

Antioxidant Activity of Extract and Fractions of Bebuas Leaves (*Premna serratifolia* L.) using DPPH Method

Syauqi N. Rafif^{1*}, Billa N. Hikmatiana¹, Nazwa N. Mikdar¹, Raden M. Febriyanti², Intan T. Maisyarah², Muhaimin²

¹Program Studi S1 Farmasi Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran Sumedang, Indonesia

Submitted 19 March 2023; Revised 28 June 2024; Accepted 1 July 2024 ; Published 12 August 2024

*Corresponding author: syauqi18502@gmail.com

Abstract

Antioxidants are compounds that play a role in preventing free radicals which can cause various diseases. One plant that has the potential to have bioactive antioxidant compounds is Bebuas (*Premna serratifolia* L.). This research was conducted to determine the antioxidant activity of extract and fractions of *P. serratifolia* L. leaves. Preliminary tests of antioxidant activity were carried out on ethanol extract, ethyl acetate, n-hexane, and water fraction qualitatively using thin layer chromatography (TLC) using the mobile phase chloroform: methanol (95:5) and DPPH solution as a spray reagent. Antioxidant activity was measured using DPPH 80 µg/mL spectrophotometrically at a maximum wavelength of 517 nm with the positive control Trolox. The TLC results showed changes in the color of the spots in ethanol extract, ethyl acetate and water fraction to yellow after being sprayed with DPPH, indicating that it has antioxidant activity. The measurement results showed that the ethanol extract, ethyl acetate and water fraction of *P. serratifolia* L. leaves had IC₅₀ values of 157,78 µg/mL; 108,49 µg/mL; and 137,70 µg/mL respectively. Meanwhile, Trolox has an IC₅₀ value of 7,68 µg/mL. The test results showed that the ethyl acetate fraction of *P. serratifolia* L. leaves had better antioxidant activity than the ethanol extract and water fraction with moderate antioxidant activity category. In addition, the results of KLT qualitative analysis with cytroborate spotting indicates that the compounds that play a role in providing antioxidant activity are flavonoids.

Keywords: Antioxidant activity, bebuas leaves (*Premna serratifolia* L.), DPPH

Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Bebuas (*Premna serratifolia* L.) dengan Metode DPPH

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan dalam mencegah radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki senyawa bioaktif bersifat antioksidan adalah Bebuas (*Premna serratifolia* L.). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun *P. serratifolia* L. Uji pendahuluan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak etanol, etil asetat dan air secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak kloroform : metanol (95:5) dan penampak bercak DPPH. Aktivitas antioksidan diukur menggunakan DPPH 80 µg/mL secara spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum 517 nm dengan kontrol positif Trolox. Hasil KLT menunjukkan perubahan warna bercak pada ekstrak, fraksi etil asetat dan air menjadi warna kuning setelah disemprot DPPH menandakan memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengukuran menunjukkan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air daun *P. serratifolia* L. memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut 157,78 µg/mL; 108,49 µg/mL; dan 137,70 µg/mL. Sementara itu, trolox memiliki nilai IC₅₀ 7,68 µg/mL. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *P. serratifolia* L. memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi air dengan kategori aktivitas antioksidan sedang. Selain itu, hasil analisis kualitatif KLT dengan penampak bercak sitroborat menandakan bahwa senyawa yang berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan adalah flavonoid.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan, daun bebuas (*Premna serratifolia* L.), DPPH

1. Pendahuluan

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh. Sel memiliki sistem antioksidan yang efisien, mampu mencegah dari paparan berbahaya dan radikal bebas yang diproduksi secara terus menerus oleh sel. Pada umumnya, pertahanan antioksidan terdiri dari beberapa mekanisme kerja, diantaranya adalah untuk menunda atau menghambat produksi radikal bebas dengan cara mentransfer elektron ke radikal bebas dan menghambat proses oksidatif, membasmi radikal bebas, mengubah radikal bebas menjadi suatu senyawa yang tidak terlalu toksik, menunda pembentukan spesies aktif sekunder, meningkatkan sistem pertahanan antioksidan endogen melalui aktivitas dengan antioksidan lain, serta untuk mengikat ion logam.¹ Aktivitas antioksidan bisa didapat dari berbagai tumbuhan yang ada di Indonesia, salah satu tumbuhan yang diduga memiliki potensi aktivitas antioksidan adalah daun *Premna serratifolia* L.

