

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL BATANG ANGGUR HUTAN (*Ampelocissus martini* Planch) MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Antioxidant Activity Of Ethanol Extract Forest Vine (Ampelocissus martini Planch) Using The DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Method

Nur Insyani

Poltekkes Kemenkes Makassar

nurinsyani251@poltekkes-mks.ac.id

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can reduce the negative effects of free radicals. Forest grape (Ampelocissus martini Planch) is one of the plants that is often used in Saterteu Village, North Lambaleda District, East Manggarai Regency, East Nusa Tenggara Province for traditional treatment of minor diseases such as cough, asthma, pain or cancer because there are many antioxidant contents in the plant. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanol extracts produced by forest grape stems using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Antioxidant testing was carried out by processing the sample into an extract and then testing the sample that had been reacted with DPPH, in 5 concentration variations, namely 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, and 100 ppm with 3 replications. And after measuring the absorbance wavelength of 516 nm using a spectrophotometric UV-Vis device. Based on the test results from the ethanol extract of forest grape stems, the IC50 value of 59.38 ppm is included in the strong category. So it can be concluded that there is antioxidant activity in the ethanol extract of forest grape stems (Ampelocissus martini Planch).

Keywords: Forest grape, Antioxidant, DPPH, IC50

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas. Anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) merupakan salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan di Desa Saterteu Kecamatan Lambaleda Utara Kabupaten Manggarai Timur Provinsi Nusa Tenggara Timur untuk pengobatan tradisional penyakit ringan seperti batuk, asma, nyeri ataupun penyakit kanker karena terdapat banyak kandungan antioksidan didalam tumbuhan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol yang di hasilkan oleh batang anggur hutan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Pengujian antioksidan dilakukan dengan sampel diolah menjadi ekstrak kemudian dilakukan pengujian sampel yang telah direaksikan dengan DPPH, dalam 5 variasi konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dengan 3 kali replikasi. Dan setelahnya diukur panjang gelombang absorbansi 516 nm menggunakan alat spektrofotometri UVVis. Berdasarkan hasil pengujian dari ekstrak etanol batang anggur hutan diperoleh nilai IC50 sebesar 59,38 ppm termasuk dalam kategori kuat. Sehingga dapat disimpulkan terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch).

Kata kunci: Batang anggur hutan, Antioksidan, DPPH, IC50

PENDAHULUAN

Indonesia diketahui memiliki hasil alam yang melimpah, selain itu dikenal dengan kekayaan tumbuhan obat yang dimiliki. Indonesia dengan ragam tumbuhan yang dimiliki telah lama dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional sebelum obat-obatan sintetik dikenal luas. Obat tradisional dalam penggunaannya kini kian meningkat semenjak masyarakat menyadari dampak yang ditimbulkan dari obat-obatan sintetik.

Penggunaan tumbuhan sebagai bahan dasar obat tradisional sangat penting untuk meningkatkan perawatan kesehatan. Berbagai senyawa dalam obat tradisional, seperti terpenoid, alkaloid, senyawa fenolik, saponin, antioksidan, dan flavonoid, dapat mendukung proses penyembuhan. Salah satu contohnya adalah anggur hutan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional (Sarfina, 2017).

Anggur hutan adalah buah subtropis yang kaya akan kandungan bermanfaat. Tanaman ini berasal dari suku Vitaceae, tumbuh menjalar, memiliki tangkai

kurang dari 0,4 mm, dan bunga kompak berbentuk piramidal atau memanjang. PKandungan dalam anggur hutan dikenal 'dapat mengobati berbagai penyakit ringan hingga kanker. Penelitian di beberapa negara menunjukkan aktivitas antioksidan pada akar, daun, dan buah tanaman ini, yang menunjukkan banyak manfaatnya (Van Steenis, 2008).

Senyawa antioksidan dalam anggur hutan dapat mengatasi dampak buruk radikal bebas. Dalam tubuh manusia, mekanisme pertahanan antioksidan berfungsi menolak radikal bebas. Antioksidan sendiri adalah zat yang mampu memberikan elektron kepada radikal bebas dan molekul reaktif tanpa menghasilkan radikal bebas baru (Suwardi & Noer, 2020).

