



Analysis of Antioxidant Activity on the Ethanol Extract of Indonesian Tropical Forest Plants

Anita Rizqiana[✉] dan Sudarmin

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima : 17 Jan 2023
Disetujui : 9 April 2023
Dipublikasikan : Mei 2023

Keywords:

Antioksidan
Metode DPPH
Tanaman Hutan Tropis
Indonesia

Abstrak

Radikal bebas dapat mengakibatkan berbagai penyakit degeneratif pada manusia. Dampak buruk dari radikal bebas dapat diatasi dengan asupan antioksidan ke dalam tubuh. Antioksidan berfungsi untuk menghambat dan menetralkan terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas. Tanaman hutan tropis Indonesia yang terdiri dari Bajakah tampala, Sarang semut, Akar kuning dan Cemara sumatra berpotensi sebagai antioksidan karena senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Untuk mengetahui aktivitas antioksidannya, keempat tanaman tersebut diekstraksi dengan metode maserasi kemudian diuji fitokimia (uji senyawa saponin, tanin, terpenoid, alkaloid dan flavonoid). Ekstrak diuji antioksidan menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Diperoleh hasil, senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman hutan tropis Indonesia yaitu senyawa saponin, tanin, dan flavonoid. Senyawa alkaloid hanya dimiliki oleh tanaman Sarang semut dan Akar kuning, sementara senyawa terpenoid dimiliki oleh Cemara sumatra dan Akar kuning. Senyawa metabolit sekunder mempengaruhi aktivitas antioksidan setiap tanaman. Perbandingan kemampuan aktivitas antioksidan keempat tanaman dari yang paling kuat ke sedang berturut-turut yaitu Sarang semut ($4,71 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$) > Cemara sumatra ($10,54 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$) > Bajakah tampala ($12,86 \pm 0,59 \mu\text{g/ml}$) > Akar kuning ($137,46 \pm 0,80 \mu\text{g/ml}$).

Abstract

Free radicals can cause various degenerative diseases in humans. The bad effects of free radicals can be overcome by intake of antioxidants into the body. Antioxidants function to inhibit and neutralize oxidation reactions involving free radicals. Indonesian tropical forest plants consisting of Bajakah tampala, Sarang semut, Akar kuning and Cemara sumatra have potential as antioxidants because of the secondary metabolites. To determine their antioxidant activity, the four plants were extracted by maceration method and then tested for phytochemicals (test for saponins, tannins, terpenoids, alkaloids and flavonoids). Antioxidant extracts were tested using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method using a Uv-Vis spectrophotometer at a wavelength of 517 nm. The results obtained, secondary metabolite compounds contained in Indonesian tropical forest plants, namely saponins, tannins, and flavonoids. Alkaloid compounds are only owned by the Sarang semut and Akar kuning, while terpenoid compounds are owned by the Cemara sumatra and Akar kuning. Secondary metabolite compounds affect the antioxidant activity of each plant. Comparison of the antioxidant activity from the strongest to the moderate, Sarang semut ($4.71 \pm 0.30 \mu\text{g/ml}$) > Cemara sumatra ($10.54 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$) > Bajakah tampala ($12.86 \pm 0.59 \mu\text{g/ml}$) > Akar kuning ($137.46 \pm 0.80 \mu\text{g/ml}$).

© 2023 Universitas Negeri Semarang

✉Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: anitarizqiana4@gmail.com

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan sangat reaktif sehingga untuk menjadi stabil, ia cenderung akan mengambil elektron dari molekul lain yang menimbulkan ketidaknormalan molekul lain dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak jaringan (Jami'ah *et al.*, 2018). Kerusakan tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Radikal bebas dapat berada di dalam tubuh manusia karena adanya hasil samping dari proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung saat bernafas, metabolisme sel, olahraga atau aktivitas fisik yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi dari luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, industri dan radiasi matahari (Parwata, 2016).

Untuk mengatasi radikal bebas, dibutuhkan asupan antioksidan di dalam tubuh manusia. Antioksidan memiliki peranan yang sangat penting dalam kesehatan tubuh karena fungsinya dapat menghambat dan menetralkan terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas. Tubuh manusia sebenarnya dapat memproduksi antioksidan sendiri berupa enzim seperti superoksida dismutase, katalase dan glutathione peroxidase yang disebut sebagai antioksidan endogen. Jika produksi radikal bebas di dalam tubuh berlebih dan jumlah antioksidan yang diproduksi tubuh sedikit dapat mengakibatkan kondisi yang tidak seimbang, maka diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh yang disebut sebagai antioksidan eksogen (Werdhasari, 2014). Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari bahan alam kaya akan antioksidan yang dapat dikonsumsi oleh tubuh.

Bahan alam di Indonesia tentunya berlimpah, dengan banyaknya keanekaragaman hayati yang diperoleh dari hutan-hutan di seluruh Indonesia. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki hutan hujan tropis paling luas di dunia serta negara nomor tiga setelah Brazil dan Afrika (Maulana *et al.*, 2019). Kawasan hutan hujan tropis di Indonesia diperkirakan luasnya sekitar 1.148.400 km² dan memiliki keanekaragaman hayati yang berlimpah (Sutoyo, 2010). Salah satu contoh tanaman hutan tropis Indonesia yang populer di kalangan masyarakat karena khasiatnya untuk kesehatan adalah tanaman Bajakah tampala, Sarang semut, Akar kuning dan Cemara sumatra. Tanaman Bajakah tampala memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, tanin, flavonoid yang dapat berfungsi sebagai aktivitas antioksidan (Fitriani *et al.*, 2020). Tanaman ini juga memiliki bioaktivitas lainnya seperti antikanker, antibakteri dan penyembuh luka.

