

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Petai Cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazyl)

Lalu Ahmad Fahrurrozi¹

¹, Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Hamzanwadi

*Corresponding author: Lalu Ahmad Fahrurrozi, email : Laluahmadf@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan mempunyai aktivitas menetralkir senyawa radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kerusakan sel dan jaringan. Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid quersetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazyl). Ekstrak etanol diperoleh dengan mengekstraksi serbuk daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) dengan metode maserasi. Aktivitas antioksidan diukur dengan penangkapan radikal DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 518 nm. Konsentrasi ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) adalah 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm. Dan konsentrasi vitamin C sebagai pembanding adalah 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dengan nilai IC₅₀ 86,309 ppm (aktivitas kuat) dan vitamin C dengan nilai IC₅₀ 10,124 ppm (aktivitas sangat kuat).

Kata kunci : Petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*), flavonoid quersetin, Aktivitas antioksidan, IC₅₀.

ABSTRACT

Antioxidants have the activity of neutralizing free radical compounds which are one of the causes of cell and tissue damage. One of the compounds that have antioxidant activity is the flavonoid quercetin. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of Chinese petai leaves (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) Using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazyl) method. The ethanol extract was obtained by extracting the leaf powder of Chinese petai (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) Using the maceration method. Antioxidant activity was measured by scavenging DPPH radicals with a UV-Vis spectrophotometer at a maximum absorption wavelength of 518 nm. The ethanol extract concentration of Chinese petai leaves (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) Was 200 ppm, 400 ppm, and 600 ppm. And the concentration of vitamin C as a comparison is 2 ppm, 4 ppm, and 8 ppm. The results showed that the ethanol extract of Chinese petai leaves (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) Had the ability to capture free radicals with an IC₅₀ value of 86.309 ppm (strong activity) and vitamin C with an IC value of 10.124 ppm (very strong activity).

Keywords : Chinese petai (*Leucaena glauca (L.) Benth.*), Flavonoid quercetin, antioxidant activity, IC₅₀.

PENDAHULUAN

Indonesia terkenal dengan keragaman flora dan faunanya, hal yang menjadi sorotan adalah keberagaman tanaman tropis yang dimilikinya. Tanaman sejatinya sejak dahulu dijadikan sebagai obat alternatif pengganti obat modern dalam bentuk tumbukan, rebusan, seduhan ataupun perasan (Elfahmi, dkk., 2014; Hamzah, dkk., 2018; Hamzah, dkk., 2019; Hamzah, dkk., 2020).

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan. Radikal bebas dapat mengalami tubrukkan kaya energi dengan molekul lain, yang dapat merusak membran sel, retikulum endoplasma, atau DNA sel yang rentan. Kesalahan DNA

akibat kerusakan radikal bebas diduga berkontribusi terhadap perkembangan beberapa kanker (Corwin, 2007).

Antioksidan didefinisikan sebagai zat yang dalam jumlah kecil, mampu mencegah atau menunda oksidasi bahan mudah teroksidasi. Senyawa antioksidan yang mampu menghambat enzim pengoksidasi tertentu atau zat yang bereaksi dengan oksidator sebelum menyebabkan kerusakan pada molekul lain atau zat yang disekap ion logam atau bahkan zat yang mampu memperbaiki sistem seperti besi mengangkut protein (Brewer, 2011).

Pemanfaat dan penggunaan bahan baku alami sebagai penangkal radikal bebas sangat penting, hal ini merupakan ciri khas dari keamanan produk alami yang cenderung mengurangi efek samping penggunaan yang berkepanjangan. Toksisitas dari antioksidan alami perlu dipertimbangkan dibandingkan produk sintetik yang sejatinya berdampak pada efek samping berkepanjangan. Meskipun tergolong tanaman hutan, petai cina juga memiliki sejuta manfaat dibidang kesehatan, baik dalam hal pemeliharaan ataupun pengobatan alternatif (Arbiastutie dkk., 2017; Pilizza, dkk., 2018). Oleh karena itu, potensi untuk pengembangan obat baru dari tumbuhan dalam mengatasi berbagai penyakit menjadi perhatian utama di masa depan.

