

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY AND
GC-MS ANALYSIS OF ETHANOLIC
MANGKOKAN LEAVES EXTRACT
(Polyscias balfouriana (Sander ex Andre)
L.H.Bailey)
By Sholihatil Hidayati

22
IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY AND GC-MS ANALYSIS OF
ETHANOLIC
24
MANGKOKAN LEAVES EXTRACT (*Polyscias balfouriana*
(Sander ex Andre) L.H.Bailey)

PENDAHULUAN

4
Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan alam hayati yang melimpah dengan 10
jumlah spesies mencapai 20.000 spesies, yang mana 40% termasuk tumbuhan endemik atau
asli Indonesia (Kusmana & Hikmat, 2015). Namun, kekayaan alam tersebut belum di
manfaatkan secara maksimal, terutama dalam pengembangan obat-obatan.

Masyarakat Indonesia secara umum lebih familiar menggunakan pengobatan secara
tradisional, yakni dengan menggunakan tumbuhan dengan kandungan kimia yang dimiliki
(Hariana, 2008). Salah satu tanaman yang belum tereksplorasi dengan maksimal yaitu daun
mangkoka. Daun mangkoka banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk tanaman hias
atau pagar yang tumbuh liar. Tanaman tersebut belum digunakan secara maksimal karena
masyarakat belum mengetahui manfaat dan 4
kegunaannya sebagai tanaman obat. Secara
empiris tanaman ini digunakan masyarakat untuk menghilangkan bau badan, pelumas kepala
terhadap kerontokan rambut, infeksi, diuretika, dan peluruh keringat (Herawati, 2004).
Ekstrak metanol daun mangkoka terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Eden & Badahdah,
2016).

18
Antioksidan terdiri dari dua jenis, yaitu alami dan sintetis. Antioksidan alami
bersumber dari bahan alam dan memiliki potensi menangkap radikal bebas, sedangkan
antioksidan sintetis dihasilkan dari 2
dapatkan dari hasil proses sintesis secara kimia (Isfahlan
et al., 2010). Senyawa antioksidan mampu 25
memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri
reaksi berantai pada radikal bebas 6
sehingga dapat mencegah efek negatif dari radikal bebas
(Halliwell & Whiteman, 2004). Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi
mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya
molekul radikal yang sangat reaktif (Herry, 2011).

16
Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode penangkapan radikal bebas
menggunakan DPPH. Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan pengujian
untuk melihat kandungan senyawa serta aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun
mangkoka dengan metode DPPH. Metode ini dinilai lebih menguntungkan karena
sederhana, mudah, efisien, cepat dan tidak membutuhkan jumlah sampel yang banyak
(Badarinath et al., 2010).

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Sampel daun Mangkoka dan Ekstraksi

17
Sampel daun mangkoka didapatkan dari daerah Yogyakarta. Pelaksanaan determinasi
dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Daun yang

telah disortasi, dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Ekstraksi dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 400 gram sampel serbuk kering daun mangkokan, kemudian ditambah pelarut etanol 70% dan dimaserasi selama 24 jam sambil diaduk-aduk, remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, kemudian hasil filtrat pekat ekstrak etanol daun mangkokan digunakan sebagai bahan uji.

Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terdiri dari identifikasi senyawa terpenoid menggunakan asam sulfat pekat, senyawa alkaloid pereaksi Wagner dan Mayer, senyawa flavonoid dengan HCl pekat, senyawa saponin metode terbentuknya buih putih dan senyawa tannin dengan larutan FeCl₃ 1%.