P. serratifolia L. atau Buas-buas atau dikenal oleh masyarakat Sulawesi adalah Arogo merupakan tumbuhan dari famili Lamiaceae yang dimanfaatkan oleh masyarakat Kalimantan sebagai bahan tambahan makanan untuk menghilangkan bau amis pada daging serta penyedap rasa karena memiliki aroma yang harum. Selain itu, masyarakat setempat juga memanfaatkan tumbuhan tersebut sebagai obat demam dan pilek dengan cara direbus, mengatasi masalah perut kembung, mengobati cacingan, meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui, dan pengobatan pasca melahirkan.²⁻⁴ Telah diketahui ekstrak dan fraksi etil asetat dari tumbuhan ini mengandung senyawa metabolit meliputi alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, terpenoid, glikosida, polifenol dan tanin.⁵⁻⁷ Senyawa bioaktif yang telah teridentifikasi pada daun *P. serratifolia* adalah diosmin, akasetin, apigenin, dan katisin.⁸⁻¹¹ Senyawa tersebut merupakan golongan flavonoid yang termasuk ke dalam antioksidan alami yang paling poten. Hal ini dikarenakan flavonoid memiliki gugus hidroksi fungsional yang dapat menyumbangkan elektron dan hidrogen ke

radikal melalui resonansi, menstabilkannya, dan menghasilkan radikal flavonoid yang relatif stabil. Jumlah dan posisi gugus hidroksil pada cincin B katekol dan posisinya pada cincin C piran mempengaruhi kemampuan menangkap radikal bebas.¹² Hal inilah yang menjadi dasar dilakukannya penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak maupun fraksi daun *P. serratifolia* L.

2. Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu aluminium foil, batang pengaduk, cawan penguap, corong pisah (Duran), gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), labu ukur (Pyrex), mikropipet (Thermo Fisher Scientific), mikroplat 96-well flat bottom (NEST), microplate reader (BioTech Epoch), neraca analitik (Mettler Toledo), penangas air (Memert), pipet tetes, pipet ukur (Pyrex), plastik wrap, rotary evaporator (IKA RV 10), dan spatel.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Akuades, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Sigma Aldrich), Daun *P. serratifolia* L., Etanol 70% teknis, Etil asetat teknis, Metanol p.a. (Merck), n-heksana teknis, Trolox (Sigma Aldrich), penampak bercak sitroborat.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Determinasi Tumbuhan

Bagian tanaman yang digunakan untuk penelitian ini sebagai sampel adalah daun *P. serratifolia* L. yang masih segar diperoleh dari Jambi dilakukan determinasi tumbuhan di Laboratorium Biosistemika dan Molekuler, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.

2.3.2. Ekstraksi

Sampel daun *P. serratifolia* L. dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran-kotoran yang menempel dengan air mengalir. Kemudian, sampel dirajang dan dikeringkan di bawah sinar matahari langsung. Lalu, sampel dilakukan sortasi kering dan dihaluskan

menjadi serbuk. Serbuk daun *P. serratifolia* L. dimasukkan ke dalam bejana maserasi yang telah dilapisi dengan kapas pada bagian dasarnya sebagai penyaring dan ditambahkan etanol 70% secukupnya, lalu didiamkan selama kurang lebih 10 menit untuk membasahi serbuk. Kemudian, etanol 70% ditambahkan kembali ke dalam bejana hingga menutupi seluruh permukaan serbuk. Setelah itu, bejana ditutup rapat menggunakan plastik wrap dan didiamkan selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk. Setiap 24 jam, maserat ditampung dalam jerigen dan diperoleh ekstrak cair. Kemudian, ekstrak cair dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30-40°C dan didapatkan ekstrak kental etanol.

