

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pulutan (*Urena lobata* Linn) Asal Kabupaten Barru dengan Menggunakan Metode DPPH

Hartina Febriani Putri¹, A.Muflihunna², Rais Razak³

^{1,2,3}Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan

*Corresponding author : 15020190145@umi.ac.id

ABSTRACT

Pulutan (*Urena lobata* Linn) is one of the many wild plants that can be found in Barru district. Pulutan leaf extract has several properties including being an antioxidant, antibacterial, antifungal, and can inhibit the growth of breast cancer cells. Pulutan leaf extract contains flavonoids, alkaloids, cardiaglycosides, tannins, terpenoids and saponins. This study aims to analyze the antioxidant activity of the ethanol extract of pulutan leaves using the DPPH free radical scavenging method. This type of research is laboratory experimental using the spectrophotometer method based on the calculation of the IC50 value of the extract on DPPH free radical activity. The stages of this research began with the preparation and extraction of samples, preparation of blank solutions and measurement of the maximum wavelength, and ended with testing the antioxidant activity of extracts and quercetin standards. This research obtained yields of percent reduction of 3.241%; the value of the extract regression equation is the value of $y = 0.0693x + 30.489$ ($r = 0.9963$); and IC50 value of 281 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The results of this study illustrate that the ethanol extract of pulutan leaves has antioxidant activity but is in a weak antioxidant category.

Keywords: Pulutan (*Urena lobata* Linn) leaves; antioxidants; DPPH; Spectrophotometry.

ABSTRAK

Pulutan (*Urena lobata* Linn) merupakan salah satu tumbuhan yang liar yang banyak ditemui di kabupaten Barru. Ekstrak daun pulutan memiliki beberapa khasiat diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, antifungi, dan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara. Ekstrak daun pulutan memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, cardiaglikosida, tannin, terpenoid dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pulutan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Jenis penelitian ini yaitu eksperimental laboratorium menggunakan metode spektrofotometer yang didasarkan pada perhitungan nilai IC50 ekstrak terhadap aktivitas radikal bebas DPPH. Tahapan penelitian ini dimulai dengan penyiapan dan ekstraksi sampel, penyiapan larutan blanko dan pengukuran Panjang gelombang maksimum, dan diakhiri dengan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan baku kuersetin. Penelitian ini memperoleh hasil persen rendamen sebesar 3,241 %; nilai persamaan regresi ekstrak sebesar nilai $y = 0.0693x + 30.489$ ($r = 0.9963$); dan nilai IC50 sebesar 281 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil penelitian ini menggambarkan bahwa ekstrak etanol daun pulutan memiliki aktivitas antioksidan namun kategori antioksidan sangat lemah.

Kata kunci : Daun Pulutan (*Urena lobata* Linn) , antioksidan, DPPH, Spektrofotometer uv-vis

PENDAHULUAN

Tanaman obat adalah tanaman yang memiliki khasiat obat dan digunakan sebagai obat dalam penyembuhan maupun pencegahan penyakit. Pengertian berkhasiat obat adalah mengandung zat aktif yang berfungsi mengobati penyakit tertentu atau jika tidak mengandung zat aktif tertentu tapi mengandung efek resultan / sinergi dari berbagai zat yang berfungsi mengobati [2].

Salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional yaitu daun pulutan (*Urena lobata L.*) [12]. Pulutan memiliki bahasa daerah pungpurutan (sunda), poyo poyo (Makassar) yang dimana pulutan ini dipercaya oleh masyarakat setempat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit diantaranya influenza, radang, batuk, malaria, bisul, bengkak, reumatik, gigitan ular, tulang patah dan luka berdarah. Ekstrak daun pulutan memiliki beberapa khasiat diantaranya sebagai antioksidan, antibakteri, antifungi, dan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara. Ekstrak daun pulutan memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, cardaglikosida, tannin, terpenoid dan saponin [3].

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat, mencegah atau meredam reaksi radikal bebas dan oksidan, serta menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Menurut definisi antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya. Definisi lain dari antioksidan adalah semua substansi yang mampu mencegah pembentukan atau mencegah aktivitas oksidan [6]. Radikal bebas yang mengambil electron dari tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA (*Deoxy Nucleic Acid*) sehingga timbulah sel-sel mutan [4]. Pemilihan menggunakan metode DPPH ini dikarenakan merupakan metode yang sederhana, mudah diaplikasikan, cepat dan peka serta sampel yang digunakan hanya sedikit [9].

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu penelitian yang lebih intensif mengenai pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*), sehingga potensi tanaman ini sebagai antioksidan dan mencegah radikal bebas dapat digunakan dengan baik.

METODE PENELITIAN

A. Penyiapan Sampel

Daun pulutan (*Urena lobata Linn*) yang diperoleh dari daerah Kec. Pujanantin Kab. Barru Prov. Sulawesi Selatan. Sampel daun pulutan dikumpulkan, lalu disortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dengan cara dibersihkan dengan menggunakan air mengalir selanjutnya dikeringkan, kemudian disortasi kering setelah itu diserbukkan dan siap diekstraksi.[11]

B. Ekstraksi Sampel Secara Maserasi

Sebanyak 100 gram simplisia daun pulutan dimerasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam diaduk sesekali kemudian disaring lalu dilakukan remerasi lagi selama 2 x 24 jam. Ekstrak cair yang telah diperoleh dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya dengan alat rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental daun pulutan.[11]

C. Pengujian Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pulutan

1. Pembuatan Larutan

a. Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang sebanyak 5,0 mg DPPH dilarutkan dengan etanol 96% hingga 5 mL kemudian dihomogenkan hingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm , selanjutnya

konsentrasi 1000 ppm dipipet 1,75 mL kemudian dicukupkan dengan etanol 96% hingga 50 mL. Dihomogenkan dan ditempatkan dalam botol gelap.

b. Pembuatan Larutan Sampel

Sampel ekstrak daun pulutan sebanyak 25 mg dilarutkan dengan 25 ml etanol 96% didalam labu ukur sambil di aduk dan dihomogenkan. Lalu dicukupkan volumenya hingga batas tanda untuk memperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm, dari larutan tersebut dibuat larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, dan 300 ppm.

c. Pembuatan Larutan Blanko Kuarsetin

Serbuk kuarsetin sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 10 ml etanol 96% di dalam labu ukur, untuk memperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, dilakukan pengenceran larutan stok menjadi konsentrasi 100 ppm. Dari larutan tersebut dibuat variasi konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 25 ppm, 35 ppm, dan 45 ppm dengan cara masing-masing larutan stok dipipet sebanyak 0,25, 0,75, ,1,25 ,1,75, dan 2,25 mL, lalu dicukupan dengan etanol 96% sampai volume akhir 5 mL.

2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

a. Penentuan panjang Gelombang Maksimum (λ)

Larutan DPPH (35 ppm) dipipet 3 mL ke dalam vial, lalu ditambah etanol 96% 1 mL dan dihomogenkan. Campuran larutan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Spektrum serapannya ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Hasil panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 515 nm.

b. Pengukuran Aktivitas Antiosidan Blanko Kuarsetin

Sebanyak 1 mL larutan kuarsetin dari masing-masing variasi konsentrasi 5 ppm, 15 ppm, 25 ppm, 35 ppm, dan 45 ppm. Dimasukkan kedalam vial 5 mL dan ditambahkan 4 mL larutan DPPH 35 ppm pada masing-masing vial. Setelah itu, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap. Diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan Daun Pulutan (*Urena Lobata Linn*) Menggunakan DPPH

Sebanyak 1 mL larutan sampel ekstrak daun pulutan dari masing-masing variasi konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm, dimasukkan kedalam vial 5 mL, kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH 35 ppm kedalam masing-masing vial. Dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu, diukur serapannya pada Panjang gelombang 515 nm.

D. Analisis Data

Analisis data dengan persamaan regresi linear menggunakan program Microsoft Excel.[7]

HASIL DAN DISKUSI

Tanaman pulutan (*Urena lobata Linn*) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hanya pada bagian daunnya. Daun pulutan (*Urena lobata Linn*) yang diambil, terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan kotoran seperti debu ataupun serangga yang menempel yang nantinya dapat mengganggu proses dan hasil ekstraksi. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-

anginkan. Maksud dari pengeringan yaitu mencegah terjadinya reaksi enzimatis (aktivitas mikroba) dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama dan lebih tidak mudah rusak sehingga komposisi kimianya tidak mengalami perubahan[7].

