

# Analisis *In Vitro* Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton dari Ranting *Horsfieldia macrothyrsa* Menggunakan Beragam Metode

## *In Vitro* Analysis of Antioxidant Activity of *Horsfieldia macrothyrsa* Twig Acetone Extract Using Various Methods

NUR ASNAH<sup>1</sup>, MEGAWATI MEGAWATI<sup>2\*</sup>, HESTY PARBUNTARI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Organisasi Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Serpong 15341, Indonesia

Diterima 2 Maret 2024/Diterima dalam Bentuk Revisi 20 Maret 2024/Disetujui 23 Maret 2024

*Horsfieldia macrothyrsa* (Miq) Warb. is a plant that contains secondary metabolite compounds that can act as antioxidants. This research aims to determine the antioxidant potential of the acetone extract of the *H. macrothyrsa* plant by looking at the IC<sub>50</sub> value. Twigs of the *H. macrothyrsa* plant were extracted using the maceration method using acetone solvent. The results of the antioxidant activity test using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method showed very strong antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 6.348 µg/ml whereas the IC<sub>50</sub> value of the standard antioxidant quercetin is and quercetin 1.261 µg/ml. In antioxidant testing using the ABTS (2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) method, an IC<sub>50</sub> value of 12,772 µg/ml was obtained and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) obtained an IC<sub>50</sub> value of 7,511 µg/ml. Based on the results, it can be concluded that the acetone extract of *H. macrothyrsa* plant twigs has very strong antioxidant activity towards reducing DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) compared to using the ABTS and FRAP methods.

Key words: ABTS, antioxidant, DPPH, FRAP, *H. macrothyrsa*

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati, dan sebagian besar tersebar di kawasan hutan tropis Indonesia. Masyarakat setempat umumnya memanfaatkan tumbuhan sebagai pengganti obat modern untuk mengobati berbagai macam penyakit. Tumbuhan yang ada di Indonesia umumnya juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder dimana diantaranya berfungsi sebagai antioksidan (Ibroham *et al.* 2022).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat proses oksidasi dari radikal bebas. Mekanisme kerja senyawa antioksidan adalah mendonorkan atom hidrogen atau proton pada senyawa radikal sehingga dapat melengkapi kekurangan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Hal ini dapat menjadikan senyawa radikal lebih stabil (Faisal 2019).

Pengujian aktivitas antioksidan diperlukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam suatu sampel.

Berbagai metode pengukuran aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk mengetahui karakteristik dari antioksidan pada sampel, sehingga dapat diketahui mekanisme kerja dari setiap antioksidan. Metode pengujian yang biasanya paling sering digunakan yaitu DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Aryanti *et al.* 2021).

Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning (Irianti *et al.* 2017). Mekanisme reaksinya disajikan pada Gambar 1.

Metode ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan dengan melihat kemampuannya dalam membentuk kation radikal ABTS ditandai dengan perubahan warna dari biru kehijauan menjadi tidak berwarna serta dapat diamati pada panjang gelombang 743 nm (Irianti *et al.* 2017). Mekanisme reaksinya disajikan pada Gambar 2.

\*Penulis korespondensi:

E-mail: megarafandi@gmail.com

Metode Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang didasarkan pada kemampuan dalam mereduksi ferri-tripyridyl-triazine (Fe (III)TPTZ) menjadi kompleks ferro-tripyridyl-triazine (Fe (II) TPTZ). Proses reduksi ini akan membentuk kompleks warna biru yang menandakan adanya aktivitas antioksidan pada sampel dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 593 nm (Irianti *et al.* 2017). Mekanisme reaksinya disajikan pada Gambar 3.

