ANALISIS METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BUAS-BUAS DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Recky Patala, Rambu Zuri Pramesti Rawambaku, Magfirah
Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu

Email : rambuzuripramesti@gmail.com

ABSTRACT

Buas-buas (Premna serratifolia L.) has antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and antidiabetic effects. This study aims to determine the compound content, the levels of secondary metabolites, and the antioxidant activity of headache tree leaves. UV-Vis spectrophotometer was used to analyze secondary metabolite levels and antioxidant assay using DPPH reagent. The results showed positive qualitative tests for secondary metabolites of alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. While for the phytochemical test using thin-layer chromatography confirmed positive results for alkaloids, flavonoids, and tannins.The quantitative test of the total content of alkaloids was 0.653% (equivalent to quinine), flavonoids 2.517% (equivalent to quercetin), saponins 6.717% (equivalent to sapogenins), and tannins 0.353%. The IC50 result for the antioxidant activity of buas-buas leaf extract was 83,08 µg/mL which is in the category of strong antioxidants.

Keywords: *Buas-buas leaves extract, secondary metabolite antioxidants.*

ABSTRAK

Buas-buas (*Premna serratifolia* L.) memiliki efek antioksidan, antiinflamasi, antimikroba dan antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dan kadar total metabolit sekunder serta mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun buas-buas. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk penentuan kadar total metabolit sekunder dan uji antioksidan menggunakan reagen DPPH. Hasil yang diperoleh untuk uji kualitatif positif mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, sedangkan uji senyawa penegasan fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis hasil positif mengandung alkaloid, flavonoid dan tanin. Kemudian untuk uji kuantitatif diperoleh kadar total alkaloid sebesar 0,653% (setara kuinin), flavonoid 2,517% (setara kuersetin), saponin 6,717% (setara dengan sapogenin), tanin 0,353%. Hasil IC50 untuk aktivitas antioksidan ekstrak daun buas-buas adalah 83,08 µg/mL yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Kata kunci : Ekstrak daun buas-buas, metabolit sekunder, antioksidan

PENDAHULUAN

Metabolit sekunder adalah molekul kecil yang bersifat spesifik memiliki struktur bervariasi, pada umumnya metabolit sekunder memiliki peran utama untuk pertahanan diri terhadap organisme lain. Metabolit sekunder terhubung dengan metabolisme primer dalam hal senyawa pembangun dan enzim dalam biosintesis. Hormon tumbuhan yang merupakan metabolit sekunder seringkali digunakan untuk mengatur aktivitas metabolisme sel dan pertumbuhan suatu tumbuhan. Berbeda dengan hewan, hasil metabolisme tumbuhan diakumulasi dalam bagian tertentu pada tumbuhan seperti vakuola, sel-sel atau kelenjar khusus yang diikuti dengan reaksi metabolisme (Hanani, 2017).

Reaksi metabolisme terdapat tahapan-tahapan yang melibatkan enzim yang disebut jalur biosintesis. Biosintesis digunakan dalam proses pembentukan senyawa bahan alam oleh makhluk hidup. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan berbeda pada setiap spesies tanaman, kandungan metabolit sekunder dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi diantaranya sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, dan antikoagulan darah. Ramuan obat yang diolah segar tentu saja memiliki khasiat lebih baik dibandingkan dengan yang sudah disimpan lama. Beberapa senyawa metabolit sekunder adalah alkaloid, terpenoid, steroid dan flavonoid (Botaha *et al*., 2020).

Daun buas-buas memiliki kandungan metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai obat-obatan. Tanaman ini berkhasiat sebagai penangkal radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari radikal bebas. Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang dapat mentransfer elektron dari suatu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi berantai yang menyebabkan kerusakan sel di Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang analisis senyawa metabolit sekunder daun buas-buas secara kualitatif dan kuantitatif dan uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan yang ada pada daun buas-buas agar dapat digunakan sebagai obat tradisional.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Ayakan mesh 40, autoklaf, batang pengaduk, blender,cawan porselin,

corong kaca, chamber, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, lempeng KLT, pipet tetes, pipet kapiler, rak tabung, rotary vakum evaporator, magnetik stirer, tabung reaksi, timbangan analitik, wadah maserasi, waterbath dan spektrofotometer Uv-vis.