2.3.3. Fraksinasi

Ekstrak kental dilarutkan terlebih dahulu dengan sedikit etanol 70% dilanjutkan dengan 500 mL air secara perlahan sampai larut sempurna. Kemudian, larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksana dengan volume yang sama dengan air yaitu 500 mL. Larutan dalam corong pisah dikocok dengan hati-hati sambil sesekali penutup corong dibuka untuk membuang udara dari dalam corong. Setelah itu, larutan dalam corong pisah dibiarkan hingga kedua pelarut terpisah dengan sempurna, dan lapisan n-heksana dipisahkan dan disimpan dalam botol kaca. Proses ini diulangi dengan menambahkan volume n-heksana yang sama, mengocok, dan memisahkan lapisan hingga tidak ada lagi ekstrak yang terlihat berpindah ke n-heksana. Langkah serupa dilakukan untuk pelarut etil asetat. Bagian sisa setelah fraksinasi disebut sebagai fraksi air sisa (RAF) karena awalnya ekstrak kental dilarutkan dalam air. Setelah mendapatkan ketiga fraksi, masing-masing dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga didapat fraksi kental.

2.3.4. Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan

Secara Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dalam uji pendahuluan aktivitas antioksidan secara kualitatif, langkah

awal yang dilakukan adalah pemisahan menggunakan KLT dengan larutan pengembang yang sesuai. Setelah itu, plat KLT tersebut disemprot dengan larutan DPPH 80 ppm. Reaksi aktivitas antioksidan dapat dikenali dengan terbentuknya spot berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu pada plat KLT.¹³

2.3.5. Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak etanol dan fraksi n-heksana dari daun *P. serratifolia* L. disiapkan dalam beberapa konsentrasi, yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/mL. Sementara itu, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun *P. serratifolia* L. disiapkan dalam konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 µg/mL. Sebanyak 100 µL sampel dimasukkan ke dalam baris A pada *microplate*. Kemudian, 50 µL metanol p.a. ditambahkan ke setiap sumur pada baris B - F. Untuk pengenceran bertingkat, 50 µL dari baris A dipipet dan dimasukkan ke baris B, lalu baris B dipipet lagi 50 µL dan dimasukkan ke baris C, dan seterusnya hingga baris F, lalu sebanyak 50 µL dari baris F dibuang. Sementara itu, 50 µL metanol dimasukkan ke dalam baris G - H. Baris A - G kemudian ditambahkan DPPH dengan konsentrasi 80 µg/mL sebanyak 80 µL, dan diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas penangkapan radikal diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm, dan penurunan absorbansi diamati menggunakan *microplate reader*. Trolox digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 µg/mL.¹⁴

2.3.6. Analisis Data

Persentase inhibisi IC_{50} ditentukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi DPPH} = \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi bahan uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Konsentrasi sampel dan tingkat inhibisi (% inhibisi) digunakan sebagai data pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear. Persamaan ini digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dari setiap sampel, yang dinyatakan sebagai titik di mana nilai y mencapai 50% dan nilai x yang sesuai dengan titik tersebut akan menjadi nilai IC_{50} .¹³

2.3.7. Analisis Kualitatif dengan KLT

Sampel yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling efektif dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Larutan stok ekstrak ditotolkan di atas silika gel GF₂₅₄, kemudian dielusi menggunakan fase gerak kloroform:metanol (95:5) dengan ditambahkan asam format 2 tetes. Bercak kemudian diamati pada UV 366 nm. Uji pendahuluan secara kualitatif dilakukan dengan menyemprot lempeng KLT dengan penampak bercak spesifik khusus untuk mendeteksi senyawa flavonoid, yaitu sitroborat.¹⁵

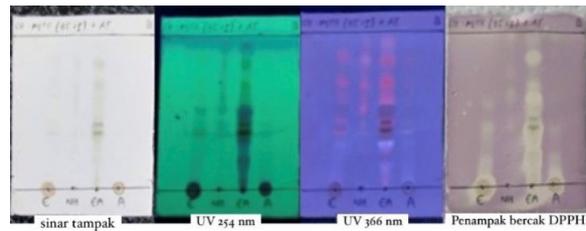
3. Pembahasan

3.1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan fraksinasi menggunakan 3 pelarut organik berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat, dan air didapatkan rendemen masing-masing sebesar 9,52%; 0,13%; 5,70%; 64,25% dengan data hasil rendemen dapat dilihat pada Tabel 1.

3.2. Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif dengan KLT

Pengujian pendahuluan aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak adalah kloroform : metanol (95:5) ditambah dengan 3 tetes asam format. Sampel yang ditotolkan adalah ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat, dan Air. Setelah dielusi, hasil KLT dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, lalu disemprotkan penampak bercak DPPH. Hasil kromatogram KLT dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun *P. serratifolia* L. (E: Ekstrak; NH: fraksi n-heksana; EA: fraksi etil asetat; A: fraksi air)

3.3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali pengukuran atau triplo pada setiap sampel. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dari Trolox sebagai kontrol positif didapatkan IC₅₀ sebesar 7,68 µg/mL. Perhitungan hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 2 dengan Grafik pada Gambar 2.

