



Jurnal Pharmacia Mandala Waluya Vol.3 No.6  
ISSN : 2829-6850  
<https://jurnal-pharmaconmw.com/jpmw/index.php/jpmw>  
DOI : <https://doi.org/10.54883/jpmw.v3i6.172>



## Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Etil Asetat dan *n*-Heksan Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Riski Amaliah, Jastria Pusmarani, Nur Herlina Nasir

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Kendari, Indonesia

### ABSTRAK

Tanaman kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) yang dipercaya masyarakat mampu untuk pengobatan tradisional dengan berbagai macam penyakit. Salah satu manfaat dari tanaman ini yaitu sebagai astringen, mengobati sakit perut, lepra, penyakit jantung. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia pada fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan dan membandingkan perbedaan aktivitas antioksidan antara fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan pada kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl). Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian analitik. Metode yang digunakan ialah metode ekstraksi, fraksinasi dan skrining fitokimia. Hasil identifikasi senyawa kimia pada fraksi air mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tannin. Pada fraksi etil asetat mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, dan tanin, sedangkan fraksi *n*-heksan mengandung senyawa saponin, flavonoid dan alkaloid. Hasil perbandingan pengujian antioksidan fraksi air diperoleh hasil  $IC_{50}$  86,86  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi etil asetat  $IC_{50}$  sebesar 58,41  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi *n*-heksan diperoleh  $IC_{50}$  143,7  $\mu\text{g/ml}$ . Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai  $IC_{50}$  pada fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  58,41  $\mu\text{g/ml}$ . Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengujian aktivitas antioksidan menggunakan pelarut dan metode lain tanaman kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl).

**Kata Kunci:** Kayu Jawa, Antioksidan, Metode FRAP, Nilai  $IC_{50}$ , Senyawa Kimia

## Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Assay of Water, Ethyl Acetate and *n*-hexane Fractions of Java Wood Bark (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl.) by FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) Method

### ABSTRACT

Javanese woody plant (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) which is believed by the community to be able to traditional medicine with various diseases. One of the benefits of this plant is as an astringent, treating stomach pain, leprosy, heart disease. This study aimed to identify chemical compounds in the water fraction, ethyl acetate and *n*-hexane and compare the difference in antioxidant activity between the water fraction, ethyl acetate and *n*-hexane in the bark of Java bark (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl). The type of research to be carried out is analytical research. The methods used are extraction, fractionation and phytochemical screening methods. The results of the identification of chemical compounds in the water fraction contain alkaloids, flavonoids, terpenoids, saponins and tannins. The ethyl acetate fraction contains alkaloid chemical compounds, flavonoids, and tannins, while the *n*-hexane fraction contains saponins, flavonoids and alkaloid compounds. The results of the comparison of antioxidant testing of water fractions obtained  $IC_{50}$  results of 86.86  $\mu\text{g/ml}$ , ethyl acetate fraction  $IC_{50}$  of 58.41  $\mu\text{g/ml}$ , *n*-hexane fraction obtained  $IC_{50}$  143.7  $\mu\text{g/ml}$ . Based on the results of the study, it can be concluded that the  $IC_{50}$  value in the ethyl acetate fraction has a very strong antioxidant category with an  $IC_{50}$  value of 58.41  $\mu\text{g/ml}$ . Further research needs to be done on testing antioxidant activity using solvents and other methods of Javanese woody plants (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl).

**Keywords:** Java Wood, Antioxidant, FRAP Method,  $IC_{50}$  Value, Chemical Compounds

### Penulis Korespondensi :

Riski Amaliah  
Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Mandala Waluya  
E-mail : riskiamaliahck06@gamil

### Info Artikel :

Submitted : 28 November 2023  
Revised : 5 Mei 2023  
Accepted : 19 Desember 2023  
Published : 31 Desember 2024

## PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai sumber daya hayati yang kaya, bisa dikembangkan untuk pengobatan tradisional, khususnya bahan atau ramuan yang berupa tumbuhan, hewan dan mineral, sehingga diperlukan penelitian terutama mengenai jenis bahan yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat (Agustina et al., 2017). Untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman langkah awal yang dilakukan ialah uji Skrining.