Salah satu tumbuhan yang mengandung flavonoid adalah daun petai cina. Menurut Hegarty (1976), menyatakan bahwa petai cina mengandung flavonoid dan alkaloid, yang sering ditemukan pada daun, polong dan biji. Selain senyawa flavonoid dan alkaloid, daun petai cina juga mengandung vitamin A, vitamin B, dan vitamin C. Secara tradisional daun petai cina biasa digunakan sebagai antibakteri, anti tumor (Soerdjotanojo, 1983). Adanya senyawa flavonoid yang terkandung pada daun petai cina dan beberapa khasiat yang terkait, memungkinkan adanya efek antioksidan, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) dengan metode DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

METODELOGI

Bahan Dan Alat

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain : Gelas ukur, cawan penguap, kain flanel, ayakan nomor 30 mesh, blender, timbangan elektrik dan waterbath, Tabung reaksi, mikropipet dan spektrofotometer UV-VIS. Tabung reaksi, pipet tetes, gelas ukur, kertas saring dan waterbath. Simplisia kering daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*), Ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*), Etanol 70 %, DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl), Etanol p.a, Vitamin C.

Metode

Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematis Jurusan Biologi UNDIP Fakultas MIPA untuk mengetahui kebenaran dari daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*).

Pembuatan Simplisia Daun Petai Cina

Penyiapan bahan baku daun petai cina dicuci dahulu dengan menggunakan air mengalir sampai bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dengan ditutup kain hitam. Setelah kering daun dibuat serbuk dengan cara diblender sampai halus dan diayak dengan ayakan nomor 30 mesh

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Petai Cina

Pembuatan ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca (L.) Benth.*) menggunakan metode maserasi dengan perbandingan 1 : 10 bagian untuk 100% ekstrak murni. Maserasi pertama dengan perbandingan 1 : 7,5 bagian Sebanyak 100 g serbuk kering simplisia dimasukkan dalam wadah kemudian diberi pelarut etanol sebanyak 750 ml. Maserasi dilakukan selama 5 hari dalam ruangan yang terlindung dari cahaya matahari dan dilakukan pengadukan secara berkala minimal 3 kali sehari. Setelah itu ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kain flannel, kemudian hasil sarinya di remerasi menggunakan sisa dari pelarut etanol sebesar 250 ml dan didapatkan maserat II. Maserat I dan II digabung, hasil dari maserat tersebut diuapkan pada waterbath temperatur 50°C sehingga diperoleh hasil ekstrak kental (Anief, 2000).

Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 0,5 ml filtrat sampel dengan 5 ml amonia encer dan 5 tetes asam sulfat pekat. Terjadi perubahan larutan menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. (Markham, 1988).

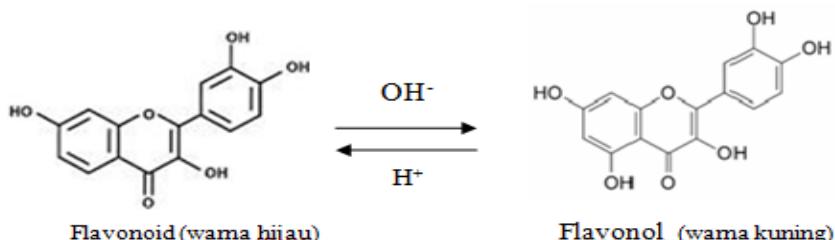
Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode (*2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl*) (DPPH). Ekstrak daun petai cina dibuat dalam tiga konsentrasi (200 ppm, 400 ppm dan 600 ppm) dalam pelarut etanol p.a. Masing-masing ekstrak sampel sebanyak 50 μ l dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0.4 mM dalam ethanol p.a, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama antara 5-30 menit sesuai hasil *operating time* yang diperoleh. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500-525 nm sesuai hasil penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Sebagai pembanding digunakan vitamin C (konsentrasi 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm) dalam pelarut etanol p.a. Nilai IC_{50} dihitung masing-masing dengan menggunakan persamaan regresi dan dilakukan sebanyak 5 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tumbuhan petai cina (*Leucaena glauca* (L.) Benth.) sebagai berikut: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208a-109b-211b-214b-215b-216b-217b-218b...58. Farm. Fabaceae..1a-2b-3b-4b-5a...4. *Leucaena glauca* (L.) Benth.