Dieksraksi dengan menggunakan metode maserasi.Metode penyaringan yang digunakan adalah metode penyarian sederhana.Metode maserasi merupakan cara ekstraksi yang mudah dilakukan dan dalam tahapannya tidak dilakukan proses pemanasan sehingga menghindari kerusakan zat aktif yang dikandung oleh simplisia[11].

Ditimbang sebanyak 100 g kemudian direndam dalam bejana maserasi dengan cairan penyari etanol 70% selama 3 hari. Etanol 70% digunakan sebagai penyari karena memiliki kemampuan menyari senyawa pada rentang polaritas yang luas mulai dari senyawa polar hingga non polar. Sehingga diharapkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat tersari secara maksimal. Cairan penyari akan menembus dinding sel sampel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam cairan penyari sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan diluar sel, dan proses ini terjadi berulang kali sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam sel dan di luar sel. Untuk mengoptimalkan proses ini, maka ekstraksilakukan sebanyak 2 kali (remerasi)[11]. Ekstrak cair yang telah diperoleh dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya dengan alat rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental daun pulutan.[11] setelah diuapkan maka diperoleh ekstrak kental sebanyak 3,241 g dengan hasil rendamen 3,241 % yang dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Persen Rendamen Ekstrak Etanol Daun Pulutan (*Urena lobata* Linn)

	Pelarut	Berat	Berat	Rendamen
Sampel	Etanol	Simplisia (g)	Ekstrak (g)	Ekstrak (%)
	96% (mL)			
Ekstrak				
Daun	1000	100	3,241	3,241 %
Pulutan				

Hasil rendamen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui jumlah ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi [8]. Banyaknya rendemen bergantung kepada sifat kelarutan komponen bioaktifnya. Menurut Sani (2014), etanol dapat melarutkan senyawa fitokimia lebih maksimal karena etanol mampu menarik asam amino, gula, beberapa senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, dan glikosida flavonoid serta klorofil terlarut dalam pelarut polar sehingga senyawa yang terekstrak dengan pelarut etanol ini cukup banyak dan menghasilkan rendemen yang tinggi [5].

Setelah didapatkan ekstrak kental maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*). Hasil pengukuran absorbansi pada ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*) dapat dilihat pada **tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pulutan (*Urena lobata Linn*)

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak	100	0,797	0,502	37,0138	
Etanol	150	0,797	0,465	41,6562	
Daun	200	0,797	0,446	44,0401	281.544
Pulutan	250	0,797	0,417	47,6787	
	300	0,797	0,388	51,3174	

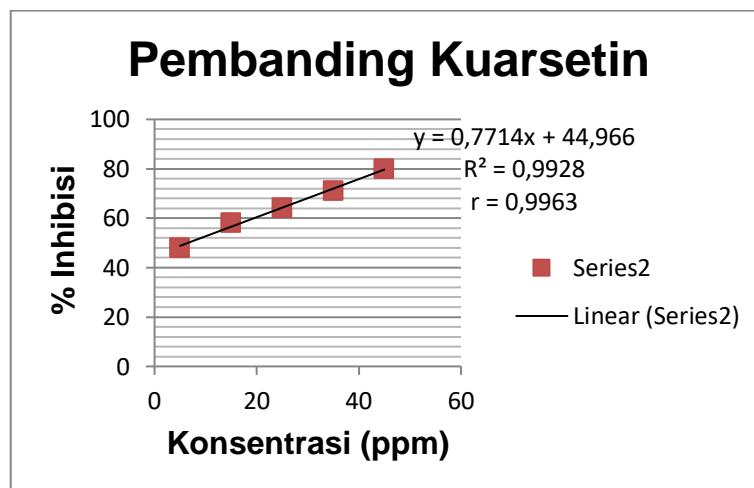
Pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif karena terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Kuersetin mengandung gugus OH pada posisi 3', 4', 3, 5, dan 7. Gugus OH mampu menstabilkan radikal bebas melalui mekanisme transfer atom H atau transfer elektron dari gugus tersebut [1]. Itulah yang menjadi alasan mengapa menggunakan kuersetin sebagai pembanding agar dapat mengetahui sampel yang diujikan tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengukuran panjang gelombang Aktivitas Antioksidan baku kuersetin dapat dilihat pada **tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Baku Kuersetin

