

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT
KULIT BUAH MUNDAR (*Garcinia forbesii* King)
MENGUNAKAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-
PIKRILHIDRAZIL)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHYL ACETATE
FRACTION OF MUNDAR RIND (*Garcinia forbesii* King) USING
THE DPPH (2,2- DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL) METHOD**

Rahmi Muthia*, Revita Saputri, dan Nurul Asfia

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru Jl. Kelapa Sawit 8 Bumi Berkat
Kel. Sungai Besar Banjarbaru 70714.
*rahmimuthia@stikesborneolestari.ac.id

ABSTRAK

*Radikal bebas adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai elektron satu atau lebih yang tidak berpasangan. Peningkatan produksi radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif. Asupan antioksidan adalah cara sederhana untuk mengurangi perkembangan penyakit yang diinduksi oleh stres oksidatif. Mundar (*G. forbesii* King) merupakan buah yang banyak ditemui di daerah Kalimantan Selatan yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengurangi perkembangan penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa serta aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan metode DPPH. Hasil penapisan fitokimia mengandung senyawa flavonoid dan fenol. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) secara kualitatif menunjukkan adanya bercak kuning berlatar ungu pada pelat KLT dan secara kuantitatif diperoleh nilai IC_{50} sebesar 72,386 ppm. Fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.*

Kata kunci: Kulit buah Mundar, fraksi etil asetat, antioksidan, DPP

ABSTRACT

Free radicals are self-contained atoms, molecules or compounds, having one or more unpaired electrons. Increased production of free radicals can cause oxidative stress. An intake of antioxidant is a simple way to reduce the development of induced oxidative stress pathologies. Mundar (G. forbesii King) usually found in the South Kalimantan that can be used as an antioxidant. This study aimed to find out the compound content and determine the antioxidant activity of ethyl acetate fraction of Mundar rind (G. forbesii King). Antioxidant activity was conducted qualitatively and quantitative uses the method DPPH. The results of phytochemical screening contain flavonoid and phenol compounds. The result of antioxidant activity of ethyl acetate fraction of Mundar rind (G. forbesii King) qualitatively showed the presence of yellow spots on a purple background at Thin Layer Chromatography (TLC) and quantitatively obtained IC₅₀ value was 72,386 ppm. Ethyl acetate fraction of Mundar rind (G. forbesii King) has strong antioxidant activity.

Keywords: Mundar rind, ethyl acetate fraction, antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai elektron satu atau lebih yang tidak berpasangan (Priyanto, 2010). Peningkatan produksi radikal bebas dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara sistem oksidan dan antioksidan, faktor penting yang terlibat adalah stres oksidatif. Beberapa penelitian mengungkapkan stress oksidatif dapat menimbulkan kerusakan sel dan diyakini sebagai penyebab timbulnya berbagai penyakit seperti penyakit

kanker, penyakit yang berhubungan dengan kardiovaskular, dan penyakit degeneratif (Barhe & Tchouya, 2016). Asupan antioksidan adalah cara sederhana untuk mengurangi perkembangan penyakit yang diinduksi oleh stres oksidatif. Beberapa tahun terakhir, minat terhadap antioksidan alami yang berkaitan dengan sifat terapetiknya telah meningkat secara pesat (Barhe *et al.*, 2015).

Dilihat dari kandungannya, ada beberapa buah khas Kalimantan Selatan yang mengandung antioksidan alami (Susi, 2014). Buah tersebut

berasal dari marga *Garcinia* (suku Clusiaceae) dan *Mangifera* (suku Anacardiaceae). Salah satu tanaman yang tergolong dalam marga *Garcinia* (suku Clusiaceae) adalah tanaman Mundar (*Garcinia forbesii* King). Mundar *G. forbesii* King merupakan buah yang banyak ditemui di daerah Kalimantan Selatan dan belum banyak dikenal oleh masyarakat. Studi fitokimia menunjukkan bahwa formula campuran ekstrak kulit buah Mundar, ekstrak Jahe Emprit, ekstrak Pekak, dan ekstrak Kayu Manis dengan pelarut air berpotensi dikembangkan sebagai minuman fungsional kaya antioksidan (Randy, 2014). Ningsih *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit buah Mundar *G. forbesii* mengandung senyawa fenol dan kadar vitamin C yang tinggi sehingga kulit buah Mundar (*G. forbesii*) memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hal tersebut upaya menemukan sumber baru antioksidan perlu dilakukan untuk mengimbangi peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Selain itu penelitian mengenai senyawa yang