Pengujian kualitatif senyawa flavonoid dihasilkan seperti terlihat pada reaksi kimia dibawah ini:



Pengujian antioksidan

- Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol daun petai dan vitamin C

Ekstrak etanol daun petai cina dibuat dalam tiga seri konsentrasi yaitu 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm yang diambil dari larutan stok ekstrak. Konsentrasi tersebut digunakan berdasarkan hasil orientasi yang dilakukan sebelum perlakuan. Pembuatan seri konsentrasi vitamin C juga dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, dan 8 ppm.

- Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum

Pengujian antioksidan ekstrak etanol daun petai cina *Leucaena glauca* (L.) Benth. diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,4 mM yang diperoleh adalah pada panjang gelombang 518 nm dengan nilai absorbansi 0,795 sebagai kontrol.

- Operating time* (OT)

Penentuan *operating time* dilakukan untuk menentukan waktu paling tepat larutan uji ekstrak etanol daun petai cina dalam meredam atau bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Penentuan *operating time* dilakukan dengan mereaksikan ekstrak etanol daun petai cina dengan senyawa radikal DPPH kemudian dihomogenkan dan diukur dengan spektrofotometer pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30.

Tabel I. Penentuan operating time

Menit	Absorbansi
0	0,545
5	0,548
10	0,345
15	0,345
20	0,344
25	0,475
30	0,486

- d. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca* (L.) Benth.) dan vitamin C.

Tabel II. Hasil uji aktivitas ekstrak etanol daun petai cina dan vitamin C

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Ekstrak	% Aktivitas
Ekstrak etanol daun petai cina 200 ppm	0,795 0,795 0,795 0,795 Mean SD	0,350 0,349 0,384 0,324 0,366 0,038	55,975 56,101 51,689 59,245 55,752 3,103
Ekstrak etanol daun petai cina 400 ppm	0,795 0,795 0,795 0,795 Mean SD	0,140 0,141 0,125 0,161 0,159 0,040	82,390 82,264 84,277 79,748 82,170 1,859
Ekstrak etanol daun petai cina 600 ppm	0,795 0,795 0,795 0,795 0,795 Mean SD	0,100 0,099 0,089 0,090 0,096 0,095 0,005	87,421 87,547 88,805 88,679 87,925 88,075 0,638
Vitamin C 2 ppm	0,795 0,795 0,795 0,795 0,795 Mean SD	0,763 0,771 0,764 0,773 0,753 0,765 0,008	4,030 3,020 3,900 2,770 5,280 3,800 0,990
Vitamin C 4 ppm	0,795 0,795 0,795 0,795 0,795 Mean SD	0,646 0,641 0,616 0,599 0,637 0,628 0,020	20,000 19,370 22,520 24,470 19,870 21,246 2,178
Vitamin C 8 ppm	0,795 0,795 0,795 0,795 0,795 Mean SD	0,501 0,499 0,492 0,459 0,562 0,503 0,037	36,980 37,230 38,110 42,260 29,310 36,778 4,686

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca* (L.) Benth.) dengan metode DPPH, dengan cara mereaksikan larutan DPPH dengan ekstrak etanol daun petai cina, yang dapat ditandai dengan perubahan warna dari warna ungu DPPH menjadi warna kuning. Aktivitas antioksidan didapatkan dari hasil pembacaan absorbansi pada spektrofotometer. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan larutan uji ekstrak etanol daun petai cina. Semakin besar hasil absorbansi yang terbaca maka semakin kecil pula radikal yang dapat direndam oleh larutan uji, dan nilai absorbansi yang dihasilkan akan berbanding terbalik dengan % aktivitas antioksidan.

Inhibitor Concentration₅₀ (IC₅₀)

Inhibitor Concentration₅₀ (IC₅₀) adalah konsentrasi efektif zat dalam sampel yang dapat menghambat 50 % absorbansi DPPH. Harga IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan zat. Nilai *r* dan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun petai cina dan vitamin C didapatkan dari persamaan regresi linier, dengan memasukkan data konsentrasi zat uji dengan nilai rata-rata % aktivitas antioksidan masing-masing zat uji, dan didapatkan nilai A, B, dan *r*. Kemudian dihitung nilai IC₅₀nya.

