

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOLIK BUAH BUNI (*Antidesma bunius* (L.) SPRENG)

Arif Rahman, Abd. Malik, Aktsar Roskiana Ahmad*

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia

*aktsar.roskiana@umi.ac.id

ABSTRACT

*Free radicals play a role in the occurrence of various degenerative diseases that require free-radical scavengers or antioxidants. Buni fruit (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) has the bioactive components are Anthocyanins (flavonoids) that serves to the free radicals. This study aimed to measure the antioxidant activity of the ethanol extract contained 70% fruit Buni obtained by using the method of nitric oxide. Simplicia buni macerated dried fruit with 70% ethanol. Extracts were obtained in the test antioxidant activity against nitric oxide radicals. The antioxidant activity against free radical absorbance measured by means of UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 546 nm and calculated IC_{50} values. The results shows that the fruit buni has potential as a free radical with IC_{50} value of 2.28 $\mu\text{g/mL}$ and a comparison of quercetin with IC_{50} value of 5.88 $\mu\text{g/mL}$.*

Keywords: free radical, antioxidants, fruit buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng), nitric oxide (NO)

I. PENDAHULUAN

Radikal bebas didefinisikan sebagai suatu atom/molekul/senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Karena hal tersebut, radikal bebas cenderung bereaksi dengan molekul sel tubuh (Sinly, 2008). Keberadaan radikal bebas di dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti serangan jantung, kanker, stroke, gagal ginjal, penuaan dini dan penyakit kronik lainnya (Winarsi, 2007).

Di dalam tubuh manusia terdapat senyawa yang dapat menangkal radikal bebas yang disebut Antioksidan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat memberikan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas dapat diredam. Antioksidan juga didefinisikan sebagai zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi yang dapat menetralkan atau menghancurkan suatu radikal bebas. Pola hidup dan pola makan yang tidak benar serta bertambahnya usia dapat menyebabkan produksi antioksidan oleh tubuh berkurang, sehingga tubuh memerlukan antioksidan dari luar tubuh (Kumalaningsih, 2007). Konsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup dapat menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif. Namun, hal tersebut tergantung dari kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas (Norma, 2011).

Antioksidan dapat diperoleh secara alami dari tumbuh-tumbuhan, baik buah, daun, batang atau bagian lainnya. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antioksidan adalah buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) yang umumnya masyarakat lokal di daerah Enrekang, Sulawesi

Selatan dikenal dengan nama "sadipe". Bagi masyarakat lokal, buah buni masih belum banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Padahal, secara empiris tumbuhan ini dipercaya berkhasiat untuk mengobati penyakit kurang darah, darah kotor, hipertensi, jantung berdebar, batuk, gangguan pencernaan, sifilis, kencing nanah, diabetes, disentri, indigesti, konstipasi dan lain-lain (Kassem *et al*, 2013). Namun, data-data ilmiah yang mendukung khasiat dari buah buni tersebut belum terlalu banyak, sehingga pengkajian ini bermanfaat untuk mengetahui pemanfaatan buah buni dimasa yang akan datang.

Mengingat pentingnya peran tumbuhan bagi kehidupan manusia, maka pengetahuan mengenai aktifitas biologis yang ditimbulkan oleh senyawa antioksidan yang berasal dari tumbuhan sangat diperlukan dalam usaha penemuan sumber obat baru sehingga peneliti melakukan pemeriksaan skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) sebagai tahap awal pemanfaatan buah buni khususnya dalam ilmu kesehatan (Harborne, 1987)

II. METODE PENELITIAN

A. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel segar buah buni (*Antidesma bunius* (L.) spreng) diambil di Kabupaten Enrekang, Provinsi Sulawesi selatan. Sampel kemudian dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, sampel diblender, kemudian dihaluskan (serbukkan).

B. Ekstraksi Sampel

Simplisia kering buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) sebanyak 1000 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindungi dari cahaya matahari langsung sambil diaduk secara periodik, setelah 3 x 24 jam dilakukan penyaringan untuk diperoleh ekstrak etanol 70% cair. Setelah itu, ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari yang baru. Hasil penyarian yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor 70°C (Dirjen POM, 2000).

C. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak buah buni (*Antidesma bunius* (L.) spreng) berdasarkan pada metode Harborne, tahun 1987 dengan beberapa modifikasi. Skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, uji steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, dan tanin.

D. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas dengan Nitrit Oksida

1. Uji Pendahuluan

Pertama-tama ekstrak etanol buah buni ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan menggunakan eluen yang sesuai. Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan larutan Natrium nitroprusida (10 μ M) lalu didiamkan selama 30 menit. Diamati perubahan warna yang terjadi dari warna ungu menjadi kuning.

2. Pengukuran Daya Antioksidan Blanko

Pengujian dilakukan dengan memipet 2,0 ml Natrium nitroprusida 10 μ M, tambahkan 1 ml Griess reagent dan dicukupkan volumenya dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai 10 ml dalam labu tentukur. Larutan ini kemudian dibiarkan selama 30 menit dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 546 nm.

3. Pengukuran Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng)

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol buah buni (*Antidesma bunius* (L.) spreng) sebanyak 10 mg dengan dilarutkan dengan pelarut PBS dan dicukupkan dengan PBS dengan volume hingga 10 ml dalam labu tentukur. Selanjutnya dilakukan pengenceran :

1. Dipipet 0,1 ml (100 μ L) dari larutan stok dan dicukupkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai volume akhir 10 ml (10 ppm).

2. Dipipet 0,5 ml (500 μ L) dari larutan stok dan dicukupkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai volume akhir 10 ml (50 ppm).
3. Dipipet 1,0 ml (1000 μ L) dari larutan stok dan dicukupkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai volume akhir 10 ml (100 ppm).

Pengukuran dilakukan dengan memipet 100 μ L (0,1 ml) larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 2,0 ml Natrium nitroprusida 10 μ M dan 1 ml reagen Griess kemudian dicukupkan volumenya dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai 10 ml dalam labu tentukur. Campuran kemudian dihomogenkan dan dibiarkan pada suhu kamar (37°C) selama 30 menit lalu serapannya diukur pada panjang gelombang 546 nm.

4. Pengukuran Daya Antioksidan Sampel Pembanding Kuersetin

Variasi konsentrasi larutan stok dan larutan sampel yang telah dibuat, masing-masing ditotolkan sebanyak 5 μ L dengan menggunakan mikropipet pada lempeng KLT ukuran 10 x 10 cm. Kemudian lempeng dielusi dalam chamber dengan campuran pelarut BAW (6:3:1). Noda yang terpisah diamati dibawah lampu UV 254 nm, lalu diukur dengan menggunakan KLT-Densitometri pada panjang gelombang maksimum 734 nm dan dilakukan analisis terhadap hasil scan.

Dibuat larutan stok 1000 ppm dengan cara menimbang Kuersetin setara 10 mg kemudian dilarutkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml dalam labu tentukur. Kemudian dilakukan pengenceran :

1. Dipipet 0,1 ml (100 μ L) dari larutan stok dan dicukupkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai volume akhir 10 ml (10 ppm).
2. Dipipet 0,5 ml (500 μ L) dari larutan stok dan dicukupkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai volume akhir 10 ml (50 ppm).
3. Dipipet 1,0 ml (1000 μ L) dari larutan stok dan dicukupkan dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai volume akhir 10 ml (100 ppm).

Pengukuran dilakukan dengan memipet 100 μ L larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 2,0 ml Natrium nitroprusida 10 μ M dan 1 ml reagen Griess kemudian dicukupkan volumenya dengan Phosphate Buffered Saline (PBS) sampai 10 ml dalam labu tentukur. Campuran kemudian dihomogenkan dan dibiarkan pada suhu kamar (37°C) selama 30 menit lalu serapannya diukur pada panjang gelombang 546 nm. Besarnya persentase pengikat radikal bebas dihitung dengan rumus (Apriandi, 2011):

$$\% \text{Pengikatan radikal bebas} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100$$

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan : y = a + bx dapat dihitung nilai IC₅₀. Dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) untuk memberikan data secara ilmiah. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi yang merupakan metode ekstraksi dingin, dimana metode ini tidak merusak komponen kimia pada buah buni, karena tidak adanya pemanasan yang terjadi dalam proses ekstraksi, disamping itu pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana.