Sarang semut juga dipercaya mengandung antioksidan. Tanaman ini berasal dari Papua dan banyak dijumpai di daerah pinggir pantai, bakau dan pegunungan dengan ketinggian 2400 mdpl (Sada *et al.*, 2018). Tanaman Akar kuning juga terbukti memiliki aktivitas antioksidan akibat kandungan yang di dalamnya yaitu mengandung alkaloid, berberin dan flavonoid (Rachmawati & Ulfa, 2018). Selain itu, Cemara sumatra juga merupakan salah satu tanaman hutan tropis Indonesia yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Cemara sumatra berasal dari wilayah Gunung Kerinci, Jambi (Rachmat, 2010). Tanaman ini memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas antikanker. Senyawa tersebut adalah paclitaxel yang merupakan golongan senyawa diterpen yang sangat kompleks (Hidayat *et al.*, 2014). Menurut Sukiman (2010) tanaman Cemara sumatra memiliki potensi sebagai aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Keempat tanaman hutan tropis ini, yaitu Bajakah tampala, Sarang semut, Akar kuning dan Cemara sumatra sama-sama memiliki potensi sebagai aktivitas antioksidan. Kemampuan sebagai antioksidan akan diuji menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Tanaman-tanaman tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi dan ekstrak yang dihasilkan diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terdapat pada keempat tanaman tersebut.

Metode

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas kimia (pyrex), erlenmayer (pyrex), tabung reaksi tertutup, labu takar 10 ml (pyrex), pipet dan *ball* pipet, pipet tetes, corong, pipet mikro, *micropipette tip*, spatula, kaca arloji, plastik *wrap*, alumunium foil, neraca timbang (Ohaus), blender, *rotary vacuum evaporator*, sentrifuge, Spektrofotometer UV-Vis (FLUOstar Omega) dan Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared/FTIR* (Perkin Elmer UATR *Spectrum Two*). Bahan yang digunakan dalam penelitian yakni sampel tanaman hutan tropis yang terdiri dari Bajakah tampala, Sarang semut, Akar kuning dan Cemara sumatra, menggunakan pelarut etanol teknis 70%, metanol p.a. (Merck), dan reagen DPPH, aquades, FeCl₃ 5% (Merck), NaOH (Merck), H₂SO₄ (Merck), larutan HCl 2M (Merck), reagen dragendroff, kloroform (Merck).

Tanaman hutan tropis yang terdiri dari Bajakah tampala, Sarang semut, Akar kuning dan Cemara sumatra dibuat simplisia kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam. Ekstrak

yang dihasilkan, dikentalkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji saponin, tanin, terpenoid, alkaloid dan flavonoid. Setiap ekstrak dianalisis gugus fungsinya menggunakan Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Setelah itu, ekstrak diuji antioksidan menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) pada konsentrasi 2,5; 5,0; 7,5 dan 12,5 µg/ml dan diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Hasil dan Pembahasan

Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman dapat dipisahkan dengan menggunakan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pencarian suatu senyawa atau kelompok senyawa menggunakan pelarut tertentu dengan sifat kepolaran senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi dengan beberapa kelebihan diantaranya :

1. Senyawa yang mudah rusak akan tetap terjaga dengan baik, karena tidak menggunakan suhu tinggi pada saat ekstraksi.
2. Jumlah sampel yang diekstraksi dapat dilakukan dengan jumlah yang banyak, karena wadahnya dapat dimodifikasi sesuai dengan jumlah sampel.
3. Tidak menggunakan peralatan khusus. Wadah apa saja dapat digunakan untuk maserasi sejauh tidak bereaksi atau dapat larut dengan pelarut yang digunakan (Saidi, 2018).

Maserasi sampel tanaman dilakukan selama 3 x 24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan massa sampel dan volume pelarut yaitu 1:10. Etanol memiliki kemampuan untuk menarik zat aktif flavonoid, antrakinon, glikosida, alkaloid basa, kumarin, tanin, dan saponin. Selain itu, etanol juga memiliki beberapa keuntungan diantaranya yaitu tidak beracun, jamur dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, bersifat netral, dapat bercampur dengan air, memiliki titik didih yang rendah, dan menetralkan enzim-enzim yang dapat merusak metabolit sekunder (Wicaksono & Ulfah, 2017). Semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin banyak senyawa yang dapat diekstrak. Selain itu, waktu juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi. Waktu maserasi yang tepat akan menghasilkan senyawa yang optimal sedangkan jika waktu maserasi yang terlalu singkat mengakibatkan tidak semua senyawa terlarut dalam pelarut dan waktu maserasi yang terlalu lama akan mengakibatkan rusaknya senyawa aktif yang diekstrak (Putra *et al.*, 2020).