Sementara itu, hasil pengukuran uji aktivitas ekstrak etanol dari daun *P. serratifolia* L. didapatkan IC₅₀ sebesar 157,78 µg/mL dengan data hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 3.

Setelah itu, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan air. Hasil uji aktivitas antioksidan masing-masing fraksi didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 108,49 µg/mL dan 137,7 dengan µg/mL data hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5. Grafik % Inhibisi terhadap Ln konsentrasi ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air *P. serratifolia* L. dapat dilihat pada Gambar 3.

3.4. Hasil Analisis Kualitatif dengan KLT

Analisis kualitatif dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄

Tabel 1. Persen Rendemen Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun *P. serratifolia* L.

Sampel	Berat akhir (g)	Rendemen (%)
Ekstrak Etanol	428,20	9,52%
Fraksi n-heksana	0,14	0,13%
Fraksi Etil Asetat	6,13	5,70%
Fraksi Air	69,25	64,43%

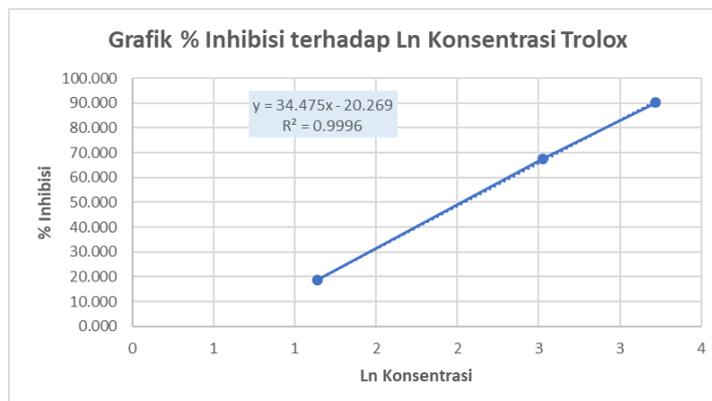
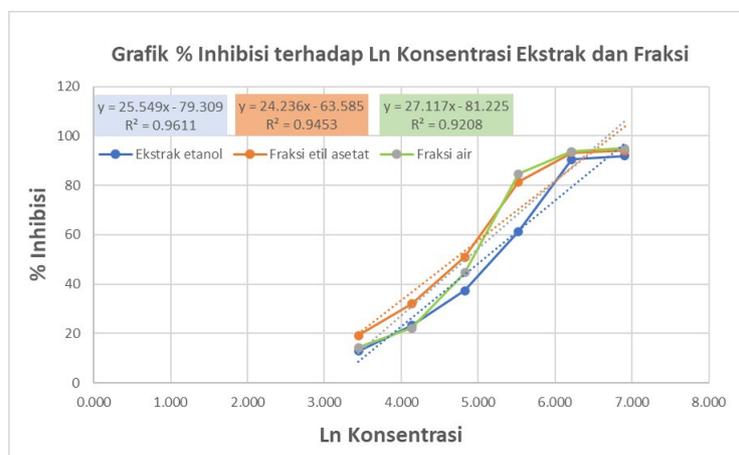
Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Trolox

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata absorbansi \pm SD	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
3,125	0,223 \pm 0,006	18,735	
6,25	0,175 \pm 0,004	36,131	
12,5	0,089 \pm 0,012	67,640	7,68
25	0,027 \pm 0,001	90,146	
50	0,021 \pm 0,001	92,214	
100	0,020 \pm 0,001	92,701	

dan fase gerak adalah kloroform : metanol (95:5) ditambah dengan 3 tetes asam format. Sampel yang ditotolkan adalah yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling efektif, yaitu fraksi etil asetat dengan kuersetin sebagai pembandingnya, serta ekstrak untuk melihat sumber senyawanya. Setelah dielusi, hasil KLT disemprot dengan penampak bercak sitroborat, lalu dipanaskan. Setelah itu, dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil kromatogram KLT dapat dilihat pada Gambar 4.

4. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat potensi aktivitas antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun *P. serratifolia* L. secara in-vitro menggunakan DPPH. Tahap awal yang dilakukan adalah sortasi dan ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Maserasi dipilih karena pertimbangan suhu yang digunakan. Suhu yang tinggi akan menyebabkan hilangnya sifat antioksidan pada flavonoid di atas suhu 50°C dikarenakan senyawa

**Gambar 2.** Grafik % Inhibisi terhadap Ln Konsentrasi Trolox**Gambar 3.** Grafik % Inhibisi terhadap Ln Konsentrasi Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Daun *P. serratifolia* L.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *P. serratifolia* L.

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata absorbansi \pm SD	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
31,25	0,339 \pm 0,009	12,991	157,78
62,5	0,299 \pm 0,010	13,333	
125	0,244 \pm 0,005	37,435	
250	0,151 \pm 0,009	61,282	
500	0,037 \pm 0,004	90,512	
1000	0,032 \pm 0,004	91,880	

tersebut mudah teroksidasi pada suhu tinggi.¹⁶ Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena pelarut tersebut merupakan pelarut universal yang bersifat semipolar-polar yang dinilai mampu menarik lebih banyak senyawa golongan flavonoid, baik dalam bentuk bebas maupun dalam bentuk senyawa glikosida.¹⁷ Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam sambil diaduk sesekali dan maserat ditampung setiap 24 jam. Maserat dipekatkan dengan rotary evaporator dan didapatkan ekstrak kental dengan rendemen sebesar 9,52%.

Setelah mendapat ekstrak kental, langkah selanjutnya adalah melakukan fraksinasi menggunakan tiga jenis pelarut organik yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat, dan air. Tujuannya adalah untuk memisahkan komponen dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya menjadi fraksi yang nonpolar, semipolar, dan polar, terutama pada ekstrak tanaman yang mengandung lebih dari satu jenis senyawa fenolik dan flavonoid.¹⁷ Tahap penambahan n-heksana pada campuran ekstrak yang telah dilarutkan dengan etanol-air bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar, seperti klorofil, triterpenoid, steroid, dan senyawa

nonpolar lainnya. Setelah dipisahkan dengan fraksi n-heksana, kemudian fraksi etanol-air ditambahkan pelarut etil asetat untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat semipolar, seperti fenolik dan flavonoid bentuk bebas.¹⁸ Hasil rendemen fraksi n-heksana, etil asetat, dan air didapatkan masing-masing sebesar 0,13%, 5,70%, dan 64,43%. Hasil ini dipengaruhi oleh tingkat polaritas pelarut organik yang digunakan dalam proses fraksinasi, sehingga mempengaruhi jenis dan jumlah senyawa yang diekstraksi.¹⁹ Dapat disimpulkan bahwa senyawa polar memiliki jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan senyawa nonpolar dan semipolar.

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan aktivitas antioksidan secara kualitatif menggunakan KLT untuk melihat profil senyawa antioksidan menggunakan penampak bercak DPPH. Berdasarkan Gambar 1, dapat dilihat bahwa pada kromatogram ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air mengandung senyawa antioksidan yang ditandai dengan terbentuknya bercak warna kuning berlatar-belakang ungu. Sementara itu, pada fraksi n-heksana terlihat adanya aktivitas

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun *P. serratifolia* L.

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata absorbansi \pm SD	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
31,25	0,327 \pm 0,015	19,275	108,49
62,5	0,275 \pm 0,001	32,042	
125	0,198 \pm 0,003	50,988	
250	0,075 \pm 0,002	81,383	
500	0,027 \pm 0,003	93,245	
1000	0,024 \pm 0,001	94,069	

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Daun *P. serratifolia* L.

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata absorbansi \pm SD	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
31,25	0,334 \pm 0,006	14,358	137,70
62,5	0,303 \pm 0,031	22,222	
125	0,216 \pm 0,030	44,615	
250	0,060 \pm 0,028	84,700	
500	0,025 \pm 0,006	93,675	
1000	0,019 \pm 0,001	95,042	

antioksidan, walau terlihat tipis. Maka dari itu, pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif akan dilakukan pada ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan kontrol positif Trolox.

