karbohidrat dan sumber metabolit sekunder seperti saponin dan tanin ⁽³⁾. Beluntas (*Pluchea indica* L.) adalah tanaman dari keluarga Asteraceae, masyarakat memanfaatkan tumbuhan ini sebagai bahan lalapan dan obat tradisional sejak zaman dahulu. Penelitian ⁽⁴⁾ ekstrak daun beluntas memiliki kemampuan untuk mencegah terjadinya radikal bebas.

Metode DPPH yaitu metode pengerjaannya relatif sederhana dan mudah dibandingkan dengan metode lainnya ⁽⁵⁾. IC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk menangkap radikal DPPH, IC₅₀ juga digunakan sebagai parameter dalam uji radikal DPPH. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh ⁽⁴⁾ menggunakan metode DPPH dengan ekstraksi maserasi daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Hasil penelitian tersebut diperoleh aktivitas antioksidan 37,25 ppm. Senyawa dengan antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50. ⁽⁶⁾.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini akan diteliti mengenai perbedaan aktivitas antioksidan dengan etanol 70% dan etil asetat menggunakan metode DPPH, untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak daun beluntas dengan perbedaan pelarut ⁽⁷⁾. Menurut penelitian yang dilakukan oleh ⁽⁶⁾ mengkonfirmasi bahwa uji antioksidan dengan DPPH menggunakan pelarut etanol, etil asetat memiliki hasil yang berbeda-beda. Pengujian aktivitas antioksidan daun beluntas dengan menggunakan perbedaan pelarut etanol 70 % dan etil asetat belum pernah dilakukan penelitian. Tujuan penelitian ini agar dapat diperoleh hasil efek antioksidan

pada daun beluntas dengan perbedaan pelarut etanol 70% dan etil asetat menggunakan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Pembuatan ekstrak etanol 70% daun beluntas

Ekstrak daun beluntas dilakukan ekstraksi maserasi, yaitu ekstraksi dengan melakukan perendaman bahan. Ditimbang simplisia daun beluntas 100 gram lalu masukkan dalam erlenmeyer dan tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml. Direndam selama 24 jam sambil diaduk suhu 25°C -30°C, kemudian dilakukan penyaringan. Ampasnya kembali di remaserasi sebanyak dua kali dengan pelarut yang baru jernih. Filtrat diuapkan di atas water bath sampai mendapatkan ekstrak kental ⁽⁸⁾.

Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas

Ditimbang simplisia daun beluntas sebanyak 100 gram lalu masukkan ke erlenmeyer dan ditambah etil asetat sebanyak 1000 ml dilakukan perendaman 3 x 24 jam sambil diaduk pada suhu 25°C - 30°C, kemudian dilakukan penyaringan. Ampasnya kembali di remaserasi dua kali dengan pelarut yang baru jernih. Filtrat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental ⁽⁸⁾

Skrining Fitokimia

Flavonoid

Ekstrak masukkan ke tabung reaksi lalu tambahkan 1 mg magnesium dan 2 ml HCl pekat. Jika terdapat kandungan flavonoid akan terbentuk warna jingga atau kuning ⁽⁸⁾.

Alkaloid

Ekstrak masukkan dalam 3 tabung yang berbeda kemudian tambahkan HCl 2 ml. Tambahkan reagen dragendorf dan reagen mayer dan pada setiap tabung kemudian dikocok. Sampel tersebut positif mengandung senyawa alkaloid jika terbentuk endapan merah orange ⁽⁸⁾.

Saponin

Ekstrak ditambah 2 ml aquadest panas dalam tabung reaksi, lalu kocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa stabil dalam 10 menit terdapat kandungan saponin ⁽⁸⁾

Tanin

Ekstrak ditambah 2- 3 tetes FeCl₃ 1%. Jika larutan berwarna biru kehitaman atau hijau kehitaman terdapat kandungan tanin ⁽⁸⁾.

Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kuantitatif Dengan Spektrofotometer UV-Vis

DPPH

Ditimbang sebanyak 2 mg DPPH, lalu larutkan dengan 100 ml etanol p.a. Kemudian di kocok sampai menjadi warna violet. ⁽⁹⁾

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH dipipet, tambahkan 0,2 ml etanol p.a, diamkan pada tempat gelap. Masukkan ke kuvet lalu diukur serapannya dengan spektrofotometri visibel pada λ500-520 nm ⁽⁹⁾.