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan pelarut etanol 70% yang merupakan pelarut polar yang bersifat tidak toksik. Selain itu, pelarut etanol 70% memiliki keistimewaan tersendiri yaitu dapat menyari komponen kimia yang bersifat polar maupun yang bersifat non polar. Hasil maserasi kemudian dipisahkan dengan menggunakan rotavapor sehingga diperoleh ekstrak kental yang kemudian dihitung rendamen ekstrak. Rendamen ekstrak dihitung dengan cara membandingkan jumlah ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal yang digunakan. Adapun Besar rendamen hasil ekstraksi 1000 g buah buni dalam 1000 mL etanol 70% yang dihitung berdasarkan persen rendamen ekstrak yaitu 9,7%. Hal ini dapat dilihat pada tabel 1. Rendamen ekstrak ini dapat digunakan sebagai parameter standar mutu ekstrak pada tiap betas produksi maupun parameter efisiensi ekstrak (Depkes, 2000).

Tabel 1. Persen Rendamen Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng)

Pelarut	Bobot sampel kering	Bobot Ekstrak	% Rendamen
Etanol 70%	1000 gram	93 gram	9,3 %

Hasil ekstrak etanolik dari buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) kemudian dilakukan skrining fitokimia menggunakan pereaksi warna yang meliputi uji alkaloid, tanin, flavonoid, saponin dan Steroid. Secara umum dapat dikatakan bahwa sebagian besar metodenya merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna (Harborne, 1987).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, ekstrak etanolik buah buni mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin. Dimana, penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa kandungan dari buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) adalah antosianin yang tergolong pigmen yang disebut flavonoid yang pada umumnya larut dalam air karena buahnya yang berwarna merah hingga ungu (violet) (Lembaga Biologi Nasional, 1977 dan Gruèzo, 1997).

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng).

Senyawa Uji	Ekstrak Etanol 70 %
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Steroid	-
Fenol	+
Tannin	+

Keterangan :

(+) Mengandung senyawa fitokimia yang diujikan

(-) Tidak mengandung senyawa fitokimia yang diujikan

Pengujian aktivitas antiradikal bebas secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan KLT. Sampel ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi menggunakan cairan pengelusi (eluen) n-butanol : asam asetat : air (BAA), karena cairan pengelusi ini biasa digunakan untuk flavonoid (Harborne, 1989). Setelah lempeng KLT dielusi kemudian disemprot dengan Nitrit Oksida. Hasil pengujian memperlihatkan bercak berpendar kuning dalam sinar UV 366 nm pada nilai Rf 0,87 pada ekstrak etanol 70%. Bercak yang memberikan perubahan warna ungu menjadi kuning menunjukkan adanya aktivitas antiradikal bebas. Hasil KLT dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil KLT Ekstrak etanol 70 % buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng)

Sampel	Bercak	UV 254		UV 366	
		Rf	Warna	Rf	Warna
Ekstrak Etanol	I	0,87	Kuning	0,87	Kuning menyala
	II	0,50	Kuning	0,50	kuning
	III	0,14	Kuning	0,14	kuning
	Titik penotolan		Coklat		Biru gelap

Fase gerak : Eluen n-Butanol : Asam asetat : Air (5:1:4)
 Fase diam : Silika gel
 Ukuran Lempeng : 7 x 3 cm

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan metode Nitrit Oksida (Misra, 2010). Metode Nitrit Oksida dipilih karena sederhana, cepat, efektif dan hanya memerlukan sedikit sampel. Nitrit Oksida (Natrium nitropruside) yang berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan senyawa antioksidan dalam hal ini adalah antosianin (flavonoid) yang dapat menghancurkan atau menghambat radikal bebas seperti radikal superoksida dan hydrogen. NO akan bereaksi dengan O₂ dan H⁺/H⁻ membentuk peroksinitrit serta radikal hidrogen menyebabkan kerusakan substansi jaringan dan sel melalui mekanisme radikal bebas (Wallace JL, 2005). Antosianin (flavonoid) dan berbagai bentuk turunannya dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi dengan berbagai mekanisme (Astawan dan Kasih, 2008).