Bahan

Aluminium foil, aqua pro injeksi, asam klorida, asam sulfat, aluminium klorida, anisaldehid, etanol 96%, buffer phosfat, BCG (Bromocresol green), simplisia daun buas buas (*Premna serratifolia* L.), diethyl-eter, etil asetat, $FeCl_3$ 1%, gas nitrogen, HCL 4N, H_2SO_4, kertas saring, kloroform, lempeng KLT, metanol, natrium asetat, natrium hidroksida, natrium karbonat, natrium nitrit, NaOH, pereaksi Dragendroff, pereaksi DPPH (Sigma-Aldrich), kuersertin, kuinin, reagen folin ciocnalteu, sapogenin, tanin acid dan tisu.

Pengambilan dan pengolahan bahan penelitian



Bahan yang digunakan adalah Daun Buas-buas (*Premna serratifolia* L.). Daun buas-buas dikumpulkan kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya dilakukan perajangan kemudian di keringkan dengan cara di angin-anginkan, tanpa terkena sinar matahari langsung hingga bahan tersebut mengering, setelah itu simplisia dihaluskan dan diayak.

Pembuatan ekstrak etanol daun buas-buas

Pembuatan ekstrak etanol daun buas-buas dilakukan dengan metode maserasi, yaitu simplisia daun buas buas yang telah dijadikan serbuk, kemudian diayak menggunakan mesh 40, ditimbang 1000 gram lalu diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L dibagi dalam 3 bejana dengan cara maserasi selama 3 x 24 jam terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh filtrat. Selanjutnya dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan *Rotary vaccum Evaporator* pada suhu 60^0C dan diperoleh ekstrak pekat kemudian diuapkan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60^0C hingga diperoleh ekstrak kental daun buas buas.

Analisis secara kualitatif dan kuantitatif

Analisis kualitatif kandungan kimia daun buas-buas, meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin. Pada uji penapisan fitokima alkaloid digunakan reagen Dragendroff, uji flavonoid digunakan pereaksi HCl dan magnesium, uji saponin dilakukan dengan dikocok dalam HCl 2N, dan uji tanin digunakan pereaksi FeCl3. Setelah itu, dilakukan analisis kuantitatif untuk penentuan kadar total senyawa metabolit sekunder alkaloid dengan

pembanding kuinin, flavonoid dengan pembanding kuesertin, saponin dengan pembanding sapogenin, dan tanin dengan pembanding asam tanat yang terkandung dalam ekstrak etanol daun buas-buas menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis.

Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis

Uji penegasan dengan KLT, dilakukan dengan menotolkan sampel pada fase diam (silica gel F_{254}) yang telah dipreparasi. Penotolan dilakukan sedikit demi sedikit hingga totolan cukup tebal. Pada Uji alkaloid menggunakan larutan fase gerak n-heksan:etil asetat dengan perbandingan (3:1) dengan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga pada bercak. Uji flavonoid menggunakan larutan fase gerak n-heksan:etil asetat dengan perbandingan (3:1) dengan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning pada bercak. Uji tanin menggunakan larutan fase gerak metanol:aquadest dengan perbandingan (6:4) dengan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau gelap/kehitaman pada bercak (Raihan *et al*., 2020).