Di beberapa negara seperti Thailand, daun anggur hutan sering digunakan sebagai obat herbal tradisional untuk menyembuhkan asma, sulurnya sebagai obat pencahar ringan dan batuk, serta akarnya untuk mengobati luka memar dan batuk. Studi oleh Zongo dkk. (2010) mengenai kandungan polifenol, antioksidan, dan aktivitas antimikroba dari batang anggur hutan menunjukkan bahwa komponen fenolik dari bagian daun, sulur, dan akar memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang baik, sehingga dapat dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional.

Berdasarkan uraian sebelumnya, penelitian mengenai aktivitas antioksidan sebagian besar terfokus pada buah dan rimpang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch). Namun, penelitian tentang aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) belum pernah dilakukan. Selain itu, informasi yang diperoleh menunjukkan bahwa anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) sering digunakan sebagai obat tradisional untuk kanker payudara di Desa Satarteu, Kecamatan Lambaleda Utara, Kabupaten Manggarai Timur, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk meneliti aktivitas antioksidan pada batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch).

METODE

Desain, Tempat dan Waktu

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang Anggur Hutan (*Ampelocissus martini* Planch) menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar.

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi serangkaian peralatan untuk refluks (alat refluks, batang pengaduk, kertas saring, cawan, timbangan analitik, dan alat rotary evaporator), dan alat-alat dalam melakukan pengujian antioksidan dengan metode DPPH (Labu ukur, timbangan analitik, aluminium foil, Spektrofotometri UV-Vis).

Batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch), etanol 96%, dan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) diambil di Desa Satarteu Kecamatan Lambaleda Utara Kabupaten Manggarai Timur Provinsi Nusa Tenggara Timur.

Preparasi Sampel

Sampel batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil sebelum dikeringkan selama sekitar 3 hari tanpa terkena sinar matahari. Setelah dikeringkan, dilakukan sortasi kering dan ditimbang berat keringnya. Batang anggur hutan kering kemudian dihaluskan, dan serbuk halus yang diperoleh juga ditimbang (Rosita et al., 2019).

Ekstraksi Sampel

Ekstrak etanol dari batang anggur hutan dihasilkan melalui metode refluks. Sampel yang telah disiapkan ditempatkan dalam labu alas bulat dan dibasahi dengan etanol 96%. Setelah itu, alat refluks dipasang, dan sampel diekstraksi pada suhu 50°C selama 2 jam untuk menjaga kestabilan pelarut. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan penguapan pelarut, mengangkat kontaminan yang tidak diinginkan, dan merusak komponen yang sensitif terhadap panas (Ghazali & Yasin, 2016). Larutan ekstraksi kemudian disaring dengan kain kasa steril dan kertas saring steril, kemudian ditempatkan dalam erlenmeyer untuk diuapkan menggunakan Rotary Evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak yang kental (Susanty et al., 2016).

Pembuatan Larutan DPPH 40 PPM

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 4 mg serbuk DPPH dalam 100 ml etanol 96%, lalu divortex hingga homogen (Sugiharto, 2017). Untuk mencapai konsentrasi 40 ppm, larutan diinkubasi selama 30 menit dalam wadah berlapis aluminium foil untuk

menghindari sinar matahari langsung (Jesikha et al., 2024).

Pembuatan Larutan Blanko DPPH

Larutan kontrol sebagai pereaksi dibuat dengan mencampurkan 2 ml etanol 96% dan 2 ml larutan DPPH 40 ppm, kemudian divortex hingga homogen. Setelah itu, campuran diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya, diukur panjang gelombangnya pada rentang 500 nm hingga 600 nm (Qulub et al., 2018).