Tabel 4: IC₅₀ Ekstrak etanol daun petai cina dan vitamin C

Sampel	Konsentrasi	Rata-rata % aktivitas	IC ₅₀
Ekstrak etanol daun petai cina	200 ppm	55,752%	86,309 ppm
	400 ppm	82,170%	
	600 ppm	88,075%	
Vitamin C	2 ppm	3,800 %	10,25 ppm
	4 ppm	19,750 %	
	8 ppm	37,440%	

Secara teoritis, katagori antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat untuk nilai IC₅₀ 50-100 ppm, sedang jika nilai IC₅₀ 100-150 ppm, rendah jika nilai IC₅₀ 151-200 ppm, dan sangat rendah jika IC₅₀ bermilai >200 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat daya aktivitas antioksidannya. Berdasarkan tabel di atas, bahwa ekstrak etanol daun petai cina memiliki nilai IC₅₀ 86,309 ppm yang dikategorikan ke dalam antioksidan kuat atau 12,5 % dibandingkan dengan vitamin C sebagai pembanding dengan nilai IC₅₀ 10,25 ppm yang dikategorikan dalam antioksidan sangat kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca* (L.) Benth) dengan metode DPPH (2,2Dyphenyl-1- picrylhidrazyl), dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca* (L.) Benth) memiliki aktivitas sebagai antioksidan.
2. Ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca* (L.) Benth) memiliki daya antioksidan 8 kali lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C, dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun petai cina 86,25 ppm dan vitamin C 10,25 ppm.

UCAPAN TERIMKASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Universitas Hamzanwadi untuk dana hibah yang telah diberikan, Teknologi Sediaan Farmasi, Fakultas Kesehatan Universitas Hamzanwadi, dan Petani Ubi jalar ungu Daerah Jenggik Lombok yang telah memfasilitasi dan menyediakan bahan utama dalam penelitian ini sehingga dapat menghasilkan hasil yang bermanfaat untuk masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M, 2000, Ilmu Meracik Obat, Cetakan ke 9, 169, Gadjah Mada UI Press, Yogyakarta
 Arbiastutie Y., Marsono D., Hartati M.S., Purwanto R., 2017. The potential of Understorey Plants from Gunung Gede Pangrango National Park (West Java, Indonesia) as Cervixs Anticancer

Agents.

Biodiversitas J. Biol. Divers. 18.

- Brewer, M.S. 2011. Natural Antioxidant. In: *Biotechnology for Medical Plants: Antioxidan in Medical Plants*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 295
- Corwin , Elizabeth J., 2007. *Handbook of Pathofisiologi*, 3rd Ed.: Lippincot Williams & Wilkins. USA, 33
- Elfahmi Woerdenbag H. J., and Kayser O., 2014. Jamu: Indonesian Traditional Herbal Medicine Towards Rational Phytopharmacological Use. *Journal of Herbal Medicine*. 4(2).
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., dan Nuryastuti, T., 2019. The Inhibition Activity of Tannin on the Formation of Mono-Species and Polymicrobial Biofilm *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. *Majalah Obat Tradisional*, 24: 110–118.
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., dan Nuryastuti, T., 2020. Inhibitory Activity and Degradation of Curcumin as Anti-Biofilm Polymicrobial on Catheters. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11: 830–835.
- Hamzah, H., Pratiwi, S.U.T., dan Hertiani, T., 2018. Efficacy of Thymol and Eugenol Against Polymicrobial Biofilm. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 29: 214.
- Hegarty MP, schinkel RD. Reaction of sheep to the consumption of *Leucaena glauca benth* and to its toxic principle mimosine.
- Markham, K. R., 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*, oleh Padmawinata, K., 10, 15, Penerbit ITB, Bendung
- Soerodjotanojo, 1983. *Membina Usaha Perkebunan Lamtoro Gung*. PN Balai Pustaka, Jakarta.