*Horsfieldia* adalah salah satu tanaman yang berasal dari family Myricaceae. *Horsfieldia* yang paling banyak ditemukan mengandung metabolit sekunder golongan lignan, poliketida, isoflavan, flavan, kalkon, terpenoid dan alkaloid (Megawati *et al.* 2023). Tanaman ini banyak digunakan sebagai obat-obatan, bahan baku industri makanan dan kosmetik. Menurut (Minarti *et al.* 2023) ekstrak etil asetat dari kulit batang *Horsfieldia* genus *spicata* mempunyai

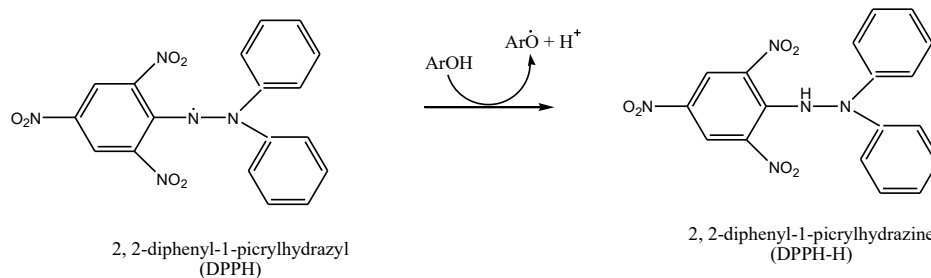
aktivitas anti oksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 23,53  $\mu\text{g/ml}$ .

Meskipun sudah pernah dilaporkan mengenai aktivitas antioksidan dari genus *Horsfieldia*, akan tetapi penelitian tentang aktivitas antioksidan terhadap species *Horsfieldia macrothrysa* (Miq.) Warb yang berfokus pada bagian rantingnya belum pernah dilaporkan.

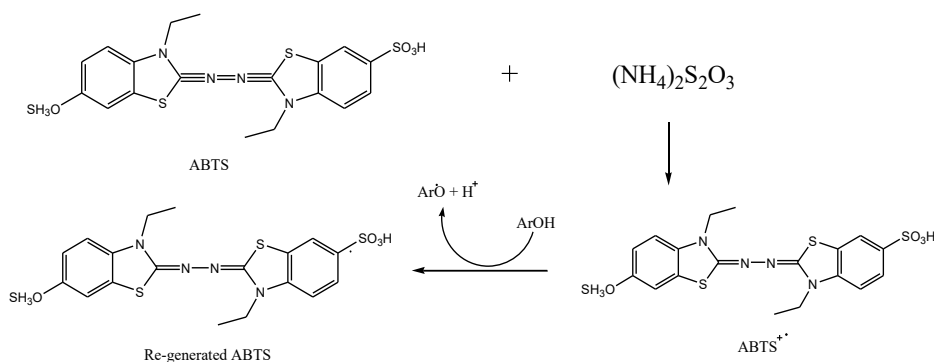
Sehubungan dengan hal tersebut, maka dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak *n*-hexan, etil asetat, dan butanol dari ranting *H. macrothrysa* (Miq.) Warb. Pengujian tersebut dilakukan dengan tiga metode yaitu metode DPPH, ABTS dan FRAP.

## BAHAN DAN METODE

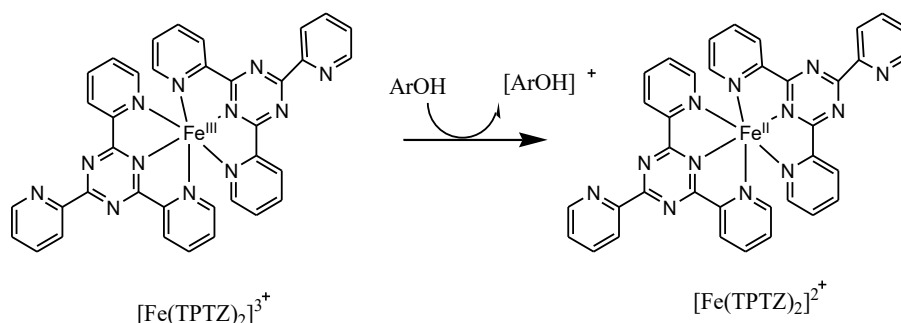
**Bahan.** Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ranting tanaman *Horsfieldia macrothrysa* (Miq.) Warb yang dideterminasi dengan no.130-130a



Gambar 1. Mekanisme reaksi DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil)



Gambar 2. Mekanisme reaksi ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)



Gambar 3. Mekanisme reaksi Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

(B-245/II.6.2/IR.01.02/3/2023) di laboratorium Herbarium Bogoriense (BO), Cibinong- BRIN.