diduga bersifat antioksidan dalam fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) belum pernah dilaporkan. Menurut Markham (Tanaya *et al.*, 2015) pelarut etil asetat merupakan pelarut semipolar yang dapat menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti senyawa fenol yaitu flavonoid. Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan dan memiliki toksisitas rendah (Rowe *et al.*, 2009). Oleh karena itu, mendorong peneliti melakukan penelitian yang menguji secara kualitatif aktivitas antioksidan fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan kuantitatif dengan melihat nilai IC₅₀ untuk mengetahui kemampuan fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) dalam meredam radikal bebas DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas,

batang pengaduk, bejana KLT, cawan penguap, corong pisah, kompor listrik, kuvet, labu ukur, lampu UV, lemari pendingin, *micropipet*, pipa kapiler, pipet tetes, pipet ukur, pisau, *rotary evaporator*, seperangkat alat sokhletasi, spatula, spektrofotometer-UV-Vis, *stopwatch*, timbangan analitik, tabung reaksi, dan vial.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *aluminium foil*, amil alkohol, anhidrat asetat, aquades, DPPH, etanol 70%, etil asetat, FeCl_3 , gelatin 1%, HCL pekat, H_2SO_4 pekat, kertas saring, kloroform, kuersetin, kulit buah Mundar, metanol *p.a*, n-heksana, pelat KLT silika gel 60 GF_{254} , pereaksi *Dragendroff*, pereaksi *Lieberman-Burchard*, dan serbuk Mg.

Penyiapan Sampel

Buah Mundar diperoleh dari Kecamatan Astambul, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Determinasi tumbuhan Mundar dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Pusat Penelitian Bogor. Bagian yang digunakan adalah kulit buah Mundar. Kulit buah Mundar yang telah dikumpulkan disortasi basah, dicuci,

dirajang, dikeringkan, disortasi kering dan disimpan dalam wadah tertutup rapat (Departemen Kesehatan RI, 2002).

Ekstraksi

Simplisia kering kulit buah Mundar diekstraksi dengan metode sokhletasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak cair yang didapat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-45°C. Ekstrak kental diuapkan lagi menggunakan *waterbath* hingga didapat bobot tetap.

Fraksinasi

Ekstrak kulit buah Mundar ditimbang 10 g, lalu dilarutkan dalam 100 mL air hingga bercampur rata. Ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambah pelarut n-heksana sebanyak 100 mL. Campuran dipartisi lalu didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan n-heksana dipisahkan, kemudian lapisan air dipartisi lagi dengan pelarut n-heksana sebanyak 100 mL hingga didapat larutan yang jernih. Fraksinasi dilanjutkan dengan penambahan etil asetat 100 mL dengan cara yang sama (Setiawan & Febriyanti, 2017). Fraksi

etil asetat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental. Fraksi kental diuapkan lagi menggunakan *waterbath* hingga didapat bobot tetap.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan triterpenoid.

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mundar

Uji Aktivitas Antioksidan secara Kualitatif

Fraksi etil asetat kulit buah Mundar ditotolkan pada pelat KLT silika gel GF₂₅₄ menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya dielusi dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (3:7). Setelah elusi selesai pelat dikeringkan dan disemprotkan dengan larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol. Senyawa antioksidan akan menunjukkan adanya bercak berwarna kuning dengan latar ungu (Supiyanti *et al.*, 2010).

Uji Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif

Sebanyak 2 mL fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii*

King) dengan konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan ke dalam 2 mL DPPH 0,1 mM. Campuran tersebut diikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit di tempat gelap. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Blanko yang digunakan adalah metanol. Sebagai pembanding digunakan kuersetin dengan perlakuan yang sama dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm.

Analisis Data

Pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh data absorbansi kontrol ($Abs_{kontrol}$) dan absorbansi sampel (Abs_{sampel}) dari fraksi etil asetat kulit buah Mundar. Berdasarkan data tersebut dapat dihitung persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{sampel}}{Abs_{kontrol}} \times 100\%$$

(Puspitasari & Ningsih, 2016).

Setelah didapatkan persentase inhibisi, kemudian ditentukan nilai

IC₅₀ untuk menyatakan aktivitas antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini merupakan suku *Clusiaceae*, jenis *Garcinia forbesii* King. Simplisia kering kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) yang didapat pada penelitian ini sebanyak 1115,59 g dengan rendemen sebesar 11,067%. Ekstraksi kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) dilakukan dengan metode ekstraksi panas yaitu sokhletasi. Metode sokhletasi dipilih karena adanya proses pemanasan yang dapat mempengaruhi proses penarikan jumlah fenol. Semakin tinggi suhu ekstraksi maka kelarutan

senyawa fenolik semakin meningkat (Makoginta, 2013). Ekstrak yang didapat kemudian difraksinasi. Fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) didapat sebanyak 2,05 g dan rendemen sebesar 10,25%. Berdasarkan hasil uji penapisan fitokimia, fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) mengandung senyawa flavonoid dan fenol. Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol dan termasuk salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan yang berfungsi sebagai antioksidan (Zuraida *et al.*, 2017). Menurut Hamid *et al* (2010) dan Dewi *et al* (2014) flavonoid memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas.