Analisis Kandungan Senyawa dengan metode Gass Chromatography Mass Spectrometri (GC-MS)

Identifikasi sampel ekstrak etanol daun mangkokan menggunakan instrumen GC-MS seri QP2010S SHIMADZU dengan jenis kol²⁰ Rtx 5 MS yang panjangnya 30 m. Deteksi sampel dilakukan dengan menggunakan helium sebagai gas pembawa dengan ener⁸g ionisasi sebesar 70 eV. Suhu kolom oven diatur sebesar 70°C, temperatur injeksi 300°C, tekanan 13,7 kPa, aliran total :28,0 mL/menit, aliran kolom :0,50 mL/menit, kecepatan linear :25,9 cm/detik. Waktu mulai 3,20 menit, waktu berhenti pada menit ke 70,00 dan waktu setimbang 3 menit. Jumlah% relatif setiap komponen dihitung dengan membandingkan rata-rata luas puncak dengan luas total.

Uji aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan reagen DPPH 0,15 mmol

Sebanyak 20 mg DPPH dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a, dimasukkan dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambah etanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan. Diambil 15 mL larutan DPPH 0,15 mmol, dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet 1 mL DPPH 0,15 mmol tambahkan 1 mL etanol p.a digojog hingga homogen. Diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 450–600 nm terhadap blanko etanol p.a.

c. Penentuan Absorbansi pada Panjang Gelombang Maksimum

pipet 1 mL DPPH 0,15 mmol ditambahkan 1 mL etanol p.a digojok hingga homogen. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

d. Pembuatan Larutan Sampel Induk Ekstrak Etanol Daun Mangkokan 10000 ppm

Ditimbang sampel sebanyak Ekstrak Etanol Daun Mangkokan 100 mg dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a. dan disonikasi selama 25 menit, lalu disaring. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, tambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan.

e. Penentuan Operating Time

Dibuat larutan sampel 500 ppm, ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0–60 menit pada panjang gelombang 516 nm.

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Dibuat larutan sampel ekstrak 100, 150, 200, 250, 300, 400 dan 500 ppm dalam labu ukur 5 ml. Pada masing-masing larutan, dipipet 1 mL larutan sampel lalu ditambahkan 1 mL larutan DPPH, digojog hingga homogen dan diinkubasi pada range operating time pada suhu ruang dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

g. Analisa Data

Persen inhibisi dihitung dengan rumus berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

A blanko

Hubungan antara konsentrasi sampel dan % inhibisi dibuat persamaan regresi linier dan IC50 dihitung dengan memasukkan nilai persen inhibisi sebesar 50 pada persamaan tersebut

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun mangkoka dilakukan dengan cara maserasi. Penggunaan teknik ini memberikan beberapa keuntungan diantaranya murah dan mudah dilakukan. Selain itu, dengan adanya perendaman sampel dapat menyebabkan pemecahan dinding dan membran sel yang terjadi akibat perbedaan tekanan antara luar dan dalam sel, sehingga senyawa aktif yang terkandung di dalam sitoplasma dapat larut dalam pelarut (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Pada penelitian ini, maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% karena diharapkan dengan adanya air maka semakin banyak senyawa polar yang berdifusi kedalam pelarut (Indra et al., 2019). Menurut Sun, dkk pelarut etanol 75% memberikan hasil ekstraksi lebih baik dan aktivitas antioksidan yang kuat dibanding dengan etanol 25%, 50%, 95% dan 100% (Sun et al., 2015). Penggunaan air lebih banyak juga diharapkan dapat mengurangi toksisitas.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Senyawa Uji	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Tannin	Etanol + FeCl ₃ 1%	hitam kebiruan atau hijau	+
Alkaloid	HCL 2N + Wagner	Endapan jingga	+
	HCL + Mayer	Endapan Kuning	-
Terpenoid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	kemerahan	+
Saponin	Air suling + dikocok kuat	Terbentuk busa	+
Flavonoid	Etanol 70% + HCl pekat + Mg	Merah tua	+

Uji fitokimia merupakan salah satu langkah penting dalam upaya mengungkap potensi sumber daya tumbuh⁵ obat sebagai antibiotik, antioksidan, dan antikanker (Astuti & Rudiaryansyah, 2013). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangkoka mengandung senyawa tannin, alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid sebagaimana yang ditunjukkan oleh Tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dapat menarik metabolit sekunder daun mangkoka dengan baik. Penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak etanol 96% daun mangkoka terbukti positif flavonoid yaitu kuesetin (Farida & Guntarti, 2017). Selain itu, dilaporkan juga bahwa ekstrak metanol daun mangkoka mengandung senyawa saponin dan flavonoid (Eden & Badahdah, 2016).