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Pada	5	0748	0,390	47,860	
Kuersetin	15	0,748	0,313	58,155	
Konsentras	25	0,748	0,268	64,171	6,524
	35	0,748	0,216	71,122	
	45	0,748	0,150	79,946	

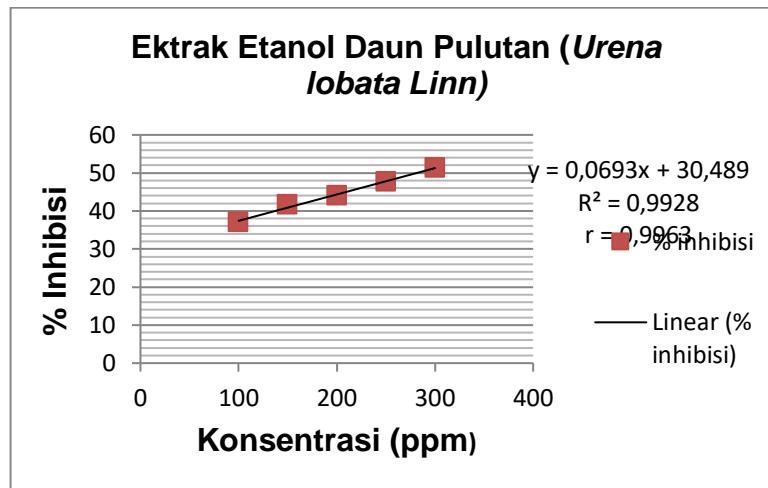
Pada (**Tabel 2 dan 3**) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak maupun kuersetin, absorbansi larutan akan semakin kecil. Sementara, semakin besar konsentrasi larutan, persen penghambatan akan semakin tinggi. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi larutan, semakin banyak antioksidan yang terkandung di dalamnya.

Parameter yang umum digunakan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada suatu ekstrak bahan adalah dengan menentukan nilai *inhibitor concentration* 50% (IC50) bilangan antioksidan tersebut. Nilai IC50, yang merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%, sehingga semakin kecil IC50 yang didapat maka semakin tinggi kekuatan suatu senyawa yang bersifat antioksidan untuk melawan efektivitas DPPH sebagai radikal bebas. IC50 dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y dengan persamaan $y = bx + a$ [11]



Gambar 1. Kurva kuersetin pada panjang gelombang maksimum

Berdasarkan data pada **gambar 1** yang diperoleh data hasil pengukuran larutan standar kuersetin dibuat kurva baku antara konsentrasi dengan absorbansi dan diperoleh persamaan linearitas yaitu $y = 0,7714x + 44,966$ dengan nilai $R^2 = 0,9928$ dan nilai $r = 0,9963$, yang dapat dilihat pada gambar 3. Sehingga dari nilai yang diperoleh terhadap hubungan korelasi antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar dengan nilai $IC_{50} = 6,524 \mu\text{g/mL}$ kategori sangat kuat.



Gambar 2. Kurva baku serapan ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*)

Berdasarkan data pada **gambar 2** diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0693x + 30,489$ dengan nilai R^2 0,9928 dan nilai r (koefisien korelasi) 0,9963 dan nilai IC_{50} pada sampel ekstrak etanol daun pulutan yaitu 281,544 $\mu\text{g/mL}$ kategori lemah.