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan menggunakan metode DPPH. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas yang stabil dan digunakan untuk menilai potensi senyawa yang berfungsi sebagai penyedia hidrogen atau penangkap radikal bebas (*Free Radical Scavenging*). Senyawa DPPH radikal dapat dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm, yaitu pada rona ungu. Saat larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang mampu menyumbangkan atom hidrogen seperti fenolik, terjadi reaksi reduksi yang menghasilkan senyawa difenilpikrihidrazilin. Pembentukan senyawa ini ditunjukkan oleh perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat.²⁰ Metode ini dipilih karena memiliki beberapa keuntungan, antara lain biaya yang terjangkau, kemudahan dalam melakukan eksperimen, reproduktivitas, dan metodenya dapat dilakukan pada suhu kamar.²¹ Parameter yang banyak digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan sampel uji adalah nilai IC₅₀. Nilai ini dihitung sebagai

konsentrasi antioksidan yang dibutuhkan untuk menurunkan konsentrasi DPPH awal sebesar 50%. Dengan demikian, semakin rendah nilai IC₅₀, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.²²

Berdasarkan tabel di atas ini, sesuai dengan parameter nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa fraksi air daun *P. serratifolia* L. memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, namun belum poten dibandingkan dengan kontrol positifnya, yaitu Trolox.

Berdasarkan kromatogram pada Gambar 4, dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat memiliki kandungan flavonoid yang cukup melimpah. Hal ini ditandai dengan terbentuknya spot biru intens yang berpendar di bawah sinar UV 366 nm. Hal ini dikarenakan ion borat pada sitroborat akan berinteraksi dengan dua gugus hidroksil pada flavonoid sehingga membentuk kompleks borat-flavonoid melalui ikatan kovalen. Proses ini melibatkan substitusi gugus hidroksil pada flavonoid dengan ion borat yang menghasilkan senyawa kompleks yang berpendar di bawah sinar UV.¹⁵ Hal ini memperkuat bahwa kemungkinan golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat adalah flavonoid. Hal ini

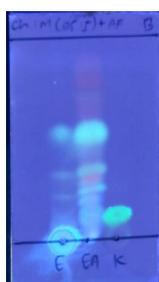
Tabel 6. Kekuatan Antioksidan Berdasarkan Nilai IC₅₀.²³

Kategori	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Sangat Kuat	< 50
Kuat	50 - 100
Sedang	101 - 150
Lemah	151 - 200
Sangat Lemah	> 200

Tabel 7. Nilai IC₅₀ Ekstrak dan Fraksi Daun *P. serratifolia* L. dan Trolox

Sampel	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Intensitas Aktivitas Antioksidan
Ekstrak etanol	157,78	Lemah
Fraksi etil asetat	108,49	Sedang
Fraksi air	137,70	Sedang
Trolox	7,68	Sangat Kuat

didasarkan pada kemampuan antioksidan senyawa flavonoid salah satunya dapat dipengaruhi oleh jumlah dan posisi ikatan gugus hidroksil dalam struktur utamanya.



Gambar 4. Kromatogram Fraksi Etil Asetat Setelah Disemprotkan Penampak Bercak Sitroborat

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Santoso, et al., pada tahun 2016 mengungkapkan bahwa gugus 5,7,4'-trihidroksil berperan penting terhadap aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid. Selain itu, adanya metilasi gugus hidroksil pada cincin B dan substitusi gugus gula pada 7-hidroksi akan menurunkan aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid.²⁴

5. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun *P. serratifolia* L. memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi air dengan nilai IC₅₀ sebesar 108,49 µg/mL dengan kategori sedang. Dapat disimpulkan bahwa senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat adalah flavonoid berdasarkan hasil analisis kualitatif KLT dengan penampak bercak sitroborat. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai profil senyawa flavonoid yang terkandung di dalam fraksi etil asetat untuk dijadikan sebagai potensi senyawa antioksidan baru yang lebih poten.