Perubahan gaya hidup menimbulkan berbagai penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Tumbuhan banyak mengandung molekul yang menghambat radikal bebas, seperti senyawa fenolik (asam fenolik, flavonoid, kuinon, kumarin, lignan, stilben, tanin), senyawa nitrogen (alkaloid, amina, betalain), vitamin, terpenoid (termasuk karotenoid) dan beberapa metabolisme senyawa endogen lainnya yang kaya akan aktivitas antioksidan (Ivanišová et al., 2013).

Tanaman kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) yang digunakan masyarakat yang dipercaya mampu untuk pengobatan tradisional dengan berbagai macam penyakit. Salah satu manfaat dari tanaman ini yaitu sebagai astringen, mengobati sakit perut, lepra, penyakit jantung. Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat mencegah atau menunda terjadinya reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas dalam oksidasi lipid (Yuslianti, 2017).

Aktivitas antioksidan jika nilai  $IC_{50}$  suatu ekstrak <50 ppm maka aktivitas antiosidannya sangat kuat, 50-100 ppm maka aktivitas antioksidannya kuat, 100-150 ppm maka aktivitas antiosidannya sedang, 150-200 ppm maka aktivitas antioksidannya lemah, >200 ppm maka aktivitas antiosidannya sangat lemah (Zakariyah et al., 2019). Penentuan Nilai  $IC_{50}$  merupakan kurva hubungan antara

konsentrasi ekstrak dengan persen inhibisi akan menghasilkan persamaan regresi linier (Lung et al., 2017).

Ekstrak alkohol dari kulit pohon jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) telah terbukti memiliki aktivitas gastro protektif. Kulit batang kayu jawa mengandung senyawa fenolik seperti alkaloid, steroid, terpenoid, Tanin, antrakuinon, glikosida jantung, saponin dan flavonoid (Venkata et al., 2010). Senyawa fenolik yang berperan dalam efek antioksidan dari kulit batang kayu jawa dan berperan sebagai tukak lambung (Rahman et al., 2008). Flavonoid berperan sebagai pelindung gastro karena memiliki aktivitas di saluran cerna melalui perbaikan fibronectin, selanjutnya fibrin bekuan yang terbentuk akan menjadi dasar dalam re-epitelisasi pada jaringan. Akibatnya jika gumpalan fibrin cepat terbentuk, maka fibrolas akan segera berproliferasi ke luka untuk menyembuhkan jaringan (Pusmarani et al., 2019).

Berdasarkan penelitian mengenai kulit batang kayu jawa bahwa ekstrak fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol kulit batang kayu jawa yang diuji menggunakan metode DPPH memiliki aktivitas sangat kuat sebagai antioksidan. Nilai ekstrak etanol total memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai AAI yang diperoleh sebesar 7.63. Penelitian ini membuktikan bahwa kulit batang kayu jawa memiliki aktivitas yang sama dengan vitamin C yaitu sebagai antioksidan (Intan, 2017).

Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dimana tujuan dari fraksinasi berkaitan dengan pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar sedangkan senyawa nonpolar diekstraksi dengan pelarut nonpolar (Uthia et al., 2017). Tujuan dilakukan fraksinasi adalah memisahkan senyawa berdasarkan

sifat kepolarannya. Senyawa polar akan masuk ke polar, begitupula senyawa non polar akan masuk pada pelarut non polar (Lona, 2018). Pelarut yang digunakan yaitu *n*-heksan (pelarut nonpolar), etil asetat (pelarut semi polar), dan air (pelarut polar). Senyawa metabolit yang dapat tertarik pada pelarut polar diantaranya yaitu senyawa-senyawa polifenol, flavanoid, saponin dan alkaloid (Kasminah, 2016). Selain itu juga alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, saponin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, zat warna dan asam organik (Lona, 2018). Senyawa yang dapat tertarik pada pelarut semi polar antara lain flavanoid, saponin dan alkaloid (Kasminah, 2016).