Uji Aktivitas Antioksidan

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan campuran larutan DPPH dan sampel dalam seri konsentrasi. Campuran larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit sebelum diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517nm. Aktivitas antioksidan sampel dihitung dari nilai hambatan serapan larutan DPPH sebagai persentasi inhibisi :

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{Ao - Al}{Ao} \times 100\%$$

Keterangan : A_o = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Dan dari hubungan konsentrasi dan % inhibisi dibuat persamaan regresi untuk menentukan nilai IC_{50}. Persamaan regresi linear y= ax + b dimana :

y = % inhibisi

x = konsentrasi

Analisis Data

Data yang diperoleh pada identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis berupa spektrum dan panjang gelombang maksimum, setelah itu data yang didapat akan dianalisis dari absorbansi larutan pembanding dan dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linear y= a + bx dimana y= variabel respon atau variabel akibat (dependent), x= variabel predictor atau variabel factor penyebab (independent), a= konstanta, b= koefisien regresi (kemiringan) : besaran respons yang ditimbulkan oleh predictor. Analisis data untuk antioksidan dilakukan dengan menghitung persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi dari masing-masing absorbansi sampel, kemudian dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dengan

menggunakan persamaan regresi non linear.

y = % inhibisi
x = konsentrasi

Hasil Dan Pembahasan

Hasil

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Buas-buas

No	Kandungan kimia	Pereaksi	Hasil pengamatan	Keterangan
1	Alkaloid	Dragendroff	Endapan warna merah jingga	+
2	Flavonoid	HCl pekat dan logam Mg	Terbentuk endapan berwarna kuning	+
3	Saponin	Dikocok + HCl 2 N	Terbentuk buih	+
4	Tanin	$FeCl_3$	Terbentuk warna hijau kehitaman	+

Keterangan : (+) : Mengandung senyawa yang diuji; (-) : Tidak mengandung senyawa yang diuji

Tabel 2. Hasil Uji Penegasan Senyawa Fitokimia Kromatografi Lapis Tipis

No	Kandungan kimia	Pereaksi	Hasil pengamatan	Jarak ditempuh pelarut (cm)	Jarak ditempuh noda (cm)	Nilai *Rf* (cm)
1.	Alkaloid n-heksan: etil asetat (3:1)	Dragendrof	Warna Jingga pada bercak	6	0,6	0,1
2.	Flavonoid n-heksan : etil asetat (3:1)	$AlCl_3$	Warna Biru keunguan pada bercak	6	0,7	0,11
3.	Tanin Metanol : aquadest (6:4)	$Fecl_3$	Bercak kehitaman	6	3,5	0,58

Tabel 3. Hasil Uji Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Buas-buas

No	Parameter Uji	Hasil (%)	Persamaan Regresi
1.	Total Alkaloid Ekuivalen Kuinin	0,653	Y = 0,0483x + 0,0037 R^2 = 0,9971
2.	Total Flavonoid Ekuivalen Quercetin	2,517	Y = 0,0007x + 0,0114 R^2 = 0,996
3.	Saponin From Sapogenin	6,717	Y = 0,0004x + 0,0249 R^2 = 0,9986
4.	Total Tanin Ekuivalen Tannic Acid	0,353	Y = 0,0679x - 0,0479 R^2 = 0,9979

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Pembanding Kuesertin

Sampel Uji	Konsentrasi ppm	Absorban sampel	Absorban kontrol	% inhibisi	IC50 ppm
Replikasi 1	10	0,451	0,623	27,60	17,58
Kuersetin	15	0,357		42,69	
	20	0,252		59,55	
	25	0,175		71,91	
	30	0,122		80,41	
	35	0,001		99,83	
Rata-Rata ± SD		0,293		52,88	
		0,167		26,86	
Replikasi 2	10	0,452	0,623	27,44	17,38
Kuersetin	15	0,355		43,01	
	20	0,256		58,90	
	25	0,158		74,63	
	30	0,100		83,94	
	35	0,002		99,67	
Rata-Rata ± SD		0,220		64,60	
		0,152		20,53	
Replikasi 3	10	0,453	0,623	27,28	17,49
Kuersetin	15	0,358		42,53	
	20	0,255		59,06	
	25	0,158		74,63	
	30	0,113		81,86	
	35	0,006		99,03	
Rata-Rata ± SD		0,223		64,07	17,48
		0,150		24,12	