Pembuatan Larutan Baku Sampel

Larutan ekstrak batang anggur hutan disiapkan dengan awalnya membuat larutan konsentrasi 5000 ppm dari 500 mg ekstrak yang larut dalam 100 ml etanol 96%. Larutan ini dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya, 2 ml dari larutan ini diambil dan diencerkan dengan etanol 96% hingga volume 10 ml, mencapai konsentrasi 1000 ppm. Dari situ, 5 ml larutan 1000 ppm diambil dan diencerkan lagi dengan 50 ml etanol 96% untuk mencapai konsentrasi 100 ppm. Larutan ini kemudian dibuat dalam 4 tahap pengenceran: 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dengan menambahkan volume etanol yang sesuai dalam labu ukur 10 ml (Salasa et al., 2021).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dilakukan dengan mencampurkan 1,0 ml sampel dengan 4,0 ml larutan DPPH (40 ppm) dalam vial berbungkus aluminium foil, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Serapan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, dilakukan tiga kali untuk mengurangi kesalahan (Dianne, 2015; Adhayanti & Ahmad, 2021).

Analisis Data

Berdasarkan data hasil observasi dari sampel yang digunakan untuk menghitung nilai absorbansi aktivitas antioksidan dapat dihitung menggunakan rumus % inhibisinya. Yaitu:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A_{blanko} = Absorbensi pada DPPH tanpa sampel (Blanko)

A_{sampel} = Absorbensi pada DPPH setelah ditambah sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

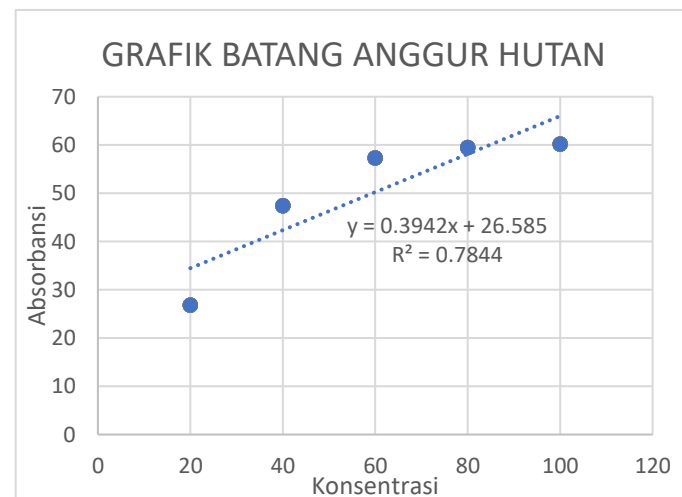
Hasil

Tabel 1: Hasil Ekstraksi Batang Anggur Hutan (*Ampelocissus martini* Planch)

Sampel	Jenis Pelarut	Metode Ekstraksi	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	Rendemen Ekstrak	Literatur
Batang anggur hutan	Etanol 96%	Refluks	355,54 g	59,12 g	16,62%	≥ 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017)

Tabel 2: Hasil Pengujian Antioksidan metode DPPH pada Ekstrak Batang Anggur Hutan (*Ampelocissus martini* Planch)

Sampel	Konsentrasi (PPM)	Absorbansi (516 nm)				Rata-rata	% Inhibisi	IC50
		Blanko	Abs 1	Abs 2	Abs 3			
Ekstrak etanol batang anggur hutan (<i>Ampelocissus martini</i> Planch)	20 PPM	0,9188	0.8154	0.5984	0.6045	0.6727	26.7776	59.38
	40 PPM		0.4873	0.3628	0.5988	0.4829	47.4350	
	60 PPM		0.3302	0.3481	0.4979	0.3920	57.3284	
	80 PPM		0.3486	0.3704	0.3989	0.3726	59.4434	
	100 PPM		0.3504	0.3578	0.3890	0.3657	60.1908	



Gambar 1 Hasil Grafik Pengujian Aktivitas Antioksidan metode DPPH pada Ekstrak Batang Anggur Hutan (*Ampelocissus martini* Planch)

Pembahasan

Batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) yang telah dikeringkan, disortir dalam keadaan basah, dipotong kecil, disortir kembali setelah dikeringkan, dan dihaluskan untuk menghasilkan 355,54 g serbuk simplisia. Ekstraksi sampel dilakukan menggunakan metode refluks dengan 3 siklus selama

4 jam untuk mencapai ekstrak yang optimal. Pemanasan dipilih karena mempermudah penetrasi cairan pelarut ke dalam sel simplisia, mempercepat proses ekstraksi, dan menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan metode maserasi (Tapalina et al., 2022).