Berdasarkan beberapa penelitian di atas, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-Heksan ekstrak kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl). Penelitian ini bertujuan untuk penentuan kapasitas antioksidan fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-Heksan kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl). Metode penelitian antioksidan yang digunakan adalah metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Prinsip kerja metode FRAP adalah terjadi reaksi reduksi menjadi senyawa kompleks kalium ferisianida ( $Fe^{3+}$ ) warna menjadi kuning menjadi hijau dari senyawa kompleks ( $Fe^{2+}$ ) karena elektron dari senyawa antioksidan (Maesaroh et al., 2018). Penggunaan metode FRAP untuk pengujian antioksidan sering dipilih karena murah, cepat, dan reagensinya bagu, penggunaannya cukup sederhana dan tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan (Sugihartini et al., 2019)

Berdasarkan penelitian tentang tanaman kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) yang sudah dijelaskan diatas tentang kajian aktivitas antioksidan maka perlu

dilakukan pengujian antioksidan dengan metode FRAP terhadap kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) sebagai langkah awal untuk mengetahui kandungan aktif yang terdapat dalam kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) yang berperan aktif dalam penyembuhan penyakit.

## METODE

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah aluminium foil, botol kaca, timbangan digital (*Henherr*), kertas label, tabung reaksi, corong, gelas ukur, gelas kimia, batang pengaduk, toples, gelas erlenmeyer, penggaris, labu ukur, penangas air, pipet tetes, cawan porselin, gelas arloji, kertas saring, corong pisah, neraca analitik (*Ohaus*), centrifuge (*PLC Series*) dan spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*).

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl), etanol 96%, aquadest, pelarut etil asetat dan *n*-heksan, HCl 2 N, pereaksi Mayer, pereaksi dragendorf, pereaksi wagner, kloroform, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, aquadest,  $FeCl_3$ , asam askorbat, asam oksalat, NaOH, larutan dapar fosfat,  $KH_2PO_4$ , kalium ferrisianida 1%, larutan asam TCA 10%.

### Determinasi Sampel

Determinasi tanaman dilakukan dengan mempersamakan sifat morfologi tumbuhan diantaranya bentuk, ukuran, jumlah, bagian-bagian daun, bunga, buah, biji batang dan lain-lain. Membandingkan dan mempersamakan ciri-ciri tumbuhan yang akan diteliti dengan tumbuhan yang sudah dikenali identitasnya. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Mandala Waluya. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl).

### Prosedur Kerja

Prosedur kerja yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu determinasi sampel, pengambilan dan pengolahan sampel, ekstraksi sampel, fraksinasi sampel, dan skrining fitokimia yang terdiri dari flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan tannin.

### Pengujian aktivitas antioksidan metode FRAP

Pengujian dilakukan dengan pembuatan air bebas CO<sub>2</sub>, pembuatan larutan dapar fosfat 0,2 N pH 6,6, pembuatan larutan FeCl<sub>3</sub>, pembuatan asam trikloroasetat (TCA) 10%, pembuatan baku pembanding, dan penentuan aktivitas antioksidan fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan.

### Analisis Data

Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini dianalisis dengan nilai persen rendemen dengan rumus: rendemen ekstrak =

$$\frac{\text{bobot total ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk simplisia (g)}} \times 100\%$$

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi larutan pembanding asam askorbat dari pembacaan alat spektrofotometri UV-Vis. Data diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dijabarkan dalam bentuk narasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### HASIL

**Tabel 1.** Hasil Rendamen Ekstrak Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Grandis* (Dennst.) Engl)

Bobot Simplisia (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	% Rendamen	Karakteristik Ekstrak		
			Bentuk	Warna	Bau
321	58	18,06	Kental	Merah	Khas etanol

Hasil persen rendemen fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan Kulit Batang Kayu Jawa

(*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Rendamen Fraksi Air, Etil Asetat dan *N*-Heksan

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	% b/b rendamen fraksi	Karakteristik Ekstrak
Fraksi Air	50	15,2	30,4 %	Kental, merah, khas
Fraksi etil asetat		12,3	24,6 %	Kental, merah, khas
Fraksi <i>n</i> -heksan		9,2	18,4 %	Kental, coklat, khas

Hasil Uji aktivitas antioksidan fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan Kulit Batang Kayu Jawa

(*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Etil Asetat Dan *N*-Heksan

Sampel	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Klasifikasi Antioksidan
Vitamin C	5,16	Sangat Kuat
Fraksi air	86,86	Kuat
Fraksi etil asetat	58,41	Kuat
Fraksi <i>n</i> -heksan	143,7	Sedang

Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Air, Etil Asetat dan *N*-Heksan Fraksi Kulit

Batang Kayu Jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Air, Etil Asetat dan *n*-Heksan