Hasil ekstraksi disaring kemudian filtratnya dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada temperatur 45 °C dengan kecepatan ± 70 rpm. Proses evaporasi ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi. Ekstrak kental yang didapat, dikeringkan secara dingin untuk memperoleh ekstrak kering yang selanjutnya ditimbang untuk mengetahui persen randemennya. Hasil persen randemen yang diperoleh disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai % Randemen Tanaman Hutan Tropis Indonesia

Tanaman	Berat Sampel Kering (g)	Berat Ekstrak (g)	Randemen (%)
Bajakah tampala	50	6,1557	12,31
Cemara sumatra	50	7,1541	14,30
Sarang semut	100	4,0560	4,06
Akar kuning	200	4,8495	2,43

Ekstrak yang diperoleh diuji fitokimia terlebih dahulu untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam tanaman. Hasil uji fitokimia disajikan pada Tabel 2. Uji saponin dilakukan dengan cara ekstrak tanaman dilarutkan dengan aquadest lalu dikocok. Ekstrak tanaman positif mengandung saponin jika setelah dikocok menimbulkan busa. Terbentuknya busa disebabkan karena saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam pelarut polar atau hidrofilik, dan sebagian lainnya larut dalam pelarut non polar atau hidrofobik seperti ditunjukkan pada Gambar 1 (Rahmi & Eriani, 2011). Senyawa ini memiliki gugus polar dan non polar bersifat aktif permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan pelarutnya dapat membentuk misel. Struktur misel terjadi karena gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non polarnya menghadap ke dalam, maka dari itu terlihat seperti busa (Manongko *et al.*, 2020). Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, dapat dilihat bahwa tanaman Bajakah tampala, Sarang semut, Cemara sumatra dan Akar kuning mengandung senyawa saponin. Dari keempat tanaman tersebut yang paling banyak busanya yaitu Akar kuning, baru kemudian Bajakah tampala, dilanjut dengan Cemara sumatra dan terakhir yang paling sedikit busanya adalah tanaman Sarang semut.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Tanaman Hutan Tropis Indonesia

No.	Uji Fitokimia	Metode	Hasil Tanaman			
			Cs	Bt	Ss	Ak
1	Saponin	Aquadest + penggojogan Jika (+) terdapat busa	(+)	(+)	(+)	(+)
2	Tanin	FeCl ₃ Jika (+) berwarna hijau kecoklatan	(-)	(+)	(+)	(-)
3	Terpenoid	Kloroform + H ₂ SO ₄ Jika (+) terdapat cincin berwarna hijau	(+)	(-)	(-)	(+)
4	Alkaloid	HCl + Dragendroff Jika (+) terdapat endapan coklat	(-)	(-)	(+)	(+)
5	Flavonoid	Etanol + NaOH + H ₂ SO ₄ Jika (+) perubahan warna kuning dalam larutan ketika ditambah H ₂ SO ₄ akan kembali warna semula	(+)	(+)	(+)	(+)

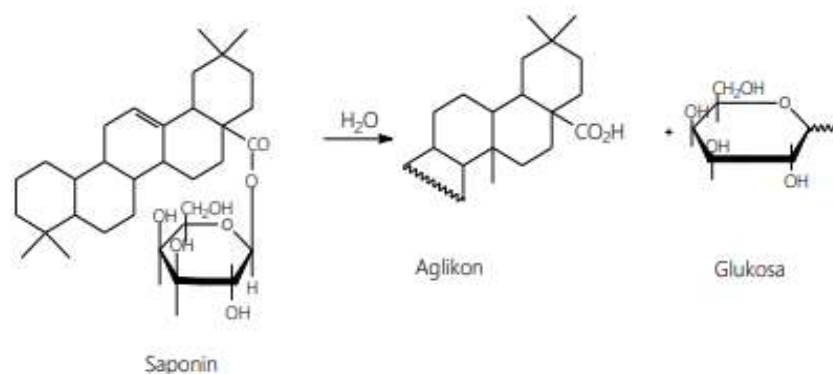
Keterangan :