Berdasarkan Tabel 1, dari 59,12 g ekstrak batang anggur hutan, rendemen yang diperoleh adalah 16,62%, menunjukkan jumlah ekstrak yang dihasilkan cukup besar. Sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia (2017), rendemen ekstrak kental seharusnya tidak kurang dari 10%, sehingga hasil rendemen ini memenuhi standar yang disyaratkan.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), yang dikenal cepat, mudah, dan sensitif untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam ekstrak tumbuhan tertentu (Syaifuddin, 2015). Metode ini berdasarkan pengurangan warna ungu larutan DPPH yang terjadi akibat reaksi dengan senyawa antioksidan. Semakin tinggi aktivitas antioksidan, semakin banyak radikal DPPH yang terneutralkan, mengubah warna larutan DPPH menjadi kuning (Muharni et al., 2013).

Berdasarkan penelitian dengan 3 kali replikasi, tabel 2 menunjukkan bahwa persentase inhibisi absorbansi pada konsentrasi 20 ppm adalah 26,7776%, pada 40 ppm adalah 47,4350%, pada 60 ppm adalah 57,3284%, pada 80 ppm adalah 59,4434%, dan pada 100 ppm adalah 60,1908%. Nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 59,38 ppm, menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Klasifikasi antioksidan oleh Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu senyawa antioksidan dikategorikan sangat kuat jika nilai IC₅₀-nya rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa batang anggur hutan (*Ampelocissus martini* Planch) memiliki aktivitas antioksidan, dengan nilai IC₅₀ sebesar 59,38 ppm yang termasuk dalam kategori kuat.

SARAN

Berdasarkan temuan hasil penelitian ini, disarankan kepada peneliti selanjutnya dapat mengembangkan penelitian ini dengan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode lainnya yang dapat menjadi parameter pembandingan untuk pengujian aktivitas antioksidan yang lebih baik dan berkembang.

DAFTAR PUSTAKA

Adhayanti, I., & Ahmad, T. (2021). Kadar Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Naga

Segar (*Hylocereus* S). *Media Farmasi*, 17(2), 157. <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.2273>

Herbal, F. (2017). *Herbal Indonesia Herbal. Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, 307-310.

Muharni, M., Elfita, E., & Amanda, A. (2013). Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia xanthochymus*). *Prosiding Semirata FMIPA*

Rosita, L., A. A. Cahya, dan F.R. Arfira. (2019). *Hematologi Dasar*. Penerbit Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.

Tapalina, N., Tutik, T., & Saputri, G. A. R. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi Panas Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa* L.). *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 9(1).

Ukkas, E. P. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Dengan Metode DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Karya Tulis Ilmiah, Jurusan Farmasi Poltekkes Makassar*.

Qulub, M. S., Wirasti, W., & Mugiyanto, E. (2018). *The 8 th University Research Colloquium 2018 Universitas Muhammadiyah Purwokerto Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun , Daging*

Salasa, A. M., Ratnah, S., & Abdullah, T. (2021). Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.). *Media Farmasi*, 17(2), 162

Sarfina, J, Nurhamidah, Dewi Handayani.(2017). Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Ricinus communis* L (Jarak Kepyar). *Alotrop*. 2017: 1(1): 66-70

Van Steenis, CGGJ.(2008). *FLORA : untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta

Zongo, C., Savadogo, A., Ouattara, L., et al. (2010). Polyphenol content, antioxidant and antimicrobial activities of *Ampelocissus grantii* (Baker) Planch. (Vitaceae). A medicine plant from Burkina Faso. *Int. J. Pharmacol.* 6: 880–887.