Golongan Senyawa	Perubahan Positif	Perubahan yang terjadi		
		Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi <i>n</i> -heksan
Uji Alkaloid	Endapan putih, coklat, orange	Pereaksi wagner ada endapan coklat (+)	Pereaksi dragendroff ada endapan orange (+)	Pereaksi dragendroff ada endapan orange (+)
		Pereaksi dragendroff ada endapan orange (+)		
Uji Triterpenoid/Steroid	Warna kuning	Warna kuning (+) terpenoid	Tidak terbentuk 2 lapisan (-)	Tidak terbentuk 2 lapisan (-)
Uji Saponin	Buih stabil 1-10 cm	Ada buih stabil 2 cm (+)	Tidak ada buih (-)	Ada buih stabil 1 cm (+)
Uji Flavonoid	Warna merah, kuning atau jingga	Warna jingga (+)	Warna jingga (+)	Warna merah (+)
Uji Tanin	Warna biru kehitaman	Warna biru kehitaman (+)	Warna biru kehitaman (+)	Tidak berwarna biru hitam (-)

## PEMBAHASAN

Penelitian skirining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia pada fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan pada kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) dan untuk membandingkan perbedaan aktivitas antioksidan antara fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan pada kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl).

Berdasarkan hasil penelitian yang pertama dilakukan determinasi tanaman dengan tujuan untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan adalah jenis atau spesies dari tanaman tersebut. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Universitas Mandala Waluya Kendari. Determinasi dilakukan untuk mendapatkan kebenaran identitas dari tanaman yang ingin diteliti sehingga dapat menghindari kesalahan dalam penamaan sampel. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang kayu jawa

(*Lannea grandis* (Dennst.) Engl). Yang diperoleh dari Kecamatan Aere, Kabupaten Kolaka Timur, Sulawesi Tenggara.

Sampel kulit batang kayu jawa dibuat ekstrak dengan metode ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena tidak toksik, selektif, absorbansinya baik dan kemampuan penyarinya tinggi sehingga dapat menyari senyawa polar, semi polar dan non-polar. Selain itu, pelarut etanol 96% lebih mudah berpenetrasi masuk kedalam dinding sel sampel dibandingkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga ekstrak yang diperoleh dari etanol 96% hasilnya pekat (Wendersteyt et al, 2021).

Dilakukan proses maserasi. Maserasi dilakukan agar senyawa yang masih tertinggal didalam maserator tertarik ke dalam cairan pelarut (Rahmadhani et al.,2020). Hasil ekstraksi yang diperoleh dari proses maserasi selanjutnya ekstrak yang didapatkan dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator vakum* sehingga didapatkan ekstrak kental etanol berwarna merah kecoklatan pekat sebanyak 58 g dengan rendemen (18,06%). semakin tinggi nilai

rendemen dalam suatu ekstrak menunjukkan semakin banyak pula kandungan senyawa kimia yang tertarik pada suatu sampel (Senduk, et al. 2020). Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

Hasil dari ekstrak etanol kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) yang telah dipisahkan, kemudian dilakukan proses fraksinasi dimana tujuan dari fraksinasi untuk memisahkan golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda yang bergantung pada jenis simplisia. Senyawa-senyawa bersifat polar akan masuk dalam pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non-polar akan masuk kepelarut non-polar (Harborne, 1987).

Ekstrak kulit batang kayu jawa di fraksinasi menggunakan campuran etanol : air (1:1), dimana fase yang berada dibagian bawah merupakan fraksi air sedangkan fraksi etil asetat berada bagian atas begitu pula dengan fraksi *n*-heksan. Hal tersebut terjadi karena berat jenis pelarut etil asetat dan *n*-heksan lebih kecil dibandingkan berat jenis air. Fraksi air, etil asetat dan fraksi *n*-heksan kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) ketiga fraksi ditampung pada wadah tertutup. Kemudian hasil fraksinasi masing-masing diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental fraksi air dengan rendemen (30,4 %), fraksi etil asetat (24,6 %) dan rendemen dari fraksi *n*-heksan yaitu (18,4 %).