Kategori penentuan kekuatan aktivitas antioksidan menurut Rabiatul Adawiyah and Muhammad Ikhwan (2018) menyatakan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dapat dilihat sangat aktif dengan range < 50 ppm, kuat 50-100 ppm, sedang 101-250 ppm, lemah 250-500 ppm dan tidak kuat > 500 ppm [11]. Ekstrak etanol daun pulutan mempunyai IC_{50} 281,544 $\mu\text{g/mL}$. sehingga dapat dikategorikan kekuatan antioksidannya lemah.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*) diketahui memiliki aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Hasil penelitian ini menggambarkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*) menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH sebesar 281,544 $\mu\text{g/mL}$ Kategori antioksidan lemah sementara nilai IC_{50} baku kuersetin sebesar 6,524 $\mu\text{g/mL}$ dengan Kategori antioksidan sangat kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dan membimbing selama penggerjaan penelitian ini hingga penerbitan jurnal.

REFERENSI

- [1] Adawiyah,Rabiatul, Muhammad Ikhwan R.2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Kalakai (*Stenochlaena palustris Bedd*) Asal Kalimantan Tengah. Jurnal Pharmascience, Vol. 05 , No.01
- [2] Bagus, A. (2021) Khasiat Tanaman Obat Herbal. 1st edn. Surabaya: Pustaka Media.
- [3] Fadillah, U.F. and Hambali, Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pulutan (*Urena lobata L*) dengan GC-MS 2019. „Jurnal Sains dan Kesehatan“, 2(3).
- [4] Fakriah. et al. (2019) ‘Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan”, Jurnal Vokasi, 3(1), p. 1.
- [5] Febria,Whika.2020. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata Prain*.) Menggunakan Metode Maserasi.Journal Uin Alaudin
- [6] Handajani, F. (2019) Oksidan dan Antioksidan Pada Beberapa Penyakit dan Proses Penuaan. sidoardjo: zifatama jawara.
- [7] Handayani Virsa,Aktsar Roskiana Ahmad,Miswati Sudir .2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera alatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. Pharm Sci Res ISSN 2407-2354
- [8] Hasnaeni, Widdawati, Suriati Usman. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendamen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (Lunasia amara Blanco).Jurnal Farmasi Galenika
- [9] Kurniawati, D. (2021) Potensiformulasi Infusa Daun Sirih (*Piper betle* L) Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dan Ekstrak Bundung (*Actinoscirpus grossus*) Sebagai Terapi Kandidiasis. Penerbit NEM.
- [10] Megawati et al.2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus alba* L) Asal Kupang, Nusa Tenggara Timur Dengan Metode DPPH (2,2 DIPHENIL-1- PICRYLHYDRAZYL),Jurnal Penelitian Volume 08 Nomor 01 Mei 2019
- [11] Nia,Rakhmadhan and Helda.2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Daerah Pelaihari, Kalimantan Selatan Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Jurnal Pharmascience, Vol .03, No.02, Oktober 2016, hal: 36 - 42
- [12] Nurhasanah, T.Yani Lukmayani,Reza Abdul K. (2019) „Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Serta Identifikasi Histokimia Daun Pulutan (*Urena Lobata L* .) Crude Drugs Extract Characterization and Histochemical Identification of Pulutan Leaves“, Prosiding Farmasi, pp. 28–35.

TABEL

Tabel 1. Hasil Perhitungan Persen Rendamen Ekstrak Etanol Daun Pulutan (*Urena lobata Linn*)