Bahan lain yang digunakan adalah larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), larutan 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat (ABTS), reagen *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), quercetin, trolox, *methanol*, aseton, HCl 2N, aquades, reagen Mayer, Bouchard, Dragendrof, etanol, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub> 1%, kloroform, anhidra asetat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pa.

### Prosedur Kerja.

**Preparasi Sampel.** Ranting tanaman *H. macrothyrsa* (Miq.) Warb di cuci dan dirajang halus, kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 50°C selama 150 menit. Setelah kering, ranting dihaluskan dengan alat penghalus.

**Ekstraksi Sampel.** Sebanyak 229,0 gr ranting tanaman *H. macrothyrsa* dimeserasi dengan menggunakan pelarut aseton selama 3 × 24 jam. Setiap hari, hasil ekstrak diambil dan diganti dengan pelarut yang baru menggunakan pelarut 1,5 L. Hasil ekstrak yang didapatkan dari proses meserasi disaring dengan menggunakan kapas dan diambil filtratnya. Filtrat tersebut dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 45-50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental aseton.

**Penapisan Fitokimia.** Penapisan fitokimia dilakukan pada beberapa target golongan senyawa mengacu pada Sulistyarini *et al.* (2019):

**Alkaloid.** Sebanyak 250 mg ekstrak sampel ditambahkan dengan (0,5 ml HCl 2N dan 4,5 ml aquades) dipanaskan selama 2 menit, dan didinginkan setelah itu disaring. Masing-masing 1 ml filtrat ditambahkan 2 tetes reagen Mayer, Bouchard, dan Dragendrof.

**Flavonoid.** Sebanyak 4 mg ekstrak sampel ditambahkan dengan 2 ml etanol dan 0,5 gr serbuk Mg, didiamkan selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 5 tetes HCl pekat.

**Tanin.** Sebanyak 5 mg ekstrak sampel ditambahkan dengan 10 ml air. Kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Disaring filtrate dan tambahkan beberapa tetes FeCl<sub>3</sub> 1%.

**Saponin.** Sebanyak 250 mg ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih hingga 10 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang.

**Terpenoid.** Sebanyak 4 mg sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform, kemudian ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat.

### Uji Aktivitas Antioksidan.

**Metode DPPH.** Quercetin digunakan sebagai larutan standar. Quercetin ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam 1.000 µL methanol hingga diperoleh konsentrasi 1.000 ppm. Variasi konsentrasi yang digunakan (50, 25, 20, 15, 10, 5, 2,5, dan 1 ppm). Sejumlah masing-masing larutan standar (125, 62,5, 50, 37,5, 25, 12,5, 6,25, dan 2,5 µl) ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi metanol. Sampel uji dengan konsentrasi 1.000 ppm dibuat dengan cara melarutkan 4 mg sampel dalam 4 ml methanol, kemudian dibuat variasi konsentrasi (100, 50, 25, 10, 5, dan 2,5 ppm). Sejumlah masing-masing larutan ekstrak sampel dari aseton (250, 125, 62,5, 25, 12,5, dan 6,25 µL) ke dalam tabung reaksi yang telah berisi metanol. Setelah itu semua larutan sampel, dan larutan standar ditambahkan 500 µL larutan DPPH, kemudian dikocok sampai homogen. Blanko berisi larutan metanol sebanyak 2.000 µL ditambah 500 µL larutan 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Larutan sampel uji, standar dan blanko, kemudian di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Yen *et al.* 1995) (Fajriah *et al.* 2023).