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan Pembanding Daun Buas-buas

Sampel Uji	Konsentrasi ppm	Absorban sampel	Absorban control	% inhibisi	IC50 ppm
Replikasi 1	40	0,525	0,623	15,73	
Daun Buas-buas	60	0,425		31,78	
	80	0,324		47,99	83,06
	100	0,216		65,32	
	120	0,114		81,70	
	140	0,067		89,24	
Rata-Rata ±		0,278 ±		55,29	
SD		0,163		26,21	
Replikasi 2	40	0,524	0,623	15,89	
Daun Buas-buas	60	0,426		31,62	
	80	0,324		47,99	83,05
	100	0,215		65,48	
	120	0,114		81,70	
	140	0,068		89,08	
Rata-Rata ±		0,278 ±		55,29	
SD		0,178		28,66	

Replikasi 3	40	0,525	0,623	15,73	
Daun Buas-buas	60	0,426		31,62	
	80	0,325		47,83	83,13
	100	0,215		65,48	
	120	0,115		81,54	
	140	0,067		89,24	
Rata-Rata ±		0,278 ±		55,24	83,08
SD		0,163		26,22	

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk dapat mengetahui penetapan metabolit sekunder (Uji kualitatif dan kuantitatif) dan uji antioksidan yang terdapat pada ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Penelitian ini menggunakan bahan uji daun buas-buas yang didapatkan di Kabupaten Poso Provinsi Sulawesi Tengah.

Ekstrak kental etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) yang diperoleh kemudian diidentifikasi secara kualitatif berupa uji penapisan fitokimia. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol buas-buas (*Premna serratifolia* L.). Setelah itu, dilakukan analisis kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui kadar total metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis (Joni Tandi dkk., 2020).

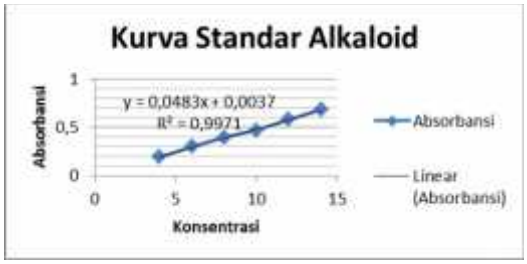
Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *1-1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil* (DPPH) dimana metode DPPH merupakan metode yang paling efektif dibandingkan dengan metode lain (Maesaroh dkk, 2018). Pembanding yang digunakan yaitu kuersetin dimana kuesertin merupakan antioksidan yang sangat kuat. Kuesertin bekerja dengan cara mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal, dimana elektron yang tidak berpasangan yang dihasilkan didelokalisasi oleh resonansi sehingga membuat senyawa kuersetin radikal memiliki energi yang sangat rendah untuk menjadi radikal yang reaktif (Nganggu, 2016).

Prinsip pengukuran antioksidan ini yaitu DPPH yang tidak memiliki elektron berpasang berwarna ungu berubah menjadi kuning saat molekul atom hidrogen dilepaskan oleh sampel sehingga terbentuk senyawa *dipheniyl picryl hidrazine*. Perubahan warna ini menyebabkan perubahan nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH saat menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai dari absorbansi ini dapat diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas

dinyatakan dengan nilai *ihibitory concentration* (IC_{50}) (Tristantini dkk, 2016).

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh hasil uji kualitatif ekstrak daun buas-buas positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin dengan menggunakan pereaksi yang sesuai.