Pembuatan sampel uji hasil ekstrak 500 ppm

Sampel ekstrak kental ditimbang 0,25 gram selanjutnya ditambahkan 500 ml etanol p.a, selanjutnya dipipet untuk membuat larutan konsentrasi 50 ppm, 30 ppm, 10 pp ⁽⁹⁾

Pembuatan larutan seri konsentrasi 50 ppm, 30 ppm, 10 ppm

Sampel ekstrak daun beluntas di pipet 1 ml, 0,6 ml dan 0,2 ml ditambahkan etanol dalam 10 ml sampai tepat tanda. ⁽⁹⁾.

Pemeriksaan aktivitas antioksidan

Sampel 0,2 ml tambahkan larutan DPPH. Larutan didiamkan dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. ⁽⁹⁾.

Pembuatan larutan pembanding vitamin C

Vitamin C ditimbang 0,25 gram, dilarutkan dalam 500 ml etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 500 ppm, kemudian dibuat konsentrasi 2 ppm sampai 6 ppm ⁽⁹⁾.

Pengukuran serapan larutan vitamin C dengan spektrofotometer

Larutan uji 0,2 ml, tambahkan DPPH, lalu dikocok dan diukur pada panjang gelombang maksimum ⁽⁹⁾.

Penentuan nilai IC₅₀ dan pembuatan kurva kalibrasi

Hasil % perendaman didapatkan dengan rumus

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Dari hasil tersebut, untuk menentukan nilai IC₅₀ dengan dibuat kurva regresi untuk mendapatkan persamaan $y = bx + a$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas menggunakan etanol 70% dan etil asetat. Dalam analisis ini menggunakan proses determinasi yaitu untuk membuktikan kebenaran identitas suatu tanaman yang akan diteliti dan mencegah kesalahan saat pengumpulan bahan penelitian ⁽¹⁰⁾Metode ekstraksi dengan maserasi, pemilihan metode tersebut karena prosedur yang digunakan tidak mengalami proses pemanasan sehingga tidak dapat terurai atau mudah rusak ⁽¹¹⁾. Maserasi ekstrak daun beluntas ini menggunakan perbandingan pelarut 1 : 10. Remaserasi dilakukan dengan jumlah pelarut dan lama perendaman yang sama agar dapat menarik senyawa sekunder yang tersisa ⁽¹²⁾ Pelarut dalam maserasi adalah etanol 70% dan etil asetat, karena sifatnya yang polar dan merupakan golongan metabolit sekunder daun beluntas ⁽¹³⁾Hasil ekstraksi daun beluntas etanol 70% dan etil asetat kemudian dilakukan pemekatan atau pengentalan menggunakan waterbath dengan suhu 25°C - 30°C . Hasil ekstrak kental yang dihasilkan dari daun beluntas dengan etanol 70% dan etil asetat adalah berupa ekstrak dengan masing- masing berwarna hijau pekat dan berbentuk kental. Ekstrak kental selanjutnya dilakukan skrining fitokimia. Tahap ini untuk mengetahui metabolit sekunder daun beluntas ⁽¹⁴⁾Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh ⁽⁸⁾ menyatakan ekstrak daun beluntas mengandung flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin. Berdasarkan hasil skrining fitokimia flavonoid ekstrak daun beluntas menggunakan etanol 70% dan etil

asetat menunjukkan masing – masing hasil mengandung flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin yang ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2. Hasil penelitian diperkuat oleh penelitian sebelumnya oleh ⁽¹⁵⁾ yang telah melakukan

penelitian tentang identifikasi senyawa metabolit sekunder pada daun beluntas. Penelitian tersebut diperoleh senyawa flavonoid (apigenin, luteolin, krisoeriol dan kuersetin).

Tabel 1. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder daun beluntas dengan pelarut etanol 70%

Uji Senyawa Fitokimia	Hasil Yang Diperoleh	Ekstrak
Flavonoid	Positif berwarna merah jingga	(+)
Tannin	Positif terbentuk biru hijau kehitaman	(+)
Saponin	Positif terbentuk busa	(+)
Alkaloid	Positif endapan putih kehijauan	(+)
	Positif endapan merah orange	(+)

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder daun beluntas pelarut etil asetat

Uji Senyawa Fitokimia	Hasil Yang Diperoleh	Ekstrak
Flavonoid	Positif berwarna merah jingga	(+)
Tannin	Positif terbentuk biru hijau kehitaman	(+)
Saponin	Negatif tidak terbentuk busa	(-)
Alkaloid	Negatif tidak terbentuk endapan putih kehijauan	(-)
	Negatif tidak terbentuk merah orange	(-)