Skrining fitokimia atau identifikasi kualitatif pada fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan ekstrak kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) bertujuan untuk memastikan adanya zat aktif dalam sampel sehingga memperoleh proses pengujian aktivitas antioksidan. Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit

sekunder. Suatu ekstrak dari bahan alam terdiri atas berbagai macam metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologisnya. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan dari metabolit sekunder (Harborne, 1987). Rangkaian skrining fitokimia pada fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan kulit batang kayu jawa yaitu uji alkaloid, uji triterpenoid, uji saponin, uji flavonoid dan uji tannin, yang sebelumnya dibuat larutan induk (Susanti *et al.*, 2015).

Hasil uji skrining fraksi air dilakukan uji senyawa alkaloid dengan pereaksi mayer dinyatakan negatif ditandai dengan tidak terdapat endapan putih. Hasil uji senyawa alkaloid dengan pereaksi wagner dinyatakan positif terdapat endapan coklat, diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi wagner, iodine bereaksi dengan ion  $I^-$  dari kalium iodide menghasilkan ion  $I_3^-$  yang berwarna coklat. Hasil uji senyawa alkaloid dengan pereaksi dragendorff dinyatakan positif dengan ditandai adanya endapan orange, pereaksi ini terdiri dari bismuth nitrat bereaksi dengan kalium iodide akan membentuk endapan bismuth (III) iodide, yang kemudian melarut dalam kalium iodide membentuk kompleks kalium tetraiodobismutat yang mengendap (Asmara, 2017).

Hasil pengujian senyawa terpenoid pada fraksi air dinyatakan positif yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning. Pada uji ini ditambahkan 1-2 tetes asam asetat, penambahan ini bertujuan untuk memutuskan gugus steroid-terpenoid dengan gugus lainnya dan ditambahkan asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ), tujuan penambahan  $H_2SO_4$  ini untuk memutuskan ikatan gula pada sampel akan ditandai dengan adanya cincin yang berwarna merah atau kuning (Harborne, 1987).

Hasil uji saponin pada fraksi air dinyatakan positif dengan adanya buih setinggi 2 cm, penambahan HCl 2N bertujuan agar tingkat kepolaran bertambah, sehingga gugus hidrofilik memiliki ikatan yang lebih kuat dan busa yang terbentuk stabil (Simaremare, 2014). Hasil uji flavonoid dinyatakan positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi jingga, penambahan serbuk Mg dan HCl pekat bertujuan pada uji reaksi warna untuk senyawa flavonoid adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavylum. Serbuk Mg dan HCl bereaksi membentuk gelembung yang merupakan gas H<sub>2</sub> (Illing et al., 2017).

Hasil uji tannin pada fraksi air dinyatakan positif tannin karena larutan berwarna biru hitam, pada pengujian tannin direaksikan dengan FeCl<sub>3</sub> akan membentuk warna hijau biru berarti positif adanya tannin katekol sedangkan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tannin pirogalol (Mutmainnah B, 2017).

Pada uji skrining pada fraksi etil asetat mengandung alkaloid dengan pereaksi dragendorff, flavonoid dan tannin. Sedangkan fraksi *n*-heksan mengandung alkaloid pada pereaksi dragendorff, mengandung saponin dan flavonoid. Uji tannin pada fraksi *n*-heksan menunjukkan negatif karena tidak ada perubahan warna, hal ini diperkirakan karena senyawa tannin tidak terhidrolisis dengan senyawa FeCl<sub>3</sub> sehingga tidak mengalami perubahan warna (Waty, 2016). Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennts.) Engl) yang dilakukan oleh (Kumar et al., 2013) menyatakan bahwa ekstrak kulit batang kayu jawa mengandung senyawa flavonoid, karbohidrat, gums dan mucilages dan tannin. Senyawa tannin berperan sebagai astringent pada luka sedangkan saponin meningkatkan

kecepatan epitelisasi, dan flavonoid berperan dalam penyembuhan luka dengan menghentikan pendarahan melalui mekanisme vasokonstriksi pada pembuluh darah, menangkal radikal bebas, dan menghambat hidrolisis dan oksidasi enzim, dan antiinflamasi (Singhai et al., 2012).

Setelah dilakukan analisis uji kualitatif selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan konsentrasi efektif yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50% (IC<sub>50</sub>). Persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan simbol x dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata dengan simbol y dari seri replikasi pengukuran sehingga dapat ditentukan nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan.