**Metode ABTS.** Trolox digunakan sebagai larutan standar. Trolox ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dalam 1.000 µL metanol hingga diperoleh konsentrasi 1.000 ppm. Variasi konsentrasi yang digunakan adalah (5; 3,75; 2,5; 1,25 dan 0,625 ppm). Sejumlah larutan standar Trolox sebanyak (50; 37,5; 25; 12,5 dan 6,25 µL) kedalam tabung reaksi yang telah berisi metanol. Setelah itu Ekstrak aseton ditimbang sebanyak 2 mg, kemudian dilarutkan dalam 2.000 µL metanol hingga diperoleh konsentrasi 1.000 ppm. Semua larutan ekstrak aseton sebanyak (25; 12,5; 6,25 dan 3,125 µL). Setelah itu semua larutan sampel, dan larutan standar ditambahkan dengan 1 ml ABTS, kemudian dikocok sampai homogen. Blanko berisi larutan metanol sebanyak 2.000 µl ditambah 1 ml ABTS. Larutan sampel uji, standar dan blanko, diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit di ruang gelap sebelum dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm (Hosain *et al.* 2014).

**Metode FRAP.** Trolox digunakan sebagai larutan standar. Trolox ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dalam 1.000 µL methanol hingga diperoleh konsentrasi 1.000 ppm. konsentrasi yang digunakan (310; 155; 77,5; 31 dan 15,5 ppm). Setelah itu Ekstrak aseton ditimbang sebanyak 6 mg, kemudian dilarutkan dalam 1.000 µL metanol. Variasi konsentrasi sampel yang digunakan adalah variasi konsentrasi dari larutan standar dikali 10. Masing-masing larutan dari ekstrak aseton dan trolox yang diencerkan secara bertingkat sebanyak 40 µL kedalam tabung reaksi yang telah

berisi 1.200  $\mu\text{L}$  reagen FRAP. Blanko berisi larutan metanol sebanyak 40  $\mu\text{L}$  ditambah 1.200  $\mu\text{L}$  reagen FRAP. Larutan sampel uji, standar dan blanko, dinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  593 nm (Ahmed *et al.* 2012).

## HASIL

**Ekstraksi.** Ranting tanaman *H. macrothyrsa* yang telah dimeserasi dengan pelarut aseton dihitung rendemen ekstraknya dengan persamaan sebagai berikut yang disajikan pada Tabel 1.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

**Uji Fitokimia.** Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kental aseton ranting tanaman *H. macrothyrsa* dapat diketahui jenis metabolit sekunder yang terkandung ekstrak kental aseton ranting tanaman *H. macrothyrsa* seperti ditunjukkan Tabel 2.

### Uji Antioksidan.

**Metode DPPH.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dapat ditunjukkan pada Tabel 3.

**Metode ABTS.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ABTS ditunjukkan pada Tabel 4.

**Metode FRAP.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode FRAP ditunjukkan pada Tabel 5.

## PEMBAHASAN

**Ekstraksi.** Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan yang dilakukan untuk mengambil zat-zat yang terkandung dalam suatu campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode pemisahan ini bekerja berdasarkan prinsip kelarutan like dissolve like, yaitu pelarut polar akan melarutkan zat polar, dan sebaliknya. Pada penelitian ini metode ekstraksi yang

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa*

Pelarut	Berat ekstrak kental (gr)	Berat simplisia (gr)	Rendemen (%)
Aseton	22,7	229,0	9,91

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa*

Sampel	Uji fitokimia						
	Alkaloid			Flavonoid	Terpenoid	Tanin	Saponin
	MY	DG	BD				
HMR Ekstrak Aseton	-	-	-	+	+++	-	+++

(+): Mengandung metabolit sekunder, (-): tidak mengandung metabolit sekunder

digunakan yaitu metode maserasi dengan menggunakan pelarut aseton. Pemilihan metode maserasi pada penelitian ini karena metode ini mudah dilakukan dan tidak memerlukan alat khusus. Berdasarkan dari hasil proses meserasi yang dilakukan terhadap ranting tanaman *H. macrothyrsa* diperoleh ekstrak kental 22,7 gr dengan rendemen sebesar 9,91 %.