Daftar Pustaka

- Losada-Barreiro S, Sezgin-Bayindir Z, Paiva-Martins F, Bravo-Díaz C. Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines*. 2022;10(12).
- Wijaya NR, Dewi TF. Keanekaragaman Spesies Tumbuhan Obat untuk Perawatan Sebelum dan Sesudah Persalinan pada Beberapa Suku di Maluku Utara. *Bul Plasma Nutfah*. 2020;26(2):145–56.
- Veronika V, Wibowo MA, Harlia H. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Buah Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn.). *JKK*. 2016;5(3):45–51.
- Nurliana L, Musta R, Rudi L. Microencapsulation of Essential Oil from Rogo Plant (*Premna serratifolia* L.) As Antibacterium *Escherichia coli*. *Int J Eng Sci Res Technol*. 2018;7(8):314–23.
- Hadiarti D. In Vitro α -Glucosidase Inhibitory Activity of Ethanol Extract of Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.). *Tradit Med J*. 2017;22(2):80–3.
- Shalihin MI, Muhaimin, Latief M. Isolation and identification of an alkaloid compound from Bebuas leaves (*Premna serratifolia*) as an anti-inflammatory in white rats (*Rattus norvegicus*). *J Teknol Lab*. 2022;11(2):78–94.
- Lubaina AS, Brijithlal ND, Murugan K. Phytochemical Analysis and Antioxidant Potentiality of *Premna serratifolia* L. - An Aromatic Medicinal Plant. *World J Pharm Res*. 2016;5(12):841–52.
- Simamora A, Santoso AW, Timotius KH, Rahayu I. Antioxidant Activity, Enzyme Inhibition Potentials, and Phytochemical Profiling of *Premna serratifolia* L. Leaf Extracts. *Int J Food Sci*. 2020;2020:1–11.
- Hadiarti D. Profiling of α -glucosidase inhibitors from ethyl acetate fraction

- of Buas-buas (*Premna serratifolia*) leaves using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and protein – ligand interaction with molecular docking. *J Appl Pharm Sci.* 2023;13(02):89–98.
10. Restuati M. Study of the Extract Activities of Buas buas Leaves (*Premna pubescens*) as Immunostimulant on Rats (*Rattus novogicus*). *Am J Biosci.* 2014;2(6):244–50.
11. Salih GA, Ahmad-Raus R, Shaban MN, Abdullah N. Extraction and purification of cytotoxic compounds from *Premna serratifolia* L. (bebus) for human breast cancer treatment. *Int Food Res J* [Internet]. 2017;7(1):281–6. Tersedia pada: <http://jite.pmei.or.id/index.php/jite/article/view/141>
12. Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules.* 2021;26(17):1–16.
13. Binuni R, Wilmar M, Hariyadi, Yappy S. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* Dari Kecamatan Tagulandang, Sulawesi Utara Menggunakan Metode DPPH. *Trop J Biopharm.* 2020;2(2):158–69.
14. Rahmawati N, Prayoga HN, Rahmah M. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi n-Butanol Daun Tin (*Ficus carica* L.) Varietas Brown Turkey. *J Penelit Farm Indones.* 2019;8(1):24–31.
15. Santosa D, Haresmita PP. Antioxidant Activity Determination *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumea mollis* (D. Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., and *Salvia riparia* H.B.K which Collected from Taman Nasional Gunung Merapi using DPPH (2,2-diphenyl-1-pikr. *Tradit Med J.* 2015;20(1):28–36.
16. Rodríguez De Luna SL, Ramírez-Garza RE, Serna Saldívar SO. Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *Sci World J.* 2020;2020.
17. Tanaya V, Retnowati R. Fraksi Semi Polar dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). *Kim Student J.* 2015;1(1):778–84.
18. Rahayu S, Kurniasih N, Amalia V. Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *al-Kimiya.* 2015;2(1):1–8.
19. Ritna A, Anam S, Khumaidi A. IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID PADA FRAKSI ETIL ASETAT BENALU BATU (*Begonia sp.*) ASAL KABUPATEN MOROWALI UTARA. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy).* 2016;2(2):83–9.
20. Baliyan S, Mukherjee R, Priyadarshini A, Vibhuti A, Gupta A, Pandey RP, et al. Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules.* 2022;27(4).
21. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3380):1–30.
22. Rivero-Cruz JF, Granados-Pineda J, Pedraza-Chaverri J, Pérez-Rojas JM, Kumar-Passari A, Diaz-Ruiz G, et al. Phytochemical Constituents, Antioxidant, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of the Ethanolic Extract of Mexican Brown Propolis. *Antioxidants.* 2020;9(1):1–11.
23. Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature.* 1958;181(4617):1199–200.
24. Santoso B, Utomo RS, Wiyoga MD. Analisis Hubungan Senyawa Golongan Flavonoid dari 24 Famili Tanaman Terhadap Aktivitas Penangkap Radikalnya. In: *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNJANI-HKI.* 2016. hal. 139–46.