Metode uji FRAP berdasarkan pada reaksi reduksi dalam suasana asam terhadap senyawa kompleks Fe<sup>3+</sup> (Kalium heksasianoferrat) yang berwarna kuning menjadi senyawa kompleks Fe<sup>2+</sup> yang berwarna hijau kebiruan akibat donor electron dari senyawa antioksidan. Metode uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP ini dapat dimonitor dengan pengukuran serapan senyawa kompleks Fe<sup>2+</sup> yang terbentuk dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 700 nm (Panda 2012). Pada pengujian ini diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-800 hingga diperoleh Panjang gelombang maksimum (Magfira, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> dilakukan menggunakan metode FRAP. Perlakuan ini akan ditentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung nilai IC<sub>50</sub>

dimana nilai antioksidan tergolong sedang jika nilai  $IC_{50}$  (110-150) dan lemah jika  $IC_{50}$  (150-200 ppm) semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Rumagit *et al.*, 2015). Pada pengujian antioksidan metode FRAP diperoleh hasil  $IC_{50}$  fraksi air yaitu 86,86  $\mu\text{g/ml}$ , fraksi etil asetat diperoleh nilai  $IC_{50}$  58,41  $\mu\text{g/ml}$ , sedangkan fraksi *n*-heksan didapatkan  $IC_{50}$  143,7  $\mu\text{g/ml}$  dimana antioksidan fraksi *n*-heksan ekstrak kulit batang kayu jawa tergolong sedang.

Setelah diperoleh nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat perbandingan aktivitas antioksidan antara fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan, yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat ialah fraksi air dengan nilai  $IC_{50}$  58,41  $\mu\text{g/ml}$ , dibandingkan dengan fraksi etil asetat dengan nilai 86,86  $\mu\text{g/ml}$ , dimana senyawa antioksidan yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) baik dalam menghambat radikal bebas FRAP.

Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh (Melani, 2022) yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) tergolong antioksidan tingkat sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  19,821  $\mu\text{g/ml}$ . Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50  $\mu\text{g/ml}$ , dikatakan kuat jika  $IC_{50}$  50-100  $\mu\text{g/ml}$ , nilai  $IC_{50}$  101-150  $\mu\text{g/ml}$  dikatakan sedang, dan dikatakan lemah jika nilai  $IC_{50}$  151-200  $\mu\text{g/ml}$  (Mardawati *et al.*, 2008).

Perbedaan hasil dari nilai  $IC_{50}$  dapat disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut dan lama ekstraksi (Handayani *et al.*, 2016). Hal ini juga didukung dengan penelitian (Utomo *et al.*, 2020) yang menyatakan bahwa pengaruh suhu juga berpengaruh terhadap kadar aktivitas antioksidan di dalam tanaman, dimana semakin tinggi cekaman suhu yang terdapat

dalam lingkungan maka kadar aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin tinggi. Menurut penelitian (Junaid *et al.*, 2016) mengandung senyawa fenolik. Senyawa fenolik yang melimpah pada kulit batang adalah tanin yang merupakan salah satu bentuk senyawa polifenol yang banyak mengandung gugus hidroksil. sehingga ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan ekstrak lainnya.

Pada penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding yang bertujuan untuk mengetahui bahwa metode yang digunakan telah sesuai. Dimana senyawa pembanding yang digunakan adalah vitamin C (Asam askorbat), vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang sering digunakan sebagai senyawa pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alami relative aman dan tidak menimbulkan toksisitas (Lung & Destiani, 2017). Pada penelitian uji aktivitas antioksidan pada vitamin C diperoleh hasil perhitungan persen inhibisi pada konsentrasi (10, 20, 30, 40 dan 50 ppm) ialah (45,09%, 45,75%, 46,73%, 47,38% dan 47,71%). Kemudian data persen inhibisi yang didapatkan dikerjakan pada tabel untuk mendapatkan persamaan linier untuk penentuan  $IC_{50}$ . Dari hasil persamaan regresi yang diperoleh, dapat dirumuskan  $IC_{50} = (50 - a)/b$  sehingga hasil perhitungan yang didapatkan yaitu 5,16  $\mu\text{g/ml}$  yang tergolong antioksidan tingkat sangat kuat.

Dimana vitamin C memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa pada ekstrak masih dalam bentuk senyawa kompleks (tidak murni) sedangkan vitamin C merupakan suatu senyawa yang murni (Handayani *et al.*, 2020). Mengenai pengujian aktivitas antioksidan dapat menggunakan metode DPPH, metode FRAP dan ABTS. Metode DPPH

memiliki prinsip yaitu senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH, sehingga menyebabkan DPPH menjadi bentuk tereduksi yang bersifat nonradikal (Puspitasari, 2016).

DPPH akan bereaksi dengan dua cara yaitu mekanisme donor atom hydrogen dan donor electron, dimana DPPH yang bersifat radikal akan mengambil atom hydrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan electron (Apak *et al.*, 2013). DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet (Yunarto *et al.*, 2018). Semakin tinggi kandungan polifenol maka semakin banyak electron yang disumbangkan kepada radikal bebas, dan semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Falah, 2016 Widyasanti *et al.*, 2016).

Selain menggunakan metode DPPH, dalam penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Prinsip metode FRAP yaitu mengukur konsentrasi kompleks  $Fe^{2+}$  - TPTZ, hasil reduksi  $Fe^{3+}$  - TPTZ oleh senyawa antioksidan diukur serapan absorbansi maksimum pada Panjang gelombang spektrofotometer 593 nm (Sitorus *et al.*, 2013). Mekanisme kerja metode FRAP yaitu dengan cara menginaktivasi radikal bebas dengan transfer electron (Jayanthi *et al.*, 2011).

Metode ABTS (*2,2'-azino-bis(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonuc acid)*) sebagai penghasil radikal bebas (Oliveira *et al.*, 2014). Prinsip metode ABTS yaitu dengan melihat kemampuan senyawa antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan proton kepada radikal bebas yang ditandai dengan pemudaran warna dari warna biru kehijauan menjadi tidak berwarna seiring tereduksinya kation radikal ABTS (Aryanti *et al.*, 2021). Dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ini diperlukan

reaksi oksidasi senyawa ABTS terlebih dahulu oleh kalium persulfat ( $K_2S_2O_8$ ) untuk membentuk kation radikal ABTS ( $ABTS^+$ ) yang selanjutnya direaksikan dengan senyawa antioksidan (Oliveira *et al.*, 2014). Serapan dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 734 nm (Sukweenadhi *et al.*, 2020).

## KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil dari identifikasi senyawa kimia pada fraksi air memiliki kandungan senyawa kimia alkaloid dengan preaksi wagner dan dragendroff, flavonoid, terpenoid, saponin dan tannin. Pada fraksi etil asetat mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, dan tanin. Sedangkan fraksi *n*-heksan pada kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl) mengandung senyawa saponin, flavonoid dan alkaloid.
2. Hasil perbandingan perbedaan aktivitas antioksidan antara fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan pada kulit batang kayu jawa (*Lannea grandis* (Dennst.) Engl). Hasil pengujian antioksidan fraksi air dengan metode FRAP diperoleh hasil  $IC_{50}$  sebesar 86,86  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil pengujian antioksidan fraksi etil asetat dengan diperoleh hasil  $IC_{50}$  sebesar 58,41  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan hasil pengujian antioksidan fraksi *n*-heksan diperoleh hasil  $IC_{50}$  sebesar 143,7  $\mu\text{g/ml}$ . diketahui nilai  $IC_{50}$  pada fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  58,41  $\mu\text{g/ml}$ .

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti haturkan kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam penelitian ini, khususnya kedua orang tua peneliti, dosen pembimbing, teman-

teman dan rekan sejawat. Terimakasih atas dukungan, dorongan, saran dan motivasi yang diberikan kepada peneliti selama melakukan penelitian ini hingga selesai.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, W., Nurhamidah, Dewi. H. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). Alotrop. 2017: 1 (2): 117-122.
- Apak, R., Gorinstein, S., Bohm, V., Schaich, K. M. 2013. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*, 85 (5), 957-998, <https://doi.org/10.135/PAC-REP-12-07-15>
- Cahyani, A.I. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang Kayu Jawa (*Lanneacoromandelica*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Skripsi. FKIK. Jakarta.
- Falah, S. 2016. Ketinggian Tempat Antioxidant Activities Of Gmb 7 Variety Of Tea At Different Altitude Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Departemen, 3, 53-60.
- Harbone, J.B 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata, K dan Soediro, I. Institute Teknologi Bandung, Bandung.
- Indraswary R. Efek Konsentrasi Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare Mill.*) Topikal pada Epitelisasi Penyembuhan Luka Gingiva Labial Tikus Sprague Dawley In Vivo. *Majalah Universitas Sultan Agung*. 2011.
- Ivanišová, et al., 2013. Antioxidant Activity of Selected Plant Products. *Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences*
- Kasminah. 2016. *Aktivitas Rumpuk Laut Halymenia durvillaei Dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar Dan Polar*. Universitas Airlangga Surabaya.
- Kumar, S. & Pandey, A., 2013, Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, *The ScientificWorld Journal*, 2013, 1-16
- Lona, A. T., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Lung, S., Destiani, P., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik*, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Anshori, A. J., 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan Dpph, Frap Dan Fic Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat Dan Kuersetin. *Jurnal Chimica Et Natura Acta*, 93-100.
- Magfira., 2018. Analisis Penghambatan Ekstrak Etanol Batang Bulan Kembang Bulan (*Tithonia ediversifolia*) Terhadap Reaksi Oksidasi dari Radikal Bebas dengan Metode DPPH, ABTS dan FRAP, *Universitas Hasanuddin Makassar*.
- Melani, D, Puspaningtyas, Ayik R, Setyaningrum, Lindawati., 2022. Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del.*) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil). Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.
- Oliveira, S., Souza, G.A. 2014. Evaluation Of Antiradical Assays Used In Determining The Antioxidant Capacity Of Pure Artigo. *Quim, Nova*, 37(3), 497-503.
- Puspitasari, E. dan Ningsih, I.Y. 2016. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *Pharmacy*, 13(1): 16-126
- Pusmarani, J. Mus I, Muhammad I, Ahmad S, Himaniarwati., 2019. Gastroprotective Effect of *Lannea coromandelica* Stem Bark in Rat induced By Aspirin, *Research J. Pharm. And Tech.* 12(4).

- Rahmadhani, M.A., Hati,K.A., Lukitasari,F.N., Jusman,H.A., 2020. Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%, *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, Vol 03, No 01.
- Rahman, M.S., Bilkis, B., Chowdhury, K.M., Rahman dan Rashid, M.A. 2008, Preliminary cytotoxicity screening of some of Bangladesh. *J.Pharm. Science*. 7: 47-52.
- Rumagit, Hanna. M., Runtuwene, Max.R.J., Sudewi, Sri., 2015. Uji Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antiosidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 4(3): 183-192.
- Senduk Toar Waraney, Lita,M., Verly,D., 2020. Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua *Mangrove Sonneratia Alba (The Rendement of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove Sonneratia Alba)*. *Jurnal perikanan dan kelautan tropis*. Vol. 11, No 1. Hal 9-15
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Kartini, Siagian, M.T., Danduru, A.P., Avanti, C. 2020. Antioxidant Activity Screening of Seven Indonesian Herbal Ekstrak. *Biodiversitas*, 21(5): 2062-2067.
- Uthia R, Arifin H, Efrianti F., 2017. Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat Pada Mencit Putih Jantan. *J Farm Higea* 9: 85–95. doi: 10.52689/higea.v9i1.161
- Venkata, S.S.N., Kantamredi, Nagendra L.Y., dan Satyanarayana, K.V.V.V., 2010. Preliminary Phytochemical Analysis of Some Important Indian Plant Species. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1 (4): 351-358
- Wendersteyt Novira V, Wewengkang Defny S, Abdullah Surya Sumantri., 2020. Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania Momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella Typhimurium*, dan *Candida Albicans*. *Journal Pharmakon*. Vol.10, No.1. Hal 706-712
- Yunarto, N., Rossyid, H.M.A. and Lienggonegoro, L.A. 2018. Effect of Ethanolic Leaves Extract of *Peperomia Pellucida* (L) Kunth as Antimalarial and Antioxidant. *Media Litbangkes*, 28(2): 123-130.
- Yulianti, HN, dan Abdul WW, 2016, Analisis Kadar Beta-Karoten Dalam Ekstrak Petroleum Eter Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Dari Daerah Pesisir Dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antioksidan, *J.Pharm. Science*. 1: 45-51.

Jurnal Pharmacia Mandala Waluya (JPMW) is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