Flavonoid merupakan antioksidan alami dari tumbuhan yang mampu berinteraksi dengan produksi radikal hidroksil (Treml & Šmejkal, 2016). Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan dipengaruhi oleh struktur molekul dan posisi dari gugus hidroksilnya (Rajanandh & Kavitha, 2010). Kuersetin merupakan salah satu komponen flavonoid yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional Tiongkok karena terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Xu et al., 2019).

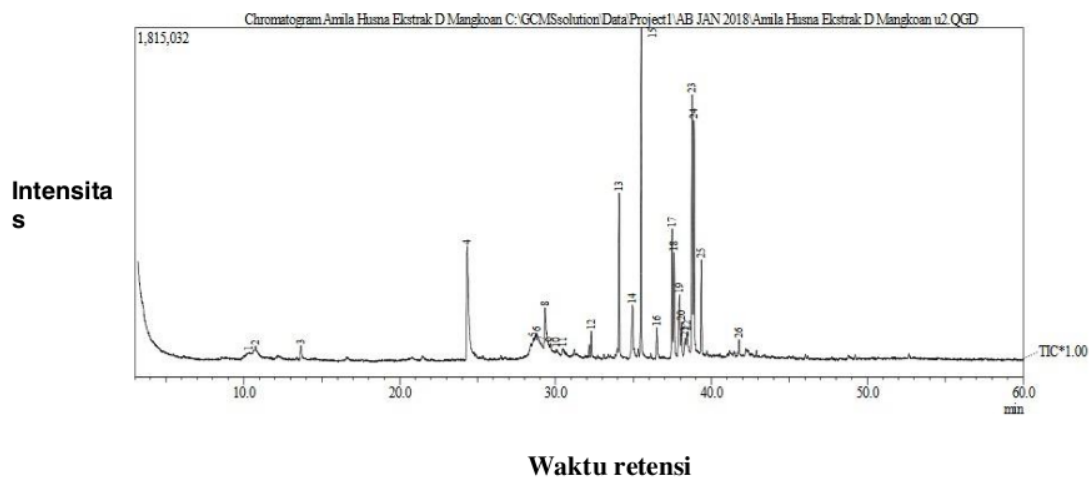
Tabel 2. Kandungan Kimia Senyawa Ekstrak Etanol Daun Mangkoka

Puncak	Nama senyawa	Waktu retensi (menit)	Area (%)	SI
1	<i>Benzene, 1,4-Dibenzoyloxybutane</i>	10,324	1,12	69
2	<i>Pantolactone, dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolane</i>	10,733	1,46	
3	<i>1-Dimethylaminohexane, N,N-Dimethyl-n-hexylamine, N,N-Dimethylhexylamine, 1-Hexanamine, N,N-dimethyl-Pyrrolidine, 1-(1-pentenyl)-</i>	13,672	0,93	83
4	<i>Heptadecanoic acid, ethyl ester</i>	24,331	11,12	94
5	<i>1,3-Dioxolane-4-methanol, 2,2-dimethyl-α-vinyl-, acetate</i>	28,583	1,36	62
6	<i>1-Dimethylaminohexane, N,N-Dimethyl-n-hexylamine</i>	28,799	4,38	68
7	<i>Tetradecanoic acid, Methyl 12-methyltetradecanoate</i>	29,008	1,95	64
8	<i>Octadecatrienoic acid</i>	29,331	5,27	94
9	<i>1,12-Dodecanediol</i>	29,645	1,23	74
10	<i>2-Undecanone, 6,10-dimethyl-Hexahydropseudoionone</i>	30,055	0,95	72
11	<i>Octadecanoic acid, methyl ester</i>	30,461	1,21	73
12	<i>Hexadecanoic acid, Palmitic acid</i>		1,21	89
13	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>	34,079	6,27	94
14	<i>Falcal¹⁵ol</i>	35,491	3,57	92
15	<i>9,12-¹⁵adecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester</i>	36,494	12,28	92
16	<i>9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester</i>	37,473	1,79	84
17	<i>1-Benzylpiperazine, N-Benzylpiperazine, Piperazine</i>	37,598	5,04	93
18	<i>Octadecanoic acid, methyl ester</i>	37,948	4,25	88
19	<i>7-Hexadecyne</i>	37,948	3,82	74
20	<i>2-Decyn-1-ol</i>	38,086	1,47	95
21	<i>9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester</i>	38,315	1,38	84
22	<i>9,12,15-Octadecatrienal</i>	38,436	2,16	82
23	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>	38,764	10,49	88
24	<i>1,2-Ethanediamine, N,N-dimethyl-N, Ethylenediamine</i>	38,883	9,32	84
25		39,349	5,29	94
26		41,777	0,98	79