**Uji Fitokimia.** *H. macrothyrsa* merupakan salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini dikarenakan beragamnya senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Analisis fitokimia pada kulit ekstrak kental aseton ranting tanaman *H. macrothyrsa* meliputi alkaloid, flavonoid,

Tabel 3. Hasil uji antioksidan ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa* metode DPPH

Sampel	Konsentrasi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub>
Standar quercetin	10	92,0332	1.531±0.19
	5	68,5915	
	2,5	56,3846	
	1	46,2174	
HMR aseton	25	72,0868	6,335±0.30
	10	53,9242	
	5	49,4485	
	2,5	44,7836	

Tabel 4. Hasil uji antioksidan ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa* metode ABTS

Sampel	Konsentrasi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub>
Trolox	2,5	72,7782	1.763±0.10
	1,875	56,4159	
	1,25	38,4709	
	0,625	25,5418	
	0,3125	13,3187	
HMR acetone	25	80,0341	14.162±1.21
	12,5	44,0711	
	6,25	40,6379	
Sampel	3,125	35,1108	

Tabel 5. Hasil uji antioksidan ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa* metode FRAP

Sampel	Konsentrasi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub>
Trolox	10	92,3592	0.201±0,07
	5	89,9907	
	2,5	83,9264	
	1	74,0698	
	0,5	60,6580	
HMR aseton	25	79,1521	8.033±0.56
	10	64,6986	
	5	37,7534	
Sampel	2,5	13,3486	

terpenoid, tanin dan saponin. Pemeriksaan fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder yang ada dalam ekstrak. Berdasarkan dari hasil pemeriksaan golongan senyawa metabolit sekunder yang dilakukan, menunjukkan bahwa ekstrak kental aseton ranting tanaman *H. macrothyrsa* mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpenoid dan saponin.

Penambahan serbuk magnesium dan asam klorida pada Uji flavonoid akan menyebabkan berkurangnya senyawa flavonoid yang ada akibat reduksi sehingga menimbulkan reaksi berwarna merah dan kuning yang merupakan ciri khas dari flavonoid. Pada pengujian flavonoid hasilnya sedikit positif karena terjadi sedikit perubahan warna larutan menjadi kuning.

Uji fitokimia terpenoid diperoleh dari pengujian ekstrak kental aseton ranting tanaman *H. macrothyrsa* menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna yang ditandai perubahan warna ungu, dan terbentuknya cincin coklat pada larutan yang menunjukkan adanya kandungan terpenoid.

Uji saponin, penampakan busa pada uji saponin membuktikan adanya glikosida yang mampu menghasilkan busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Saponin mengandung glikosil sebagai gugus polar. Jika dikocok kuat-kuat dengan air, saponin akan membentuk miscellanea. Pada miscellanea, gugus polar menghadap ke luar dan gugus nonpolar menghadap ke dalam. Pada pengujian saponin hasilnya positif karena setelah dikocok busanya sangat banyak.

**Uji Antioksidan.** Pada penelitian ini, uji aktivitas antioksidan pada ekstrak aseton ranting tanaman *H. macrothyrsa* dilakukan dengan tiga metode yaitu metode pengujian menggunakan DPPH, ABTS dan FRAP.

**Metode DPPH.** Proses pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada kemampuannya dalam merendam aktivitas radikal DPPH. DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk DPPH Hidrazin yang lebih stabil. Pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dilakukan pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan.

Pengamatan terhadap intensitas warna pada penelitian ini dilakukan pada konsentrasi ekstrak ranting yang berbeda-beda yaitu 25; 10; 5 dan 2,5 yang bertujuan untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH. Semakin banyak senyawa antioksidan

akan menyebabkan semakin besar pula peredaman warna ungu dari DPPH sehingga nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil. Peredaman tersebut dihasilkan dari bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Aktivitas antioksidan penangkap radikal dapat diketahui melalui penurunan serapan tersebut (Rahman *et al.* 2014). Demikian pula dengan perbandingan yaitu quercetin yang memiliki nilai absorbansi yang lebih kecil dibandingkan nilai absorbansi ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa*. hal ini dikarenakan quercetin merupakan senyawa antioksidan kuat, sehingga nilai absorbansi yang diperoleh juga semakin kecil seiring dengan bertambahnya konsentrasi quercetin.