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas dengan etanol 70% dan etil asetat menggunakan metode DPPH. Pemilihan metode DPPH digunakan untuk melihat potensi menangkap radikal bebas pada ekstrak daun beluntas. Uji antioksidan dengan DPPH merupakan metode yang sederhana dan tidak membutuhkan banyak reagen ⁽⁵⁾. Pengujian dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pengukuran panjang gelombang maksimum. Pengujian

aktivitas antioksidan dengan DPPH ini didasarkan pada kemampuan menangkap radikal DPPH yang diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum 516 nm dengan absorbansi 0,335. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan di tempat yang gelap hal ini karena DPPH peka adanya cahaya. ⁽⁹⁾. Hasil pengukuran absorbansi sampel dilihat pada Tabel 3 untuk etanol 70%, Tabel 4 untuk etil asetat.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Ekstrak Daun Beluntas Etanol 70%

Konsentrasi	Blanko	Absorbansi			% inhibisi		
		1	2	3	1	2	3
10	0,335	0,313	0,313	0,312	6,567 %	6,567 %	6,865 %
30	0,335	0,278	0,282	0,283	17,014%	15,820%	15,522%
50	0,335	0,244	0,243	0,242	27,164%	27,462%	27,761%

Tabel 4. Hasil Pengukuran Ekstrak Daun Beluntas Etil Asetat

Konsentrasi	Blanko	Absorbansi			% inhibisi		
		1	2	3	1	2	3
10	0.335	0.326	0.327	0.327	2,686 %	2,388 %	2,388 %
30	0.335	0.304	0.308	0.308	9,253%	8,059%	8,059%
50	0.335	0.280	0.283	0.280	16,417%	15,522%	16,417%

Nilai persen inhibisi ekstrak daun beluntas menunjukkan konsentrasi yang tinggi sehingga nilai persen inhibisi meningkat. Penelitian sebelumnya ⁽¹⁶⁾ menyatakan persen inhibisi aktivitas radikal bebas meningkat seiring meningkatnya suatu konsentrasi. Parameter yang digunakan pada aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀. Untuk memperoleh nilai IC₅₀ ditentukan dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$. IC₅₀ merupakan besarnya konsentrasi sampel untuk menghambat 50 persen radikal bebas, sedangkan persen inhibisi adalah perbandingan selisih absorbansi blanko dan sampel ⁽⁹⁾. Hasil rata-rata IC₅₀ yang telah diperoleh dari ekstrak daun beluntas dengan etanol 70% dan etil asetat sebesar 94,06 ppm yang masuk kedalam kategori kuat dan 150,55 ppm yang masuk dalam kategori pada Tabel 5 dan Tabel 6

Tabel 5. Rata – rata IC₅₀ Ekstrak daun beluntas dengan pelarut etanol

	IC ₅₀ (ppm)	Rerata IC ₅₀ ± SD
Replikasi 1	94,42	
Replikasi 2	93,98	94,06 ± 0,327
Replikasi 3	93,78	

Tabel 6. Rata – rata IC₅₀ Ekstrak daun beluntas dengan pelarut etil asetat

	IC ₅₀ (ppm)	Rerata IC ₅₀ ± SD
Replikasi 1	148,24	
Replikasi 2	156,08	150,55 ± 4,811
Replikasi 3	147,33	

Hasil penelitian ini ekstrak daun beluntas dengan etanol 70% mendapatkan nilai IC₅₀ lebih kuat dibandingkan ekstrak daun beluntas etil asetat. Ekstrak daun beluntas etanol mempunyai tingkat kepolaran yang lebih tinggi dari pada ekstrak etil asetat. Menurut ⁽³⁾ tingkat kepolaran etanol lebih tinggi dari pada etil asetat karena etanol mempunyai konstanta dielektrik 30 sedangkan etil asetat hanya 6,0. Perbedaan pelarut yang digunakan pada ekstraksi juga akan berpengaruh pada aktivitas antioksidan yang didapatkan ⁽¹⁷⁾. Dikarenakan pada sampel daun beluntas terdapat lebih banyak senyawa bioaktif yang sifatnya polar.. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh ⁽⁵⁾ menggunakan etanol dengan metode DPPH, ekstraksi maserasi terhadap aktivitas antioksidan pada daun beluntas diperoleh hasil 37,25 ppm yang menandakan aktivitas antioksidan masuk kategori sangat kuat, hal tersebut membuktikan aktivitas antioksidan menggunakan pelarut etanol dengan hasil yang diperoleh mendekati hasil penelitian sebelumnya dan menandakan pelarut polar aktivitas antioksidan lebih kuat daripada pelarut semi polar. Nilai IC₅₀ kemudian dilakukan uji independent sample t test agar membuktikan adanya perbedaan dari ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% dan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etil asetat. Data harus terdistribusi normal agar melanjutkan uji independent sample t test⁽¹¹⁾. Uji normalitas ekstrak daun beluntas etanol 70% dan etil asetat mendapatkan nilai sig. 0,593 dan 0,181 (>0,05). Data tersebut normal sehingga melanjutkan uji independent sample t test.