Spektrometri massa menjadi alat penting untuk menentukan hasil kualitatif dan informasi kuantitatif pada molekul berdasarkan komposisi struktural. GC-MS dapat menganalisis campuran molekul kecil terutama senyawa organik rendah berat molekul (<600) (Asha et al., 2017). Analisis kandungan senyawa dengan metode GC-MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun mangkoka. Hasil pengujian GC-MS ekstrak etanol daun mangkoka teridentifikasi 26 senyawa (Tabel 2) dengan spektra kromatogram yang ditunjukkan pada gambar 1. Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa senyawa utama yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mangkoka yaitu senyawa asam heksadekanoat dengan luas area sebesar 12,28% dan terdapat pada nomor puncak 15. Senyawa tersebut memiliki nilai *similarity Index* (SI) sebesar 92 dengan waktu retensi 35,491 menit.

Asam heksadekanoat adalah jenis asam lemak jenuh yang memiliki efek antioksidan, seperti agen lain seperti vitamin (Ranaei & Najafizadeh-sari, 2017). Beberapa penelitian telah melaporkan aktivitas antioksidan dari beberapa tanaman yang mengandung tinggi asam heksadekanoat (Kim et al., 2020). Selain itu, berdasarkan studi struktur dan kinetika, asam heksadekanoat potensial menghambat fosfolipase A (2) sehingga sangat potensial untuk dikembangkan sebagai agen antiinflamasi (Aparna et al., 2012).

Pada hasil pengujian GC-MS (tabel 2.) senyawa alkaloid *1-Benzylpiperazine*, *N-Benzylpiperazine*, *Piperazine* dengan berat molekul 176,26 g/mol terdeteksi dengan luas area 3,82%, namun senyawa flavonoid tidak terdeteksi. Hal ini dimungkinkan karena flavonoid memiliki berat molekul relatif besar yaitu 302 g/mol sehingga membutuhkan temperature oven lebih besar (Gates & Lopes, 2012).



Gambar 1. Kromatogram ekstrak etanol daun mangkoka

12

Metode DPPH merupakan metode sederhana dan murah untuk mengukur kapasitas antioksidan dan banyak digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas pada bahan alam² dan ekstrak tanaman (Shekhar, 2014). Prinsip dari metode ini yaitu menentukan nilai absorbansi dari senyawa radikal DPPH yang mengalami penurunan dengan adanya senyawa antioksidan. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometer visibel pada *operating time* dengan panjang gelombang maksimum hasil dari optimasi (Thangaraj, 2016).

3

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol daun mangkoka dengan menggunakan metode DPPH diperoleh hasil yang terlihat pada tabel 3. Berdasarkan perhitungan persamaan linear yang dida⁴tkan dapat ditentukan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun mangkoka sebesar 161,39 ppm. IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi efektif yang mampu menghambat aktivitas suatu antioksidan sebesar 50% (Salamah & Widyasari, 2015).

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan dan IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Mangkoka

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi Sampel	% Penghambatan	IC ₅₀ (ppm)
500	0,156	81,20	161,39
400	0,211	74,57	
300	0,298	66,50	
250	0,298	63,89	
200	0,356	61,60	
150	0,438	45,46	
100	0,535	36,98	

Aktivitas antiaoksidan dari ekstrak etanol daun mangkoka dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa kimia terutama flavonoid, saponin dan asam heksadekanoat. Flavonoid termasuk senyawa kelompok fenolik terbesar yang ditemukan di alam dan merupakan sumber antioksidan poten karena memiliki struktur kimia ideal yang mampu menangkal radikal bebas. Antioksidan berperan penting dalam perlindungan terhadap kerusakan sel oksidatif yang dapat menyebabkan beberapa kondisi penyakit, seperti penyakit Alzheimer, kanker, penyakit jantung dan juga terkait dengan peradangan kronis (Rajendran et al., 2014).

14

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan yang telah dikemukakan dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun mangkoka memiliki potensi aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang meliputi senyawa tannin, alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid. Hasil analisis kandungan senyawa dengan metode GC-MS, diketahui bahwa ekstrak etanol daun mangkoka memiliki 26 senyawa kandungan dengan

senyawa kandungan terbesar yaitu asam heksadekanoat. Pengukuran aktivitas antioksidan yang dianalisis dengan spektrofotometer menggunakan metode penghambatan senyawa DPPH menunjukkan hasil nilai IC_{50} pada ekstrak etanol daun mangkoka sebesar 161,39 ppm.

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY AND GC-MS ANALYSIS OF ETHANOLIC MANGKOKAN LEAVES EXTRACT (*Polyscias balfouriana* (Sander ex Andre) L.H.Bailey)

ORIGINALITY REPORT

25%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www.e-journal.stikesdutagama.ac.id Internet	115 words — 6%
2	es.scribd.com Internet	47 words — 2%
3	ejournal.unsrat.ac.id Internet	37 words — 2%
4	www.scribd.com Internet	32 words — 2%
5	Livia Fransisca Tulus, Sunarty Sunarty, Fensia A Souhoka. "PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN KELOR (<i>Moringa Oleifera</i> , Lam) SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA MINYAK KELAPA", <i>Molluca Journal of Chemistry Education (MJoCE)</i> , 2019 Crossref	26 words — 1%
6	docobook.com Internet	25 words — 1%
7	repository.unair.ac.id Internet	22 words — 1%
8	jrk.fmipa.unand.ac.id Internet	18 words — 1%

9	jurnal.untan.ac.id Internet	18 words — 1%
10	etheses.uin-malang.ac.id Internet	17 words — 1%
11	repository.ipb.ac.id Internet	17 words — 1%
12	123dok.com Internet	16 words — 1%
13	fr.scribd.com Internet	15 words — 1%
14	repository.uksw.edu Internet	14 words — 1%
15	nopr.nisair.res.in Internet	12 words — 1%
16	simpler.its.ac.id Internet	11 words — 1%
17	docplayer.info Internet	10 words — < 1%
18	repository.uinjkt.ac.id Internet	10 words — < 1%
19	Repository.umy.ac.id Internet	9 words — < 1%
20	text-id.123dok.com Internet	9 words — < 1%

21	www.digilib.its.ac.id Internet	9 words — < 1%
22	www.ptfarm.pl Internet	9 words — < 1%
23	Asriani Suhaenah, Mamat Pratama, A. Hesti Wulandasari Amir. "PENETAPAN KADAR FLAVONOID FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KARET KEBO (<i>Ficus elastica</i>) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS", Jurnal Ilmiah As-Syifaa, 2021 Crossref	8 words — < 1%
24	www.gbif.org Internet	8 words — < 1%
25	repository.usd.ac.id Internet	6 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES OFF
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE MATCHES OFF