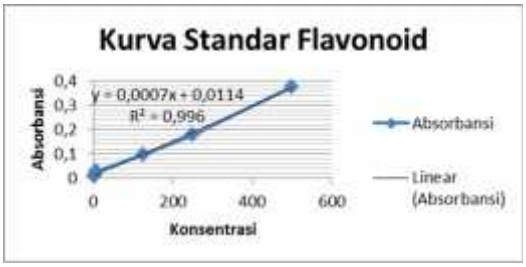
Penetapan kadar metabolit sekunder pada ekstrak daun buas-buas dilakukan analisis secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan menggunakan metode spektrofometri UV-Vis dapat dilihat pada hasil grafik persamaan regresi (gambar 1)



Gambar 1. Kurva Standar Alkaloid

Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Penentuan kadar total alkaloid diperoleh dari persamaan regresi y=0,0483x+0,0037 dan koefesien korelasi R^2= 0,9971. Berdasarkan persamaan regresi tersebut dilakukan perhitungan kadar total alkaloid pada setiap sampel dengan tiga kali replikasi, sehingga diperoleh presentase kadar total alkaloid ekuivalen kuinin untuk ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) adalah 0,653%. Alkaloid banyak dimanfaatkan manusia dalam pembuatan obat-obatan, fungsi alkaloid sendiri dalam tumbuhan sebagai pelindung tumbuhan dari serangan hama dan penyakit, dan pengatur tumbuh. Alkaloid berpotensi sebagai pestisida yang toksisitasnya rendah (Trisnawati, 2018).

Penentuan kadar total flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dapat dilihat pada hasil grafik persamaan regresi (gambar 2)

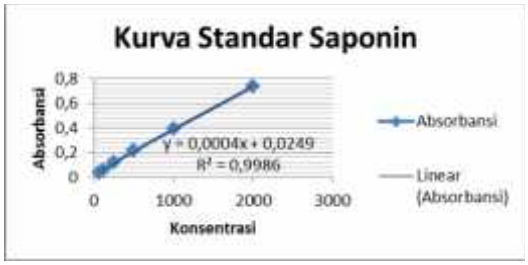


Gambar 2. Kurva Standar Flavonoid

Penetapan kadar total flavonoid diperoleh persamaan regresi y=0.0007x+0.0114 dan koefisien korelasi R^2=0.996. Berdasarkan persamaan regresi tersebut dilakukan perhitungan kadar flavonoid total pada setiap sampel dengan tiga kali replikasi. Hasil rata-rata kadar total flavonoid sebesar 2,517%. Flavonoid memiliki senyawa penting yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Senyawa ini memiliki efek sebagai pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, antipendarahan, obat

penenang, obat penyakit jantung, antidiabetes, obat luka, dan penekan kerja syaraf (Azmin, *et al*, 2019).

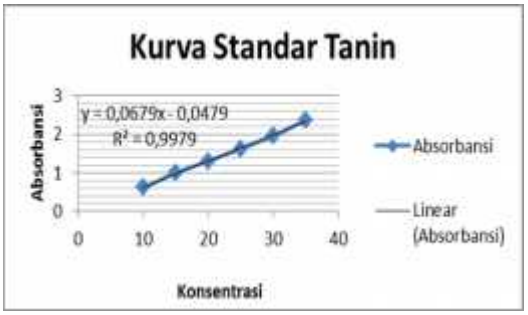
Penentuan kadar total saponin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Dapat dilihat pada hasil grafik persamaan regresi (gambar 3)



Gambar 3. Kurva Standar Saponin

Penentuan kadar total saponin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Penentuan kadar total saponin diperoleh persamaan y=0,0004x+0,0249 dan koefisien korelasi R^2=0,9986. Berdasarkan persamaan regresi tersebut, dilakukan pada setiap sampel dengan tiga kali replikasi, sehingga diperoleh kadar total saponin dengan hasil sebesar 6,717%. Saponin memiliki aktivitas antifungi. Mekanisme kerja sebagai antifungi dengan cara menurunkan tegangan permukaan jamur sehingga dapat mengakibatkan peningkatan permeabilitas sel yang dapat menyebabkan kebocoran sel dan senyawa intraseluler di dalam sel keluar. Saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecahkan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel (Azmin, *et al*, 2019).