Tabel 1. Data penapisan fitokimia fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King)

No.	Jenis Uji	Pereaksi	Fraksi Etil Asetat	Keterangan
1.	Alkaloid	Pereaksi <i>Dragendorff</i>	-	Tidak ada endapan merah bata
2.	Flavonoid	Serbuk Mg + HCL pekat + amil alcohol	+	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alcohol
3.	Fenol	Metanol + FeCl 5%	+	Larutan berwarna hijau kebiruan
4.	Saponin	Aquadest	-	Tidak berbusa
	Steroid	Anhidrat asetat + kloroform + H ₂ SO ₄ pekat	-	Larutan tidak berwarna hijau-biru
5.	Tanin	Gelatin 1%	-	Tidak ada endapan

6.	Triterpenoid	Anhidrat asetat + kloroform + H ₂ SO ₄ pekat	-	putih Larutan tidak berwarna merah-ungu
Keterangan:	+: mengandung senyawa uji		- : tidak mengandung senyawa uji	



Sebelum disemprot DPPH 0,1 mM



Sesudah disemprot DPPH 0,1 mM

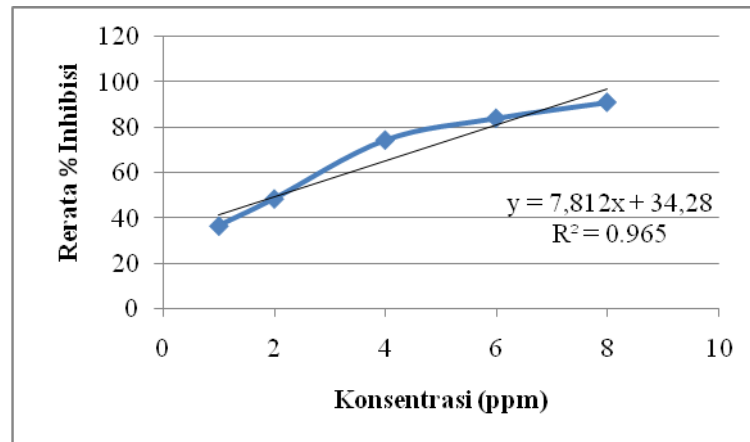
**Gambar 1. Penampakan Bercak Optimasi Fase Gerak n-Heksana : Etil Asetat (3:7)
Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mundar (*G. forbesii* King)**

Fraksi etil asetat kulit buah Mundar yang diuji secara kualitatif menunjukkan adanya bercak kuning berlatar ungu pada pelat KLT (Gambar 1.). Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kulit buah Mundar memiliki aktivitas antioksidan. Perubahan warna ini terjadi dikarenakan adanya senyawa dalam sampel yang mendonorkan atom hidrogen kepada radikal DPPH

sehingga tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil yaitu DPPH-H (Pratiwi *et al.*, 2016). Uji kualitatif ini menggunakan penampak bercak DPPH 0,1 mM dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (3:7). Pada fase gerak n-heksana : etil asetat (3:7) terdapat 4 noda yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai Rf sebesar 0,33; 0,53; 0,71; dan 0,88.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Kuersetin

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Kuersetin	1	0,548	0,344	37,325±2,65	2,038
	2	0,534	0,275	48,564±1,03	
	4	0,517	0,132	74,466±5,79	
	6	0,607	0,097	84,075±1,24	
	8	0,534	0,048	91,074±2,59	



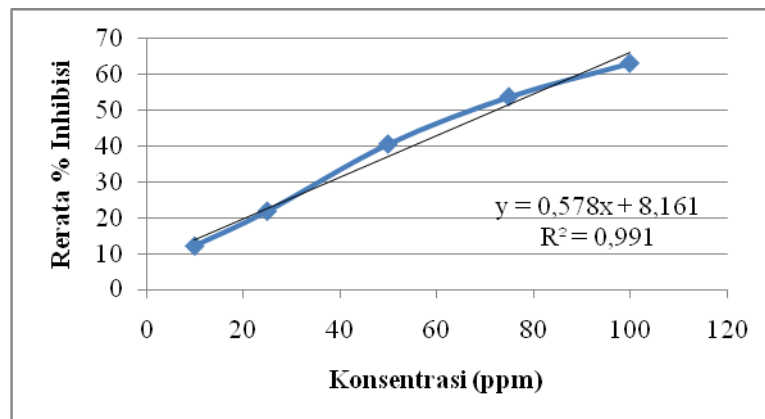
Gambar 2. Kurva Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dengan waktu inkubasi 30 menit pada suhu kamar di tempat gelap. Kontrol positif (senyawa pembanding) yang digunakan dalam penelitian ini adalah

kuersetin. nilai IC_{50} kuersetin adalah 2,038 ppm. Dari nilai tersebut tingkat kekuatan antioksidan kuersetin menunjukkan antioksidan yang sangat kuat. Pengujian aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi sampel yaitu 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm.