Pada independent sample t test menunjukkan nilai sig. (2-tailed) 0,002 ($p < 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas menggunakan etanol 70% dan etil asetat. Hasil tersebut dapat didukung dari nilai IC_{50} ekstrak daun beluntas menggunakan etanol 70% lebih kuat dibandingkan menggunakan etil asetat.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat dengan DPPH. Dapat didukung oleh analisis data statistik uji independent sample t test dengan sig. (2-tailed) 0,002 ($p < 0,05$) yang menyatakan perbedaan antara etanol 70% dan etil asetat. Pada hasil uji aktivitas antioksidan daun beluntas menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan IC_{50} 94,06 ppm dan etil asetat 150,55 ppm. Ekstrak daun beluntas etanol 70% menghasilkan antioksidan yang lebih kuat dari pada pelarut etil asetat dengan menunjukkan hasil IC_{50} 94,06 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ayu Puji Lestari K, Prihiawati Pranoto P, Musyirah M, Isnaini Pratiwi F. Antibacterial Activity of Beluntas (*Pluchea indica* L.) Leaves Extract using Different Extraction Methods. Jurnal Riset Biologi, 2020, vol. 2
2. Dwi Puspitasari A, Proyogo LS, Kimia B, Farmasi F, Wahid U, Semarang H. Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Jurnal Kimia Farmasi, 2021, vol. 1
3. Gede Eka Prayoga D, Ayu Nocianitri K, Nyoman Puspawati N. Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) Pharmaceutical Technology, 2019, 8(2):111–21.
4. Gusti Ayu Krisma Widya Saraswati I, Ketut Suter I, Agung Istri Wiadnyani A. The Effect of Type of Solvent and the Ratio of Material to the Solvent by the Ultrasonication Method on Antioksidant Activity of Beluntas Leaf Extract (*Pluchea indica* Less). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, 2019, 1 (1) : 40 – 45.
5. Gusti I, Bagus N, Bistara Kusuma P, Ketut Suter I, Kadek GA, Puspawati D. Optimasi Konsentrasi Etanol Dan Perbandingan Bahan Dengan Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* Less) Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, 2020, 1 (1) : 50 - 53
6. Kumalasari, Eka, Nararia NM, Musiam S. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70% Dan Fraksi Etil Asetat Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Dengan Metode Spektrofometri UV-VIS. Jurnal Ilmiah Farmasi Indonesia, 2021, 4(1), 74-8
7. Molyneux, P. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. Journal of Technology, 2023, vol. 2.
8. Puspita Sari P, Susanah Rita W, Ni Made Puspawati. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (E. coli). Jurnal Ilmiah Kesehatan, 2020, 6 (3): 278 – 281
9. Riwanti, Izazih, Amaliyah. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol. Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika, Volume 2(2), pp. 82-95
10. Riwanti P, Izazih F. Penelitian Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika, 2020, vol. 82
11. Sulistriyarni, I, Diah, A. S, Tony, A. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyhuzuz*). Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta, 2020, p. 2528-5912.

12. Syaron Manongko P, Sangi S, Momuat I, Kimia P, Mipa F, Ratulangi S. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2020, vol (1).
13. Sylvia D, Fatimah. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 2020, pp. 21-31
14. Utomo Y, Chairini N, Asrori MR. Perbandingan Metode Maserasi dan Microwave-Assisted Extraction pada Daun Beluntas dengan Variasi Pelarut dan Uji Antioksidan. *Jurnal Riset Kimia*, 2023;9(1):23–32.
15. Wanita D, Rusmini F, Ashfia F, Yustisia A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Chemistry And Application Journal*, 2020, vol. 2