Cs = Cemara sumatra

Bt = Bajakah tampala

Ss = Sarang semut

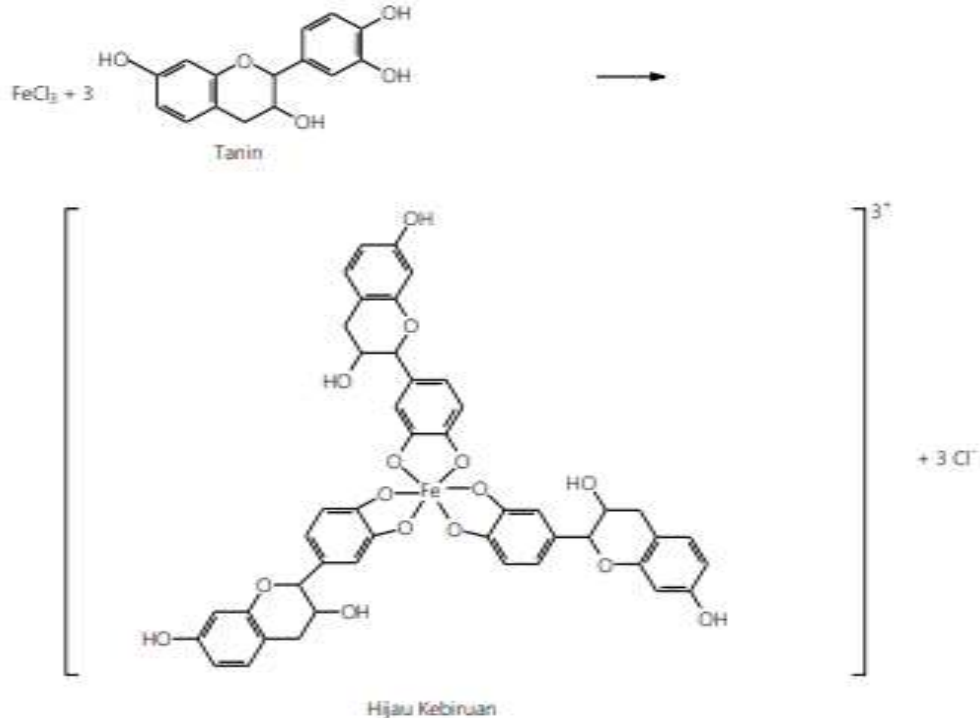
Ak = Akar kuning

**Gambar 1.** Reaksi Saponin dengan Air
(Sumber Gambar : Marliana *et al.*, 2005)

Uji tanin dilakukan dengan penambahan FeCl₃ pada ekstrak yang sudah dilarutkan menggunakan aquadest. Jika suatu tanaman tersebut mengandung senyawa tanin akan menunjukkan perubahan warna menjadi hijau. Hal ini dikarenakan, senyawa tanin akan terkondensasi dan menghasilkan senyawa berwarna hijau ketika ditambahkan dengan ferri klorida (Julianto, 2019). Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, tanaman yang mengandung senyawa tanin yaitu Bajakah tampala dan Sarang semut dengan ditandai perubahan warna menjadi hijau kecoklatan. Warna coklat yang dihasilkan berasal dari warna ekstrak itu sendiri, sehingga ketika ditambah dengan ferri klorida terbentuk warna hijau kecoklatan. Sedangkan untuk ekstrak akar kuning berwarna kuning seperti warna sebelumnya dan ekstrak Cemara sumatra juga tetap sama tidak ada perubahan warna menjadi hijau, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak Akar kuning dan Cemara sumatra negatif tanin. Reaksi tanin dengan FeCl₃ dapat dilihat pada Gambar 2.

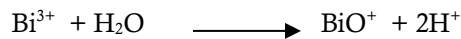
Uji terpenoid dilakukan dengan cara 2 mg ekstrak ditambah 2 mL kloroform dan beberapa tetes asam sulfat pekat. Menurut Samejo *et al.*, (2013) senyawa terpenoid dapat larut dalam pelarut organik namun biasanya tidak larut dalam air. Senyawa ini cenderung bersifat nonpolar sehingga pemilihan pelarut kloroform untuk melarutkan ekstrak sangat cocok dan sesuai. Senyawa terpenoid menunjukkan positif di dalam kandungan kimia sebuah tanaman, jika setelah direaksikan dengan asam sulfat membentuk cincin biru-hijau dalam larutan. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak etanol tanaman hutan tropis Indonesia yang mengandung terpenoid adalah Akar kuning dan Cemara sumatra dengan terbentuknya

cincin hijau pada larutan setelah direaksikan dengan asam sulfat pekat. Sedangkan Sarang semut dan Bajakah tampala tidak terdapat cincin hijau hanya berwarna hitam kecoklatan (Bajakah tampala) dan berwarna hitam keunguan (Sarang semut). Hal ini menunjukkan bahwa Sarang semut dan Bajakah tampala negatif terpenoid.



Gambar 2. Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$
(Sumber Gambar : (Marliana *et al.*, 2005))

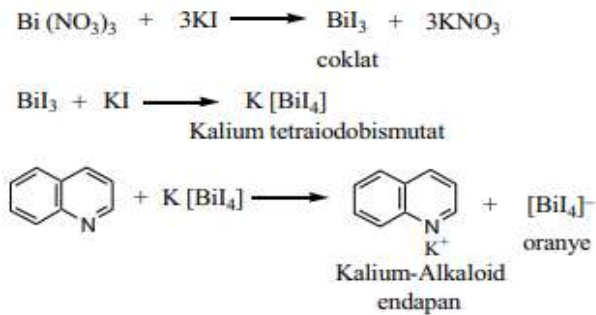
Uji alkaloid pada penelitian ini menggunakan pereaksi dragendroff dan ditambah dengan asam klorida. Ekstrak etanol tanaman hutan tropis Indonesia ditimbang sebanyak 2 mg kemudian dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 5 ml lalu ditambah HCl hingga terjadi reaksi. Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Marliana *et al.*, 2005). Setelah ditambah dengan HCl, kemudian dimasukkan reagen dragendroff sebanyak 1 ml. Hasil positif alkaloid pada uji dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada proses pembuatan reagen dragendroff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismuth mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), yang ditunjukkan pada reaksi berikut.



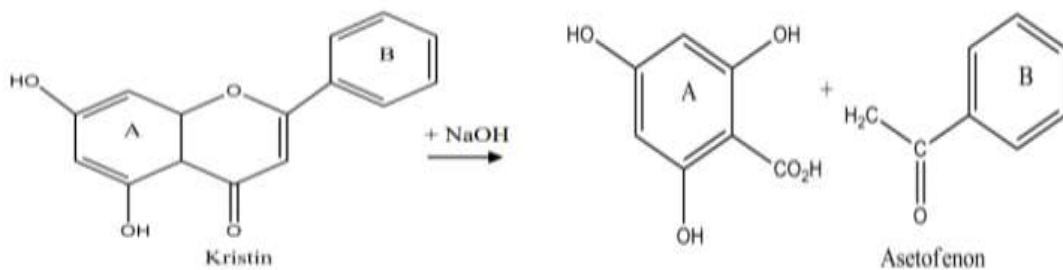
Supaya ion Bi^{3+} tetap terdapat dalam larutan, diperlukan penambahan asam yang mengakibatkan kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990). Dalam uji alkaloid menggunakan pereaksi dragendroff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, tanaman yang mengandung alkaloid yaitu Sarang semut dan Akar kuning dengan ditandai adanya endapan coklat. Sedangkan untuk Bajakah tampala dan Cemara sumatra negatif alkaloid dengan tidak terbentuk endapan coklat. Gambar 3 menunjukkan reaksi uji alkaloid menggunakan pereaksi dragendroff.