Tabel 2. Nilai IC_{50} Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mundar (*G. forbesii* King)

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC_{50} (ppm)
Fraksi etil asetat kulit buah Mundar	10	0,605	0,532	12,121±1,17	72,386
	25	0,495	0,378	21,818±4,37	
	50	0,495	0,294	40,539±1,63	
	75	0,495	0,229	53,737±0,53	
	100	0,495	0,183	63,098±2,22	



Gambar 3. Kurva Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Mundar (*G. forbesii* King)

Nilai IC_{50} fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) adalah 72,386 ppm. Menurut Molyneux (2004) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat (IC_{50} 50-100 ppm), sedang (IC_{50} 100-150 ppm), lemah (IC_{50} 150-200 ppm), dan sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm). Berdasarkan nilai tersebut tingkat kekuatan antioksidan fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) menunjukkan antioksidan yang kuat walaupun memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dari pada kuersetin.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan

bahwa Fraksi etil asetat kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) mengandung senyawa flavonoid dan fenol serta memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang dinyatakan dengan bercak berwarna kuning berlatar ungu pada pelat KLT dengan penampakan bercak optimasi fase gerak n-Heksana : Etil Asetat (3:7) dan memiliki daya antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 72,386 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Barhe, T. A., K. K. Massala, L. C. O. Engonga, & J. Lebibi. 2015. Phytochemical Studies, Total Phenolic and Flavonoids Content and Evaluation of Antiradical Activity of The Extracts of The Leaves From *Dischistocalyx* sp. (Acanthaceae). *Journal of*

- Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3: 174-178.
- Barhe, T. A. & G. R. F. Tchouya. 2016. Comparative Study of The Antioxidant Activity of The Total Polyphenols Extracted from *Hibiscus sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., Yellow Tea and Red Wine Through Reaction With DPPH Free Radicals. *Arabian of Journal Chemistry*. 9: 1-8.
- Departemen Kesehatan RI. 2002. *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta. Hlm 4-15.
- Dewi, N.W.O.A.C., N.M. Puspawati, I. M. D. Swantara, I. A. R. A. Asih, & W. S. Rita. 2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 2: 7-16.
- Hamid, A.A., O.O. Aiyelaagbe, L.A. Usman, O. M. Ameen, & A. Lawal. 2010, Antioxidant: Its Medicinal and Pharmacological Applications. *African Jurnal of Pure anf Applied Chemistry*. 4: 142-151.
- Makoginta, E. P., M. R. J. Runtuwene, & F. Wehantouw. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2: 109-113.
- Markham, K. R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB Press, Bandung.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stabel Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26: 211-219.
- Ningsih, N., S. Yasni, & S. Yuliani. 2017. Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Mundar dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. 28: 27-35.
- Pratiwi, L., A. Fudholi, R. Martien, & S. Pramono. 2016 Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi n-heksana Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 1: 71-82.
- Priyanto. 2010, *Toksikologi, Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Risiko*. Leskonfi, Depok. Hlm 87-99.
- Puspitasari, E. & I. Y. Ningsih. 2016. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salah (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula

- Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *Pharmacy*. 13: 116-126.
- Randy, M. 2014. Kajian Pemanfaatan dan Pengembangan Potensi Ekstrak Mundar *G. forbesii King* sebagai Minuman Fungsional Kaya Antioksidan dan Kestabilannya. *Skripsi*. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institusi Pertanian Bogor. Bogor.
- Rowe, R. C., P. J. Sheskey, & M. E. Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Exipients Sixth Edition*. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, USA. Hlm 254.
- Setiawan, N. C. E. & A. Febriyanti. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr dengan Metode DPPH. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. 1: 1-5.
- Supiyanti, W., E. D. Wulansari, & L. Kusmita. 2010, Uji Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Majalah Obat Tradisional*. 15: 64-70.
- Susi. 2014. Potensi Pemanfaatan Nilai Gizi Buah Eksotik Khas Kalimantan Selatan. *Ziraa'ah*. 39: 144-150.
- Tanaya, V., R. Retnowati, & Suratmo. 2015. Fraksi Semi Polar dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). *Kimia Student Journal*. 1: 778-784.
- Zuraida , Sulistiyani, D. Sajuthi, & I. H. Suparto. 2017. Fenol dan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R. Br.) . *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 35: 211-219.