Penentuan kadar total tanin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Dapat dilihat pada hasil grafik persamaan regresi (gambar 4)



Gambar 4. Kurva Standar Tanin

Penetapan kadar total tanin diperoleh persamaan regresi yaitu y=0.0679x-0.0479 dan koefisien korelasi R^2=0.9979. Berdasarkan persamaan regresi tersebut dilakukan perhitungan kadar total tanin pada setiap sampel dengan tiga kali replikasi, sehingga diperoleh rata-rata kadar total tanin sebesar 0.353%. Manfaat tanin dalam kesehatan yaitu sebagai astringen, anti diare, antibakteri. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. (Fathurrahman dkk., 2018).

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *1-1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil* (DPPH) dimana metode DPPH merupakan metode yang

paling efektif dibandingkan dengan metode lain (Maesaroh dkk, 2018). Pembanding yang digunakan yaitu kuersetin dimana kuesertin merupakan antioksidan yang sangat kuat. Kuesertin bekerja dengan cara mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal, dimana elektron yang tidak berpasangan yang dihasilkan didelokalisasi oleh resonansi sehingga membuat senyawa kuersetin radikal memiliki energi yang sangat rendah untuk menjadi radikal yang reaktif (Nganggu, 2016).

Pengujian aktivitas antioksidan dengan membuat larutan DPPH kemudian membuat larutan induk kuesertin konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan pembanding dan pengukuran absorbansi ekstrak daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) menggunakan spektrofotometer UV-Vis, pengukuran ini dilakukan pada panjang gelombang 516,995 nm yang sebelumnya telah dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum antara 400-600nm. Panjang gelombang maksimum pada umumnya yaitu 517 nm, hasil yang diperoleh yaitu panjang gelombang 516,995 nm perbedaan selisih panjang gelombang maksimum ini dikarenakan panjang gelombang maksimum dapat mengalami perubahan diakibatkan oleh perbedaan kondisi percobaan yang dilakukan berupa perbedaan pelarut, waktu pengukuran maupun individu yang melakukan (Arifin dkk., 2018).

Prinsip pengukuran antioksidan ini yaitu DPPH yang tidak memiliki elektron berpasang berwarna ungu berubah menjadi kuning saat molekul atom hidrogen dilepaskan oleh sampel sehingga terbentuk senyawa *dipheniyl picryl hidrazine*. Perubahan warna ini menyebabkan perubahan nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH saat menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai dari absorbansi ini dapat diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas dinyatakan dengan nilai *ihibitory concentration* (IC_{50}) (Tristantini dkk, 2016).

Nilai IC_{50} merupakan besarnya konsentasi senyawa yang diuji dapat merendam radikal bebas sebanyak 50%. Persentasi penghambat radikal bebas (% inhibisi) dapat dihitung dari nilai absorbansi yang diperoleh. Kemudian dibuat persamaan regresi linear Y=bx+a dimana konsentrasi sebagai sumbu x dan absorbansi sebagai sumbu y. Nilai IC_{50} didapatkan dari persamaan regresi linear yang diperoleh dengan mengganti sumbu y dengan 50 (Purwanto dkk, 2017).

Berdasarkan tabel 4.4 diperoleh hasil nilai rata-rata IC_{50} kuesertin yaitu 17,48 ppm yang dimana tergolong antioksidan sangat kuat. Sedangkan

ekstrak daun buas-buas memiliki rata-rata nilai IC_{50} 56,53 ppm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} pembanding kuesertin sangat kuat dari nilai IC_{50} ekstrak daun buas-buas. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila memiliki nilai IC_{50} <50 µg/ml, kuat apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 µg/ml, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 µg/ml, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar 250-500 µg/ml, dan tidak aktif apabila nilai IC_{50} diatas 500 µg/ml (Handayani *et al*., 2020).