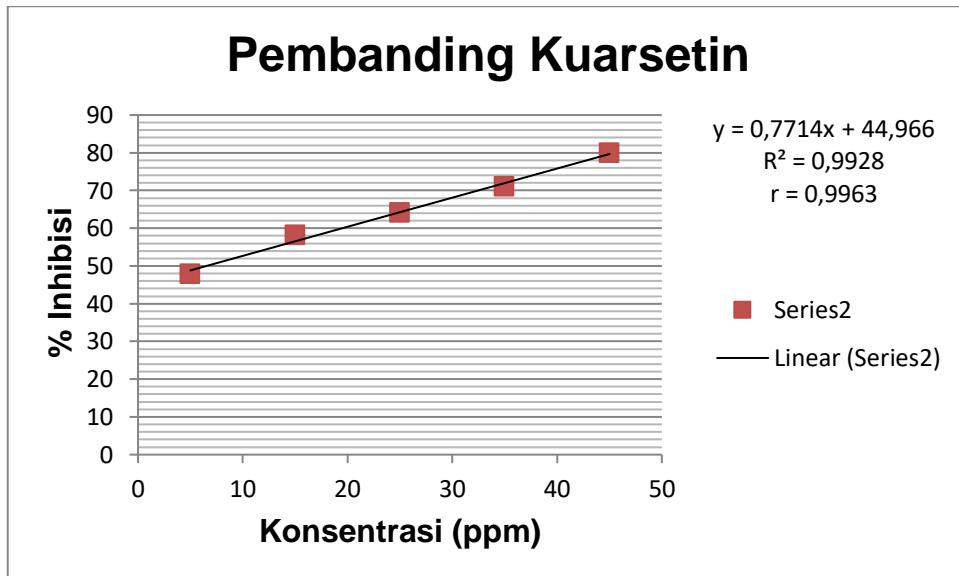
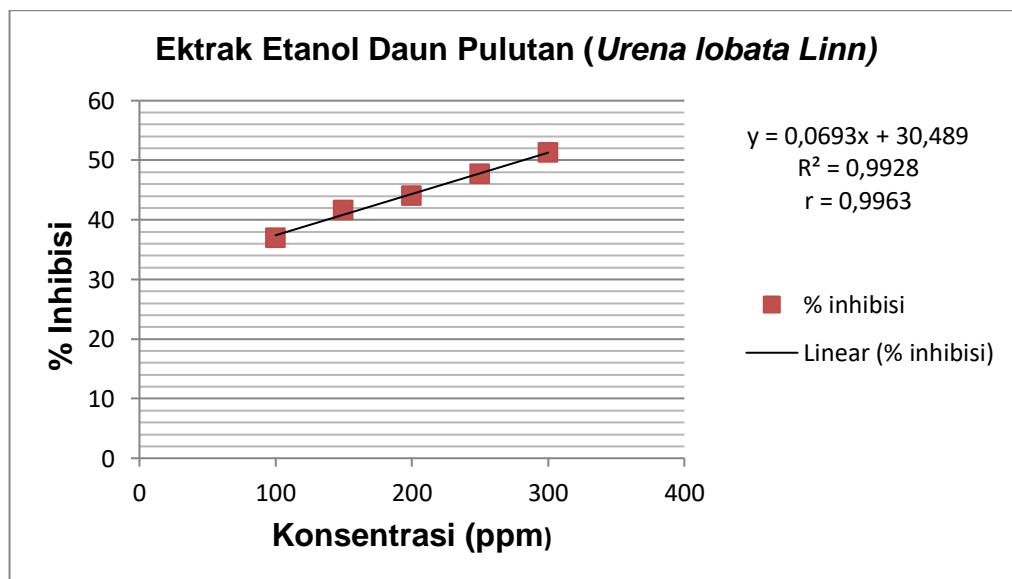
Sampel	Pelarut	Berat	Berat	Rendamen
	Etolan	Simplisia (g)	Ekstrak (g)	Ekstrak (%)
96% (mL)				
Ekstrak				
Daun	1000	100	3,241	3,241 %
Pulutan				

Tabel 2. Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pulutan (*Urena lobata Linn*)

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	Absorbansi	%	IC₅₀
	(ppm)	DPPH	sampel	Inhibisi	(ppm)
Ekstrak	100	0,797	0,502	37,0138	
Etanol	150	0,797	0,465	41,6562	
Daun	200	0,797	0,446	44,0401	281.544
Pulutan	250	0,797	0,417	47,6787	
	300	0,797	0,388	51,3174	

Tabel 3. Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Baku Kuersetin

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	Absorbansi	%	IC₅₀
	(ppm)	DPPH	sampel	Inhibisi	(ppm)
Pada	5	0748	0,390	47,860	
Kuarsetin	15	0,748	0,313	58,155	
Konsentras	25	0,748	0,268	64,171	6,524
	35	0,748	0,216	71,122	
	45	0,748	0,150	79,946	

GAMBAR**Gambar 1.** Kurva kuarsetin pada panjang gelombang maksimum**Gambar 2.** Kurva baku serapan ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata Linn*)

Gambar 3. Penentuan Panjang gelombang maksimum DPPH