Berdasarkan hasil pengujian yang dapat dilihat pada Tabel 3, nilai  $IC_{50}$  ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa* sebesar 6,348  $\mu\text{g/ml}$  dan quercetin 1,261  $\mu\text{g/ml}$ .  $IC_{50}$  merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan kuat lemahnya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan memiliki antioksidan yang sangat kuat jika nilai  $IC_{50}$  adalah  $>50$  ppm, aktivitas antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sekitar 50-100 ppm, antioksidan sedang jika  $IC_{50}$  bernilai 100-150 ppm dan aktivitas antioksidan lemah jika  $IC_{50}$  bernilai 151-200 ppm. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dapat dijelaskan pula bahwa quercetin sebagai perbandingan atau kontrol positif termasuk antioksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak *H. macrothyrsa* yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini. Pada pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH ini menunjukkan bahwa ekstrak aseton ranting *H. macrothyrsa* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  mendekati quercetin. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka aktivitas antioksidan semakin kuat (Megawati *et al.* 2017).

**Metode ABTS.** Proses pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS didasarkan pada generasi dari  $ABTS^{\cdot+}$  biru/hijau yang dapat direduksi oleh antioksidan. Pada uji  $ABTS^{\cdot+}$ , terjadi transfer elektron yang akan mencapai titik akhir yang mana senyawa antioksidan yang berbeda menyumbangkan satu atau dua elektron untuk mengurangi kation radikal. Dalam hal ini terjadi oksidasi radikal yang mana intensitas warna berkurang karena direduksi oleh molekul ABTS dan terjadi perubahan warna menjadi hijau-biru. Antioksidan menekan pembentukan warna karena terjadi reduksi  $ABTS^{\cdot+}$  sehingga terjadi penurunan absorbansi. Uji aktivitas antioksidan ABTS diukur pada panjang gelombang 734 nm dan operating time adalah 2 jam dalam kondisi gelap pada suhu

kamar. Pada operating time tersebut terjadi serapan optimal yang ditandai perubahan warna larutan dari biru menjadi bening (Herlina Nasir *et al.* 2021).

Pengujian dilakukan pada larutan sampel dan pembanding trolox yang sudah terbukti memiliki kemampuan yang tinggi sebagai antioksidan (penangkap radikal ABTS). Aktivitas penangkap radikal bebas ABTS juga ditentukan berdasarkan parameter inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ). Semakin kuat aktivitas penangkapan radikal ABTS yang diberikan suatu sampel maka akan menghasilkan nilai  $IC_{50}$  semakin kecil. Berdasarkan hasil pada Tabel 4, diperoleh nilai  $IC_{50}$  untuk ekstrak aseton ranting *H. macrothrysa* sebesar 12,772  $\mu\text{g/ml}$  dan trolox 1,763  $\mu\text{g/ml}$ .

**Metode FRAP.** Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dilakukan dengan mencampurkan reagen FRAP dengan ekstrak aseton ranting tanaman *H. macrothrysa*. Dalam reagen FRAP terdapat campuran ortho fenantrolin,  $\text{FeCl}_3$  dan buffer asetat. Prinsip metode FRAP adalah reaksi transfer elektron dari antioksidan ke senyawa ferri-tripiryridyltriazine ( $\text{Fe(III)TPTZ}^{3+}$ ) membentuk ( $\text{Fe(II)TPTZ}^{2+}$ ). Antioksidan dalam sampel akan mereduksi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  dengan memberikan sebuah elektron. TPTZ sendiri adalah colorants dan  $\text{Fe(III)}$  merupakan radikal bebas. Proses pengujian dilakukan pada pH asam (Indriyah *et al.* 2023). Berdasarkan hasil pada Tabel 5, diperoleh nilai  $IC_{50}$  untuk ekstrak aseton ranting *H. macrothrysa* sebesar 7,551  $\mu\text{g/ml}$  dan trolox 0,217  $\mu\text{g/ml}$ .

Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan metode yang berbeda mempengaruhi nilai  $IC_{50}$ , nilai  $IC_{50}$  ekstrak aseton ranting tanaman *H. macrothrysa* menggunakan metode DPPH jauh berbeda dengan nilai  $IC_{50}$  menggunakan metode ABTS maupun dengan menggunakan metode FRAP, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan masing-masing standar yang digunakan. Kemampuan aktivitas antioksidan suatu sampel dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu penggunaan metode yang berbeda, tempat pengambilan sampel, metode ekstraksi yang digunakan dan lama waktu ekstraksi.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Organisasi Riset Kesehatan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui skema pendanaan rumah

program Purwarupa Bahan Baku Obat Terapi Terarah, tahun 2024.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aryanti R, Perdana F, Syamsudin RAMR. 2021. Telaah metode pengujian aktivitas antioksidan pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika* 7:15–24.
- Ahmed D, Zara S, Baig H. 2012. *In vitro* analysis of antioxidant activities of *Oxalis corniculata* Linn. fractions in various solvents. *J Afr Tradit Complement Altern Med* 10:158-165.
- Faisal H. 2019. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan metode ABTS. *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life* 2:1–5.
- Fajriah S, Hariyanti H, Susilo E, Megawati M. 2023. Isolation and antioxidant assay of artonol A from the bark of *Artocarpus elasticus* Reinw ex blume. *AIP Conf Proc* 2902: 060025 <https://doi.org/10.1063/5.0173190>
- Herlina Nasir N, Artikel I, Pusmarani J. 2021. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanolik daging buah semangka (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai) dengan metode ABTS dan FRAP. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia* 7, 224. [www.jurnal-pharmaconmw.com/jmpi](http://www.jurnal-pharmaconmw.com/jmpi)
- Hossain H, Proity NA, Shaikh ER, Sabina Y, Tanzir AK, Mahfuzur R, Ismet AJ. 2014. HPLC profiling and antioxidant properties of the ethanol extract of *Hibiscus tiliaceus* leaf available in Bangladesh European. *J Medicinal Plants* 7:7-15. DOI:10.9734/EJMP/2015/14720
- Ibroham MH, Jamilatun S, Kumalasari ID. 2022. A review: potensi tumbuhan-tumbuhan di Indonesia sebagai antioksidan alami. *Seminar Nasional Penelitian* 2022:1–13. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>.
- Indriyah SN, Permatasari DAI, Pratama KJ. 2023. Penetapan kadar fenolik serta uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi batang bajakah kalalawit (*Uncaria gambir* Roxb) dengan metode FRAP. *Usada Nusantara: Jurnal Kesehatan Tradisional* 1: 147–158. <https://doi.org/10.47861/usd.v1i2.347>
- Irianti TT, Kuswandi, Nuranto S, Purwanto. 2017. Antioksidan. Yogyakarta: UGM Press.
- Megawati M, Rahmita A, Hariyanti H, Fajriah S. 2017. Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Koordersiodendron pinnatum* Merr. bark extracts. *AIP Conf Proc* 2493:070010.
- Megawati M, Ariani N, Minarti M, Darmawan A, Prastya ME. 2023. Investigations of antibacterial, antioxidant, and antidiabetic potential of extract and its active fractions from the leaves of *Horsfieldia spicata* (Roxb.) J. Sinclair. *Chemistry & Biodiversity* 20:e202300113 <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300113>
- Minarti M, Ariani N, Prastya ME, Darmawan A, Megawati M. 2023. Antioxidant and antibacterial properties derived from *Horsfieldia spicata* (Roxb.) J. Sinclair stem bark extract and its active fraction. ICHR 2022 AHSR Proceedings of the 1st International Conference for Health Research – BRIN (ICHR 2022). In Proceedings of the 1st International Conference for Health Research – BRIN (ICHR 2022) (Vol. 1). Atlantis Press International BV. <https://doi.org/10.2991/978-94-6463-112-8>
- Sulistiyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. 2019. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta* 5:56–62.
- Yen GC, Chen HY. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:27-32. <http://doi.org/10.1021/jf00049a007>
- Rahman N, Bahriul P, Diah AW. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil. *J Akad Kim* 3:143–149.