Berdasarkan dari hasil penelitian ini senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan pada ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) adalah saponin dan flavonoid. Dimana saponin mampu meredam superoksidasi melalui pembentukan intermediet hidroperoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas (Ali, *et al*., 2012). Sedangkan flavonoid yang merupakan senyawa polifenol yang mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi (Yuhermita dkk., 2011).

Hasil perbandingan dengan penelitian sebelumnya pada ekstrak buah buas-buas (*Premna serratifolia* L.) mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 36,15 µg/mL, pada penelitian lainnya menunjukkan bahwa batang buas-buas (*Premna serratifolia* L.) memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} sebesar155 µg/mL dan penelitian lainnya yang dilakukan oleh Puspita, 2020 pada daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) didapatkan nilai IC_{50} sebesar 20,66 µg/mL yang dikategorikan antioksidan sangat kuat. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Rambu, 2022 pada daun buas-buas didapatkan hasil IC_{50} sebesar 83,08 µg/mL yang dikatakan sebagai antioksidan kuat.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) pada uji penapisan fitokimia positif mengandung senyawa metabolit sekunder yang meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.
2. Kadar total senyawa alkaloid dengan parameter uji (ekuivalen kuinin) sebesar 0,653%, flavonoid dengan parameter uji (ekuivalen kuersetin) sebesar 2,517%, saponin dengan parameter uji (ekuivalen sapogenin) kuantitatif sebesar 6,717%, dan tanin

dengan parameter uji (ekuivalen asam tanat) sebesar 0,353%.

3. Ekstrak etanol daun buas-buas *(Premna serratifolia* L.*)* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 83,08 $\mu g/ml$ termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

SARAN

Diharapkan agar peneliti selanjutnya dapat melakukan pengujian antioksidan dengan metode yang berbeda dan dibuat dalam bentuk sediaan formulasi sebagai pengembangan sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA.

Azmin, N., Rahmawati, A., dan Hidayatullah, M. E. (2019). Uji Kandungan fitokimia dan Etnobotani Tumbuhan Obat Tradisional Berbasis Pengetahuan Lokal di Kecematan Lambitu Kabupaten Bima. *Florea : Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, *6*(2), 101.

Ali Ahmad, R., *et al*., 2012. *Study of antioxidant activity with reduction of free radical DPPH and xanthine oxidase inhibitor of the extract ruellia tuberosa Linn Leaf*. International Research Journal of Pharmacy, 3: (27-29)

Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah,* 6(1), 21-29.

Fathurrahman, Reshka, N., & Ida, M. (2018). Artikel Tinjauan: Teknik Analisis Instrumentasi Senyawa Tanin. *Far*, *16*(2), 449–456.

Handayani, S., Kurniawati, I., dan Abdul Rasyid, F. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (Ficus Elastica) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, *6*(1), 141

Hanani, E. (2017). Analisis Fitokimia. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.

Joni Tandi, Bella Melinda, Anita Purwantari, & Agustinus Widodo. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (Abelmoschus esculentus L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, *6*(1), 74–80. https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i1.15044

Maesaroh, K., Kurnia, D. dan Jamaludin al anshori (2018) 'Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin', 6(2), pp. 93–100.

Nganggu, Y. Pura Hama. (2016). *Uji Akitivitas Antioksidan Menggunakan Metode Radikal Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Benalu Scurrula Ferruginea (Jack) Danser Pada Tanaman Tabebuia Aurea (Manso) Benth. & Hook.*

Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea Blume.)* Dengan Berbagai Pelarut. 3(April). 24-32

Raihan, M., Taqwa, N., Hanifah. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) dan Aktifitas Antioksidannya Terhadap [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] (ABTS). Majalah Farmasi dan Farmakologi. 23 (3): 101-105

Trisnawati ade, 2018 "Uji Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Kulit Sawo Matang Dan Buah Sawo Muda (Manikars zapota)" seminar nasional kimia : hal. 92-103

Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., dan Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (Mimusops Elengi L). *Universitas Indonesia*.

Yuhernita & Juniarti. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Sains* 15(1); 48-52