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode Nitrit Oksida adalah untuk

melihat kemampuan penghambatan suatu ekstrak tanaman terhadap radikal Nitrit Oksida yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 546 nm (Mishra, 2010). Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat terhadap nitrit oksida dengan nilai IC₅₀ 2,28 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi larutan substrat atau sampel menyebabkan tereduksinya aktivitas Nitrit Oksida sebesar 50% sehingga antioksidan yang terdapat pada ekstrak etanolik buah buni merupakan antioksidan dengan aktivitas yang sangat kuat karena nilai IC₅₀ <10 µg/mL. Sedangkan kuersetin (antioksidan alami) yang digunakan sebagai standar dalam penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat pula dengan nilai IC₅₀ 5,88 µg/mL (IC₅₀ <10 µg/mL). Namun ekstrak etanolik buah buni lebih efektif dibanding dengan kuersetin.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persentase Pengikatan Nitrit Oksida dan Nilai IC₅₀ dari Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng).

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% peredaman Radikal bebas	%peredaman Radikal bebas rata-rata	IC ₅₀
		Blanko	Sampel			
Ekstrak Etanol 70%	0.1	0.708	0.451	36.2	39.266	2.28 µg/ml
	0.5	0.708	0.426	39.8		
	1	0.708	0.412	41.8		

Tabel 5. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persentase Pengikatan Nitrit Oksida dan Nilai IC₅₀ dari sampel pembandingan Kuersetin

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		%peredaman Radikal bebas	%peredaman Radikal bebas rata-rata	IC ₅₀
		Blanko	Sampel			
Kuersetin	0.1	0.708	0.580	18.02	20.13	5.58 µg/ml
	0.5	0.708	0.571	19.35		
	1	0.708	0.545	23.02		

Menurut Phongpaichit et al (2007), Suatu senyawa dikatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara $10\text{-}50 \mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara $50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara $100\text{-}250 \mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif apabila IC_{50} diatas $250 \mu\text{g/mL}$.

Hal ini juga diperkuat menurut Lembaga Biologi Nasional (1977) dan Gruèzo (1997), bahwa buah buni mengandung antosianin yang tergolong pigmen yang disebut flavonoid yang pada umumnya larut dalam air karena buahnya yang berwarna merah hingga ungu (violet). Antosianin (flavonoid) diyakini mempunyai efek antioksidan yang sangat baik. Sebuah penelitian yang dilakukan di Universitas Michigan Amerika Serikat menunjukkan bahwa antosianin (flavonoid) dapat menghancurkan radikal bebas, lebih efektif daripada vitamin E yang selama ini telah dikenal sebagai antioksidan kuat (Astawan dan Kasih, 2008).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa komponen kimia yang terdapat pada ekstrak etanolik buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) adalah flavonoid, tanin, fenol, alkaloid dan buah buni mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat terhadap Nitrit Oksida dengan nilai $IC_{50} 2,28 \mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Astawan M, Kasih A. L. 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. 319hal.
- Depkes. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 1-11.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Gruèzo. 1997. *Buah-Buahan yang Dapat Dimakan*. Editor: Verheij E, W. M, Coronel R. E. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. 568hal.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Terbitan Kedua. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro.ITB : Bandung.
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan Alami*. Trubus Anggrisarana. Surabaya.
- Kassem, m. E.s., hashim, a. N., hassanein. H. M., 2013. Bioactivity of *antidesma bunius* leaves (euphorbiaceae) and their major phenolic constituents. Department of phytochemistry and plant systematics, national research centre, dokki, cairo, egypt.
- Lembaga Biologi Nasional. 1977. *Buah-Buahan*. Bogor: LIPI. 133hal.
- Norma, P. 2011. *Penelusuran Komponen Kimia Aktif Antioksidan Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.)*. Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia : Makassar.
- Noguchi N dan Niki E (1999). *Chemistry of Active Oxygen Species and Antioxidant*. Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. Edited by Papas A M. CRC Press Boca Roton, London, New York, Washington DC.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity* (Online). (<http://std.kku.ac.th/4831501524/%E0%B8%8A/07-DPPH.pdf>). Diakses 15 Desember 2013).
- Mishra, A. K. Sahu, N. Mishra, A. Ghosh, A. K. Jha, S. Chattopadhyay, P. 2010. *Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Essential Oil of Eucalyptus Leaf*. Central Facility of Instrumentation, IFTM Pharmacy College, Moradabad
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., Kirtikara, K. (2007). Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From *Garcinia* Plants. *Immunology & Medical Microbiology*, 51, 517–525.
- Wallace JL. 2005. *Nitric oxide as regulatory of inflammatory processes*. Am J Med Inst Cruz. 2005; 100: 5-9
- Winarsih H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisus.