

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) dengan Menggunakan Metode DPPH

A. Muflihunna¹, Rahmawati^{2*}, Nurmayada Wahab³
^{1,2,3}Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

*Corresponding author:

Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

Email: rahmawati.rahmawati@umi.ac.id

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can inhibit free radical reactions in the body. Synthetic antioxidants are often used for food but their use is being restricted because they are toxic. This study aims to determine the antioxidant activity of mangosteen samples using the DPPH method. Samples were extracted by maceration method using 96% ethanol solvent. Then a qualitative test was carried out, namely the Flavonoid test and the phenol test, which obtained positive sample results containing flavonoids and phenols. Qualitative testing was carried out by adding 1 mL of the test solution with 4 mL of DPPH 40 ppm. The absorbance was measured with a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 498 nm and the IC₅₀ value was calculated based on the absorbance data. The percent yield of mangosteen fruit obtained was 31.4%. From the results of research on the antioxidant activity of the ethanol extract of mangosteen (*Phyllanthus reticulatus*) fruit, the regression value was obtained, namely $y = 0.3311x + 19.212$ with $R^2 = 0.9905$ and an IC₅₀ value of 92.9870 ppm, these results indicate strong antioxidant activity, and quercetin as a comparison has activity a very strong antioxidant with an IC₅₀ value of 7.1180 ppm.

Keywords: Antioxidant; Mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) Fruit Ethanol Extract; DPPH; UV-Vis Spectrophotometer

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan sintetis sering digunakan untuk makanan tetapi penggunaannya mulai dibatasi karena beracun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada sampel buah mangsi menggunakan metode DPPH. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan pengujian kualitatif yaitu uji Flavonoid dan uji fenol di dapatkan hasil sampel positif mengandung flavonoid dan fenol. Pengujian kualitatif dilakukan dengan penambahan 1 mL larutan uji dengan 4mL DPPH 40 ppm. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 498 nm dan nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan data absorbansi. Nilai persen rendemen buah mangsi yang diperoleh yaitu 31,4 %. Dari hasil penelitian pada aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) diperoleh nilai regresi yaitu $y = 0,3311x + 19,212$ dengan $R^2 = 0,9905$ dan nilai IC₅₀ sebesar 92,9870 ppm yaitu hasil tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan kuat, dan kuersetin sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 7,1180 ppm.

Kata kunci: Antioksidan; Ekstrak Etanol Buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*); DPPH; Spektrofotometer UV-Vis.

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat menempati tempat yang sangat penting dalam kehidupan manusia di seluruh dunia sejak dahulu kala. Mereka telah menjadi salah satu komponen dalam kehidupan kita sehari-hari. Satu diantaranya adalah buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*), merupakan tanaman yang memiliki khasiat Antidiabetes, antivirus, antikanker, antiplasmodial, hepatoprotektif, antibakteri dan aktivitas anti inflamasi. Tumbuhan tersebut mengandung asam tanat, terpenoid, flavonoid, fenolik senyawa dan steroid sebagai penyusun kimia utama [1]

Buah mangsi digunakan untuk berbagai penyakit termasuk diuretik, sembelit, cacar, sifilis, asma, diare, pendarahan dari gusi, obesitas [2]. buah mangsi banyak dimanfaatkan sebagai obat peradangan usus dan bersifat astringen (suatu efek mengecilkan pori-pori permukaan usus sehingga mengurangi absorpsi pada permukaan usus. buah mangsi juga dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami buah mangsi berwarna ungu kehitaman dan memiliki kandungan antosianin sebagai sumber warna hitam, ungu, dan merah [3].

Antioksidan merupakan komponen kimia yang terdiri atas monohidroksil atau polihidroksil fenol. Antioksidan bekerja pada beberapa cara berbeda terhadap proses oksidatif yaitu pemulungan radikal bebas secara enzimatis atau dengan reaksi kimia langsung, pemulungan radikal lipid peroksid, berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif. Antioksidan berfungsi menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan ROS (*Reactive Oxygen Species*), sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi [4] Radikal bebas adalah molekul yang tidak berpasangan dan bersifat sangat aktif, radikal bebas juga dapat menyebabkan kerusakan molekul di sekitarnya. [5]. Pemilihan menggunakan metode DPPH ini dikarenakan merupakan metode yang sederhana, mudah diaplikasikan, cepat dan peka serta sampel yang digunakan hanya sedikit [6].

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu penelitian yang lebih intensif mengenai pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*), sehingga potensi tanaman ini sebagai antioksidan dan mencegah radikal bebas dapat digunakan dengan baik.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Sampel

Sampel dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dibawah sinar matahari. Setelah kering, sampel diblender, kemudian dihaluskan (serbukkan) [7].

Ekstraksi Sampel Secara Maserasi

Sampel buah mangsi yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% pada suhu ruang selama 3 x 24 jam. Kemudian dimasukkan kedalam wadah yang tertutup rapat dan terlindung dari sinar matahari sambil sesekali di aduk. Hasil maserasi disaring, kemudian dilakukan remaserasi hingga cairan berwarna bening kehijauan. Hasil ekstrak encer diuapkan menggunakan rotavapor hingga menjadi ekstrak kental [8].

Uji Fitokimia

Uji Flavonoid

Ekstrak sampel sebanyak 1 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl Pekat lalu. Apabila terbentuk warna merah atau kuning berarti positif flavonoid [9].

Uji Fenol

Sebanyak 5 ml ekstrak ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1%. Uji Positif ekstrak mengandung fenol terbentuk menghasilkan warna hitam pekat [10].

Pengujian Kuantitatif Aktivitas Antioksidan ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*)

Pembuatan Larutan

Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 1000 ppm dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 5 mg serbuk DPPH kemudian dilarutkan dengan 5 mL etanol 96% dalam labu tentukur. Konsentrasi 40 ppm dibuat dengan cara memipet 0,4 mL DPPH 1000 ppm, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur larutan DPPH yang telah diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur pada panjang gelombang 450-650 nm.

Pembuatan Larutan dan pengukuran daya antioksidan sampel pembanding kuersetin

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan cara ditimbang 5 mg kuersetin kemudian di larutkan dengan etanol 96% dalam labu tentukur 5 ml, setelah itu dibuat beberapa variasi konsentrasi. Konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 9 ppm, dibuat dengan cara masing-masing larutan stok dipipet sebanyak 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 dan 0,9 mL, lalu dicukupkan dengan etanol 96% sampai volume akhir 10 mL. Pengujian dilakukan dengan memipet 1 mL larutan sampel dari berbagai konsentrasi, kemudian masing-masing ditambahkan 4 mL DPPH 40 ppm. Campuran kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit lalu serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH (λ max).

Pembuatan larutan dan pengukuran daya antioksidan ekstrak etanol buah mangsi (Phyllanthus reticulatus)

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan etanol 96%, larutan dihomogenkan dan dicukupkan volumenya hingga 25 mL. Selanjutnya, pengenceran dilakukan untuk membuat beberapa variasi konsentrasi. Ada lima variasi konsentrasi yaitu 10, 30, 50, 70, dan 90 ppm, masing-masing larutan stok dipipet 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 dan 0,9 mL lalu dicukupkan dengan etanol 96% sampai volume akhir 10 mL. Pengujian dilakukan dengan memipet 1 mL larutan sampel dari berbagai konsentrasi, kemudian masing-masing ditambahkan 4 mL DPPH 40 ppm. Campuran kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit lalu serapannya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tersebut.

Analisis Data

Analisis data dengan persamaan regresi linear menggunakan program Microsoft Excel [8].

HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian yang dilakukan yaitu aktivitas antioksidan ekstrak buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) ini bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) dengan menggunakan metode peredaman DPPH 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil. Penelitian ini melalui beberapa tahap yaitu penyiapan sampel, sampel yang digunakan diperoleh dari kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Sifat dari etanol 96% adalah selektif, tidak beracun, kemampuan absorpsi dan daya penyariannya baik sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat polar, semi polar dan non-polar [11].

Hasil dari proses maserasi menghasilkan maserat yang berwarna merah kehitaman. Hasil maserat tersebut kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator yang dilengkapi dengan pompa vakum. Dengan adanya pompa vakum pada rotary evaporator, maka proses penguapan dapat berlangsung menjadi lebih cepat. Dari hasil ekstraksi diperoleh persen rendamen ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) sebesar 31,4%. Rendamen ekstrak berguna untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa oleh pelarut. Hasil perhitungan persen rendamen ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Dalam proses pemisahan senyawa aktif merupakan aspek yang penting untuk diperhatikan karena proses pemisahan akan menentukan sebesar seberapa besar rendamen yang

dihasilkan. Rendamen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendamen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang didapatkan semakin banyak. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia pada ekstrak etanol buah mangsi. Hasil uji flavonoid buah mangsi diperoleh ekstrak buah mangsi di tambahkan HCl pekat menghasilkan warna hitam yang menandakan positif flavonoid dan hasil uji fenol buah mangsi di tambahkan dengan FeCl₃ menghasilkan warna merah bata yang artinya positif mengandung fenol. dapat dilihat pada **tabel 2**

Pengujian ini menggunakan metode peredaman DPPH, metode ini merupakan salah satu metode uji kualitatif untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada sampel dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH. Kelebihan dari metode ini adalah sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel. Metode ini hanya membutuhkan senyawa DPPH yang bersifat stabil [14]. Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga radikal DPPH (*1,1 diphenyl-2 picrylhydrazyl*) akan berubah menjadi DPPH yang stabil dengan perubahan warna ungu dari larutan DPPH menjadi kuning dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga aktivitas peredaman radikal oleh sampel dapat ditentukan

Metode DPPH akan memberikan hasil potensi antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat 50% oksidasi. Senyawa dinyatakan sebagai antioksidan kuat jika nilai IC₅₀ (50 ppm – 100 ppm) dan antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ (< 50 ppm) [15].

Pada pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan kurva kalibrasi kuersetin, diperoleh persamaan linearitas $y = 5,2703 + 12,486x$ dengan $R^2 = 0,9958$ dan nilai $r = 0,9978$. Hasilnya memenuhi syarat linearitas yaitu nilai $r > 0,995$, sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Aktivitas antioksidan pembanding kuersetin diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 7,1180 ppm, yaitu tergolong kategori sangat kuat. dapat dilihat pada **tabel 3**.

Hasil yang diperoleh pada pengujian aktivitas antioksidan pada sampel buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) berdasarkan kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,3311x - 19,212$ dengan $R^2 = 0,9905$ dan nilai $r = 0,9952$ memenuhi syarat linearitas yaitu $r > 0,995$. sehingga dari nilai yang diperoleh terdapat hubungan yang linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Aktivitas antioksidan pembanding kuersetin diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 92,9870 ppm, yaitu tergolong antioksidan kuat. Hasil dapat dilihat pada **tabel 4**

Penelitian lain telah dilakukan oleh Marthupan dkk. Mereka membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan metanol pada tanaman mangsi dengan hasil presentase inhibisi

ekstrak etanol 73% dan metanol 82% dan dapat dikategorikan tanaman mangsi mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan presentase inhibisi ekstrak metanol lebih tinggi dibanding etanol. Dan penelitian lain juga dilakukan Potbhare dkk yaitu membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tanaman mangsi dengan ekstrak etanol *Conyza bonariensis* dan diperoleh presentase inhibisi ekstrak tanaman mangsi 79,84% sedangkan *Conyza bonariensis* 75,66% dengan demikian antioksidan pada buah mangsi lebih tinggi dibandingkan pada *Conyza bonariensis*.

Menurut (Shania et al., 2021), menyatakan bahwa beberapa senyawa flavonoid diantaranya merupakan senyawa yang bersifat antioksidan dan mampu menghambat aktivitas dari enzim xantin oksidase maupun reaksi superoksida. Dengan demikian, senyawa flavonoid dan fenol yang terdeteksi pada buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) menunjukkan potensinya sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) termasuk antioksidan kuat karena memiliki nilai IC₅₀ 92,9870 ppm. Dan kueretin sebagai baku pembanding memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ yaitu 7,1180 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dan membimbing selama pengerjaan penelitian ini.

REFERENSI

- [1] Manjula, V. and Norman, T.S.J. (2017) 'Pharmacognostical study of *Phyllanthus reticulatus* : A tribal drug', The Pharma Innovation journal, 6(9), pp. 107–109
- [2] Maruthappan, V. and Shree, K.S. (2010) 'A report on the antioxidant activity of the powder of the entire plant of *Phyllanthus reticulatus* Poir', International Journal of Green Pharmacy, 4(4), pp. 265–269. Available at: <https://doi.org/10.4103/0973-8258.74136>.
- [3] Irawati, T. and Mardiana, Y. (2018) 'Ekstrak Buah Mangsi (*Phyllanthus Reticulatus* Poir) Sebagai Pewarna Alami', Seminar Nasional Unisla, pp. 2–5. Available at: <https://journal.unnes.ac.id/nju/index>.

- [4] Adri, D. and Hersoelityorini, W. (2013) ‘Aktivitas Antioksidan dan Sifat Organoleptik Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Berdasarkan Variasi Lama Pengeringan Antioxidant Activity and Organoleptic Charecteristic of Soursop (*Annona muricata* Linn.) Leaf Tea Based on Variants Time Drying’, Jurnal Pangan dan Gizi, 04(07).
- [5] F. et al. (2019) ‘Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan’, Jurnal Vokasi, 3(1), p. 1.
- [6] Rahmawati, A.M. and Sarif, L.M. (2012) ‘Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan Metode DPPH’, Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 2(2), pp. 97–101.
- [7] Rahman, A., Malik, A. and Ahmad, A.R. (2016) ‘Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Buni (*Antidesma bunius* (l.) Spreng)’, Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 3(2), pp.
- [8] Aminah, Maryam, S., Baits, M., & Kalsum, U. 2016. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona mucirata* L.) berdasarkan tempat tumbuh dengan metode perendaman DPPH. Jurnal Fitofarmaka Indonesia. Vol 3, No. 1. pp. 146-150.
- [9] Nanda Pratama, A. and Busman, H. (2020) ‘Potensi Antioksidan Kedelai Terhadap Penangkapan Radikal Bebas Potential of Soybean Antioxidant (*Glycine Max* L) on Capturing Free Radicals’, Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 11(1), pp. 497–504.
- [10] Sami, F.J. et al. (2017) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) DAN FRAP (Ferric Reducing Antioxidan Power)’, Jurnal Ilmiah As-Syifaa, 9(2), pp. 106–111.
- [11] Zaini, R.S. et al. (2022) ‘Pengaruh Pengeringan Daun Stevia rebaudiana dan Jumlah Siklus Soxhletasi terhadap Kadar Gula’, Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan, 6(2), pp. 20–27.
- [12] Pramesti, R. (2013) ‘Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* Dengan Metode DPPH (1,1 difenil 2 pikrilhidrazil)’, Universitas Tanjungpura, 2(2), pp. 7–15.
- [13] Maulana K, A. et al. (2019) ‘Analisa Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam) dengan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power)’, Bionature, 20(1), pp. 27–33.
- [14] Julizan, N. (2019) ‘Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode Dpph’, Kandaga– Media Publikasi Ilmiah Jabatan Fungsional Tenaga Kependidikan, 1(1).
- [15] Ismawati, A. (2016). Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode dpph pada ekstrak etanol daun tanjung (*mimusops elengi* L) melalui ekstraksi refluks = Uji aktivitas

antioksidan dengan dpph pada ekstrak etanol daun tanjung menggunakan ekstraksi refluks. 1–7.

TABEL

Tabel 1. Data persen Rendamen ekstrak buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*)

Sampel	Berat awal (g)	Hasil ekstrak (g)	Rendamen ekstrak (%)
Buah Mangsi	50	15,7	31,4

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*)

Kandungan kimia	Hasil
Flavonoid	(+)
Fenol	(+)

Keterangan : (+) positif; (-) Negatif

Tabel 3. Perhitungan % inhibisi dan IC₅₀ pembanding kuersetin

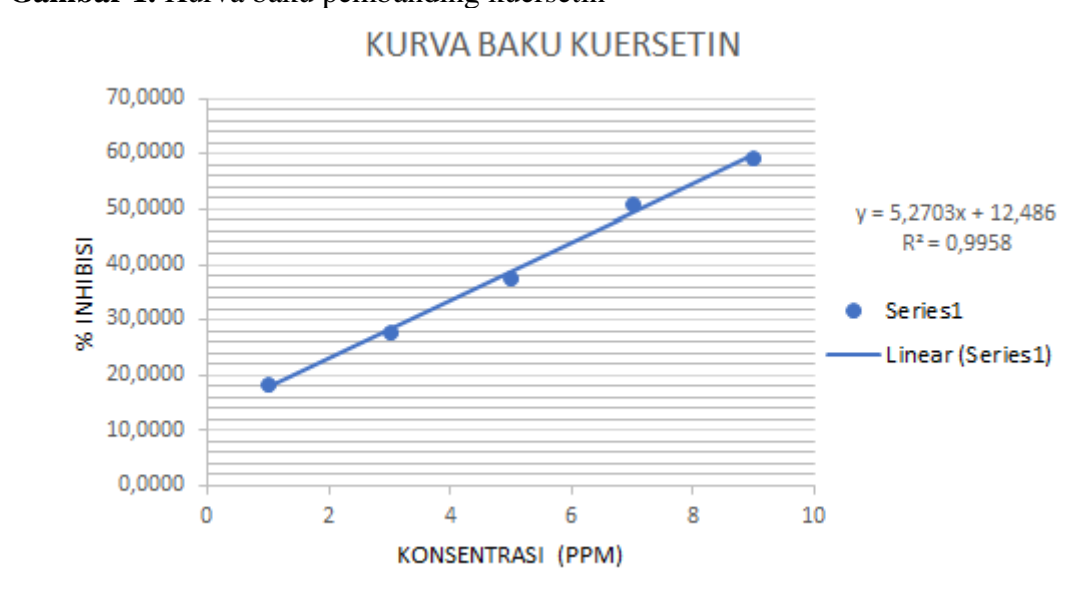
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (pada 498 nm)	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
1	0,604	18,3784	7,1180
3	0,535	27,7027	
5	0,461	37,7027	
7	0,363	50,9459	
9	0,300	59,4595	

Tabel 4. Perhitungan % inhibisi dan IC₅₀ ekstrak etanol buah mangsi (*Phyllanthus reticulatus*)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (pada 498 nm)	% inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
10	0,349	21,3964	92,9870
30	0,310	30,1802	
50	0,284	36,0360	
70	0,252	43,2432	
90	0,231	47,9730	

GAMBAR

Gambar 1. Kurva baku pembanding kuersetin



Gambar 2. Kurva baku Ekstrak etanol buah mangsi