Uji flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi NaOH dan H_2SO_4 mengutip dari metode yang dilakukan oleh Alabri *et al.*, (2014). Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 2 mg kemudian dilarutkan menggunakan etanol lalu ditetesi sedikit larutan NaOH. Perubahan warna kuning dalam larutan kemudian ditambah asam sulfat pekat hingga warna kuningnya hilang atau ekstrak tidak berwarna, hal ini menunjukkan jika tanaman positif mengandung senyawa flavonoid. Perubahan warna kuning disebabkan

oleh senyawa kristin yang merupakan turunan dari senyawa flavon. Pada penambahan NaOH, senyawa tersebut mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprena (pada Gambar 4).

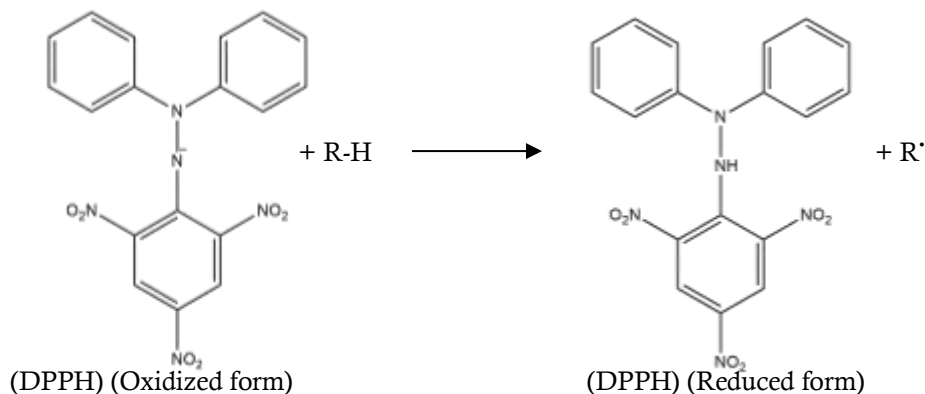


Gambar 3. Reaksi Uji Alkaloid dengan Dragendroff
(Sumber Gambar : Marlina *et al.*, 2005)



Gambar 4. Reaksi Flavonoid dengan NaOH
(Sumber Gambar : Kusnadi dan Egie, 2017)

Berdasarkan hasil diperoleh bahwa Akar kuning, Sarang semut, Bajakah tampala dan Cemara sumatra positif mengandung flavonoid. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna kuning ketika ditetesi dengan NaOH dan akan kembali seperti semula atau warna kuningnya hilang ketika ditetesi dengan asam sulfat pekat. Dikarenakan ekstrak memiliki warna sendiri seperti akar kuning yang warna awalnya kuning, maka ketika ditetesi NaOH menjadi kuning pekat. Seperti sarang semut dan Bajakah tampala juga memiliki warna ekstrak coklat menjadi coklat pekat saat ditambah NaOH. Sedangkan untuk Cemara sumatra warna ekstrak sebelumnya kuning kecoklatan kemudian setelah ditambah NaOH menjadi coklat jingga.



Gambar 5. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan
(Sumber Gambar : Sarfina *et al.*, 2017)

Setelah diuji fitokimia, ekstrak etanol tanaman hutan tropis Indonesia kemudian diuji antioksidan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Reagen DPPH merupakan senyawa radikal bebas

yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Selain itu, metode ini memiliki keunggulan yaitu sederhana, mudah, cepat, peka dan memerlukan sedikit sampel, akan tetapi dengan jumlah pelarut pengencer yang cukup banyak (Sarfina *et al.*, 2017).

Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal bebas akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning ketika elektron dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Sarfina *et al.*, 2017). Reaksi yang terjadi seperti pada Gambar 5.

Nilai aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan menghitung nilai IC₅₀ dari setiap tanaman. Sebelum menghitung nilai IC₅₀ diperlukan untuk menghitung persen inhibisi terlebih dahulu untuk menentukan persamaan regresi linear. Persen inhibisi diperoleh dengan cara mengurangi absorbansi kontrol yang sudah diketahui dengan absorbansi sampel yang diketahui dan hasilnya dibagi dengan absorbansi kontrol lalu dikali seratus persen. Lebih jelasnya dapat dilihat melalui rumus berikut.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100 \%$$

Persen inhibisi memiliki keterkaitan dengan absorbansi yang diperoleh. Semakin besar absorbansi sampel yang dihasilkan maka semakin kecil persen inhibisi yang diperoleh. Begitu pula dengan kenaikan persen inhibisi diakibatkan oleh penurunan absorbansi sampel. Penurunan absorbansi sampel disebabkan oleh kenaikan konsentrasi sampel dari masing-masing ekstrak tanaman. Dengan demikian dapat diartikan, semakin tinggi konsentrasi dalam sampel, semakin rendah absorbansinya dan menghasilkan persen inhibisi yang semakin tinggi. Berikut data perolehan persen inhibisi dari masing-masing ekstrak tanaman dan pembandingnya vitamin C pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Perolehan Persen Inhibisi dari Masing-masing Sampel

Tanaman	Konsentrasi (µg/mL)	Inhibisi (%)			Rata-rata (%)
		1	2	3	
Bajakah tampala	2,5	23,91	23,62	22,46	23,33
	5,0	29,72	29,43	27,59	28,91
	7,5	38,82	38,24	37,75	38,27
	12,5	50,15	48,31	46,76	48,41
Cemara sumatra	2,5	25,07	23,91	19,65	22,88
	5,0	33,4	33,2	33,11	33,24
	7,5	43,66	41,43	39,98	41,69
	12,5	55,95	55,18	54,79	55,31
Sarang semut	2,5	35,24	33,79	33,59	34,21
	5,0	57,5	56,63	51,89	55,34
	7,5	68,34	67,67	66,51	67,51
Akar kuning	12,5	86,54	86,54	86,06	86,38
	2,5	11,52	11,52	11,42	11,49
	5,0	12,2	12	12	12,07
	7,5	13,17	12,68	12,39	12,75
Vitamin C	12,5	14,33	14,23	14,33	14,30
	2,5	19,26	18,49	16,94	18,23
	5,0	40,17	34,46	34,08	36,24
	7,5	56,34	53,82	47,63	52,60
	12,5	79,96	79,19	68,83	75,99

Konsentrasi sampel berbanding lurus dengan nilai inhibisi. Semakin besar konsentrasi maka semakin besar nilai persen inhibisinya. Pada Tabel 3. dapat diketahui bahwa nilai persen inhibisi paling besar pada konsentrasi 12,5 µg/mL dalam masing-masing sampel. Diantara kelima sampel, tanaman Sarang semut memiliki persen Inhibisi yang paling besar yaitu sebanyak 86,38 % meskipun dengan konsentrasi tertinggi 12,5 µg/mL (relatif kecil atau sedikit) mampu memperoleh persen Inhibisi sebesar itu.

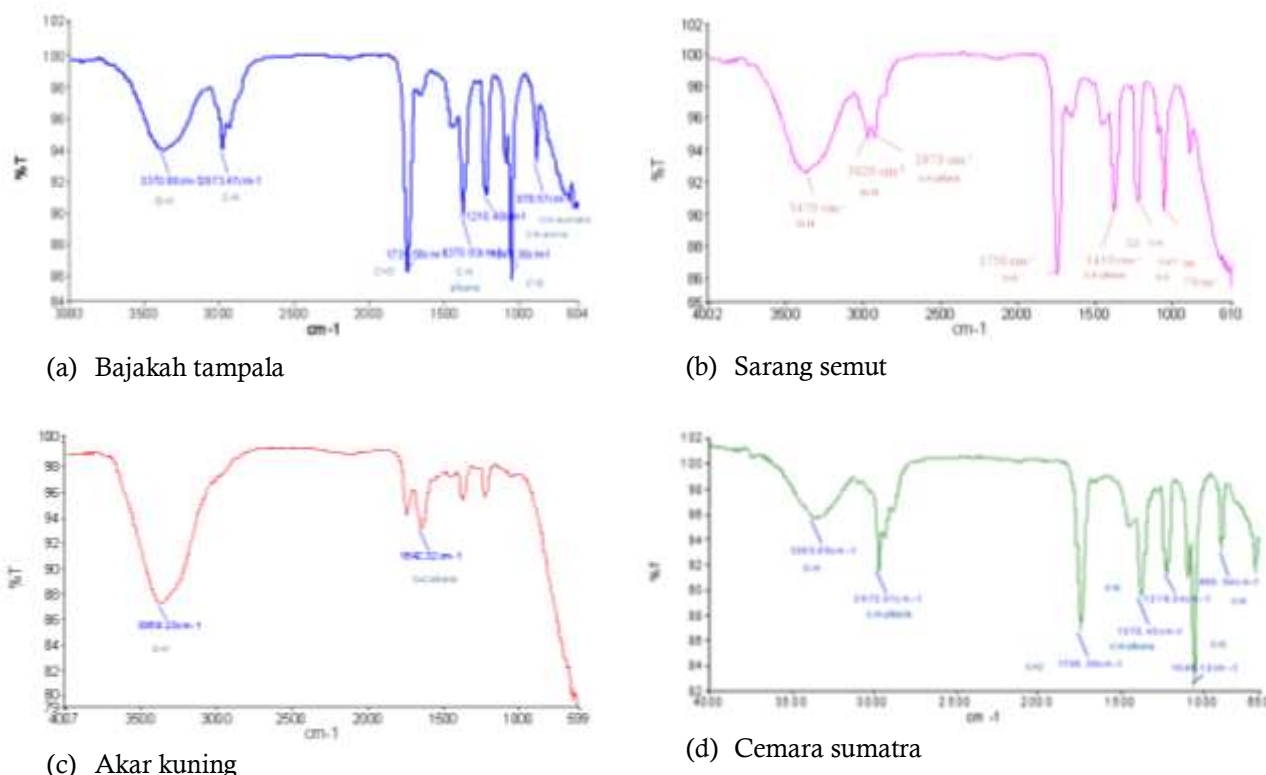
Dibandingkan dengan pembanding Vitamin C, Sarang semut lebih unggul daripada Vitamin C. Persen inhibisi vitamin C pada konsentrasi 12,5 µg/mL diperoleh sebanyak 75,99%. Dengan demikian, aktivitas antioksidan Sarang semut paling kuat diantara kelima sampel, baru kemudian disusul dengan Vitamin C.

Urutan ketiga aktivitas antioksidan yang terkuat yaitu Cemara sumatra dengan persen Inhibisinya sebesar 55,31%, kemudian baru Bajakah tampala dengan persen inhibisinya 48,41%. Terakhir yang paling lemah diantara kelima sampel adalah Akar kuning dengan persen Inhibisi yang diperoleh sebanyak 14,30%. Hal ini dapat diartikan, jika tanaman Akar kuning ingin mendapatkan persen inhibisi sebanyak tanaman Sarang semut, maka konsentrasi akar kuning harus ditambah kurang lebih enam kali lipat dari konsentrasi awalnya.

Setelah didapat persen inhibisi kemudian diperoleh persamaan regresi linear untuk menghitung nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan pada nilai y. Setelah mensubstitusikan nilai 50, diperoleh nilai x sebagai nilai IC_{50} (Tristantini *et al.*, 2016). Berdasarkan perhitungan yang terdapat pada lampiran, diperoleh nilai IC_{50} pada masing-masing ekstrak seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai IC_{50} dari Masing-masing Sampel dan Aktivasnya

No.	Tanaman Hutan Tropis + Pembanding Vit.C	Nilai IC_{50} (µg/mL)	Bioaktivitas Antioksidan
1.	Sarang semut	$4,71 \pm 0,30$	Sangat Kuat
2.	Vitamin C	$7,33 \pm 0,23$	Sangat Kuat
3.	Cemara sumatra	$10,54 \pm 0,26$	Sangat Kuat
4.	Bajakah tampala	$12,86 \pm 0,59$	Sangat Kuat
5.	Akar kuning	$137,46 \pm 0,80$	Sedang



Gambar 6. Hasil FTIR Tanaman Hutan Tropis Indonesia

Berdasarkan Tabel 4, dapat diketahui bahwa nilai IC_{50} sebanding dengan aktivitas, semakin kuat aktivitas antioksidannya maka semakin kecil nilai IC_{50} yang didapat. Tanaman Sarang semut diketahui sangat kuat aktivitas antioksidannya dengan nilai IC_{50} sebesar $4,71 \pm 0,30 \mu\text{g/mL}$. Kemudian disusul dengan

Vitamin C yang tergolong kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $7,33 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$. Setelah itu urutan ketiga terkuat yaitu Cemara sumatra dengan nilai IC_{50} sebesar $10,54 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$. Kemudian urutan keempat yang teridentifikasi aktivitas antioksidannya kuat yaitu tanaman Bajakah tampala dengan nilai IC_{50} sebesar $12,86 \pm 0,59 \mu\text{g/mL}$. Terakhir, yang paling lemah aktivitas antioksidannya dibandingkan dengan sampel yang lain yaitu tanaman Akar kuning dengan nilai IC_{50} sebesar $137,46 \pm 0,80 \mu\text{g/mL}$ (termasuk kategori sedang). Terjadi perbedaan kekuatan aktivitas antioksidannya kemungkinan terbesar menjadi penyebab adalah senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam masing-masing tanaman. Analisis gugus fungsi pada ekstrak tanaman digunakan untuk memperkuat adanya senyawa metabolit sekunder pada tanaman hutan tropis Indonesia. Berikut hasil spektra IR yang diperoleh, ditampilkan pada Gambar 6.

Nilai IC_{50} menunjukkan kemampuan antioksidan dari tanaman. Semakin kecil nilainya maka semakin kuat kemampuan antioksidannya. Data yang diperoleh dianalisis statistik *One way* Anova dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menggunakan *software* SPSS versi 25. Tujuan dilakukan analisis *One way* Anova untuk mengetahui perbedaan signifikan nilai aktivitas antioksidan dari keempat tanaman hutan tropis Indonesia guna mengetahui perbandingan kemampuan diantaranya mana yang paling terbaik. Muhid (2019) menyampaikan bahwa hasil uji anova dapat diketahui dengan cara membandingkan taraf signifikansi yang telah ditentukan ($\alpha = 0,05$) dengan nilai signifikan yang diperoleh. Jika nilai signifikan $> 0,05$ maka H_0 diterima dan jika nilai signifikan $< 0,05$ maka H_0 ditolak (Muhid, 2019). Berdasarkan Tabel 5 diperoleh nilai signifikan sebesar 0,00 dimana kurang dari 0,05 menunjukkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima. Artinya, terdapat perbedaan variansi yang signifikan pada kelompok populasi.

Tabel 5. Hasil Uji Anova

	<i>Sum of Squares</i>	df	<i>Mean Square</i>	F	Sig.
<i>Between Groups</i>	159619,959	4	39904,990	60438,907	,000
<i>Within Groups</i>	6,603	10	,660		
Total	159626,562	14			

Perbandingan kemampuan aktivitas antioksidan dari keempat tanaman hutan tropis Indonesia dapat diketahui dengan melanjutkan analisis *post hoc* LSD-Duncan. Jika hasil uji anova dinyatakan memiliki perbedaan signifikan ($p < 0,05$) maka diperbolehkan untuk melanjutkan uji *post hoc* LSD-Duncan. Hasil uji *post hoc* LSD-Duncan terdapat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji *Post Hoc*-Duncan

	Ekstrak tanaman	N	<i>Subset for alpha = 0.05</i>				
			1	2	3	4	5
Duncan	Sarang semut	3	9,4200				
	Vitamin C	3		14,6500			
	Cemara sumatra	3			21,0867		
	Bajakah tampala	3				25,7267	
	Akar kuning	3					275,2400
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Uji duncan merupakan lanjutan dari uji LSD yang menampilkan hasil yang lebih ringkas dan dapat diartikan sebagai kesimpulan. Perbandingan aktivitas antioksidan dari setiap tanaman dapat diketahui dengan melihat hasil tabel dari kiri ke kanan yang menunjukkan ekstrak tanaman mana yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dan paling lemah. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya karena dapat meredam radikal bebas dengan baik. Hasil analisis duncan, nilai IC_{50} yang paling kecil adalah ekstrak tanaman Sarang semut dimana menunjukkan ekstrak tanaman tersebut yang paling kuat diantara tanaman yang lain. Urutan kedua yang masuk kateogri sangat kuat aktivitas antioksidannya yaitu Vitamin C, lalu ekstrak Cemara sumatra, baru kemudian Bajakah tampala. Nilai IC_{50} Akar kuning paling besar dan jauh perbedaannya dengan ekstrak lainnya menunjukkan bahwa ekstrak Akar

kuning paling lemah aktivitas antioksidannya dibanding dengan yang lain. Meskipun paling lemah diantara keempat tanaman tersebut, jika dilihat dari nilai IC_{50} Akar kuning termasuk pada kategori sedang. Dengan demikian, dapat disimpulkan nilai aktivitas antioksidan dari yang paling kuat dan paling lemah diantara keempat tanaman hutan tropis Indonesia yang dipilih yaitu ekstrak Sarang semut > Cemara sumatra > Bajakah tampala > Akar kuning.

Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman hutan tropis Indonesia diantaranya, Senyawa saponin dan tanin terkandung dalam Bajakah tampala dan Sarang semut. Senyawa terpenoid dimiliki oleh Akar kuning dan Cemara sumatra. Senyawa alkaloid dimiliki oleh Sarang semut dan Akar kuning. Senyawa flavonoid terkandung dalam keempat tanaman tersebut. Gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak etanol tanaman Bajakah tampala (O-H, C-H alifatik, C=O *stretch*, C-O alkohol primer, C-H alkana dan aromatik). Gugus fungsi Sarang semut dan Cemara sumatra sama dengan Bajakah tampala ditambah C-N dan N-H untuk Sarang semut. Gugus fungsi Akar kuning (O-H, C-H alifatik, C-N dan C-H). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol tanaman Hutan Tropis Indonesia dari yang paling kuat ke sedang ditandai dari nilai IC_{50} yaitu Sarang semut ($4,71 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$) > Cemara sumatra ($10,54 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$) > Bajakah tampala ($12,86 \pm 0,59 \mu\text{g/ml}$) > Akar kuning ($137,46 \pm 0,80 \mu\text{g/ml}$).

Daftar Pustaka

- Agroteknologi, P. S. (2010). Keanekaragaman Hayati Indonesia Suatu Tinjauan: Masalah dan Pemecahannya Sutoyo. *10*, 101–106.
- Cheng, X., Wan, J., Li, P., & Qi, L. (2011). Ultrasonic / microwave assisted extraction and diagnostic ion filtering strategy by liquid chromatography – quadrupole time-of-flight mass spectrometry for rapid characterization of flavonoids in *Spatholobus suberectus*. *Journal of Chromatography A*, 1218(34), 5774–5786.
- Fitriani, Sampepna, E., & Saputra, S. H. (2020). Karakteristik Tanaman Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) dari Loakulu Kabupaten Kutai Kartanegara. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 14(2), 365–376.
- Heliawati, L. (2018). Kimia Bahan Organik Alam. *Pascasarjana UNPAK*, 1–142.
- Hidayat, A., Rachmat, H. H., & Subiakto, A. (2014). *Mutiara Terpendam dari Zamrud Sumatra*.
- Iskandar, D., & Warsidah, W. (2020). Qualitative Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanol Root Extract of *Spatholobus littoralis* Hassk. *The Journal of Food and Medicinal Plants*, 1(1), 13–15.
- Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., & Nurhikma, E. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 4(1), 33–38.
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9).
- Kusnadi, K. & Egie Triana, D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*, 2(1), 56-57.
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*). *Jurnal MIPA*, 9(2), 64.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis

- Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Maulana, A., Suryanto, P., Widiyatno, W., Faridah, E., & Suwignyo, B. (2019). Dinamika Suksesi Vegetasi pada Areal Pasca Perladangan Berpindah di Kalimantan Tengah. *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 13(2), 181.
- Muhid, A. (2019). Analisis Statistik. In *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53 (9).
- Parwata, M. O. A. (2016). Bahan Ajar Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, April, 1–54.
- Rachmawati, E., & Ulfa, E. U. (2018). Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) terhadap Hepar dan Ginjal Subchronic Toxicity Test of Yellow Root Extract (*Arcangelisia flava* Merr) on Hepar and Renal. *Global Medical and Health Communication*, 6(July 2017), 1–6.
- Rahmi, K., & Eriani, W. (2011). Potency of Java Ginseng (*Talinum Paniculatum* Gaertn.) Root Extract on Quality And Viability of Mice Sperm. *Jurnal Natural*, 11(1), 1–5.
- Rekayasa dan Manajemen Agroindustri, J., Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao sebagai Sumber Antioksidan, P., Kadek Widhiana Putra, I., Ganda Putra, G., & Putu Wrasati, L. (2020). *The Effect Of Ratio Between Material And Solvent And Maceration Time On Cocoa Beans Husk Ekstrak (Theobroma cacao L.) As A Source Of Antioxidants*. 8(2), 167–176.
- Qayyim, I. (2019). Hutan Tropis dan Faktor Lingkungannya. *Ekologi Hutan Tropis*, 1–43.
- Saidi, N. B. G. M. M. (2018). *Analisis Metabolit Sekunder*. Syiah Kuala University Press.
- Sarfina, J., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Daun Ricinus Communis L (Jarak Kepyar). *Alotrop*, 1(1), 66–70.
- Svehla, G. 1990. Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro. Edisi kelima. Penerjemah: Setiono, L. dan A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: PT Kalman Media Pusaka.
- Sukiman, H. (2010). Endofit Cemara sumatra (Miquel) de Laubenfels dan Potensinya Dalam Memproduksi Senyawa Bioaktif Sebagai Sumber Antioksidan. *Berita Biologi*, 10(3), 349–360.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Tegar Pradana, B., & Gabriel Jonathan, J. (2016). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*, 0(0), 1.
- Ulfa, E. U., & Rachmawati, E. (2016). *Antihypercholesterolemic Effect Of Arcangelisia Flava Stem Extract In Hyperlipidemic Rats*. 1, 31–34.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.
- Wicaksono, I. B., & Ulfah, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 44–48.