

Antioxidant activity test of ethanol extract of *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser mistletoe leaves on *Moringa oleifera* plants using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser pada tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Nerni Olvi Potalangi^{a *}, Reky Royke Palandi^a, Amalia J. Manoppo^a, Tewsu M. Tewu^b,
Jabes W. Kanter^b, Christel N. Sambou^c

^a Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon, 95362, Sulawesi Utara, Indonesia

^b Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon, 95362, Sulawesi Utara, Indonesia

^c Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi, 95115, Sulawesi Utara, Indonesia

*Corresponding Authors: nopotalangis@yahoo.co.id

Abstract

Free radicals can originate from within the human body as a result of metabolic processes from chemical reactions in the body, as well as from external sources or the environment, including emissions from motor vehicles, air pollution from factories, industrial chemicals, food and beverage substances, cigarette smoke, radiation, and sunlight. Antioxidants are components that can prevent cells or molecules from being oxidised by donating electrons or hydrogen atoms to free radicals. The impact of the reactivity of free radical compounds can result in cell or tissue damage, degenerative diseases, and even cancer. One of the parasites on the moringa plant, namely *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser, contains secondary metabolite compounds such as alkaloids, flavonoids, and saponins. This research aimed to determine whether the leaves of the *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser mistletoe have antioxidant activity using the 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) method. The research method is a laboratory experiment with five concentrations and three repetitions. Subsequently, the antioxidant activity testing is conducted qualitatively using the DPPH method at a wavelength of 517 nm and utilising a Spectrophotometer UV-Vis. Based on the results of the antioxidant test, the extract of *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser leaves has extreme activity with an IC₅₀ value of 28.74 ppm. In contrast, the comparison, vitamin C has an IC₅₀ value of 1.57 ppm. The regression equation for the concentration of the mistletoe is $y=0.3344x + 40.389$ with an R² value of 0.9726, and Vitamin C shows $y=4.4065x + 43.079$ with an R² value of 0.9677. It can be concluded that the leaves of *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser on the *Moringa oleifera* plant have extreme antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, Mistletoe *Helixanthera cylindrica*, DPPH.

Abstrak

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh manusia hasil proses metabolisme dari reaksi kimia dalam tubuh dan radikal bebas dari luar tubuh atau lingkungan diantaranya berasal dari asap kendaraan bermotor, polusi udara oleh pabrik, bahan kimia industri, bahan makan dan minuman, asap rokok, radiasi dan sinar matahari. Antioksidan merupakan komponen yang dapat mencegah sel atau molekul teroksidasi dengan cara mendonorkan electron atau atom hydrogen pada radikal bebas. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas dapat berupa kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif hingga penyakit kanker. Salah satu benalu pada tumbuhan kelor yakni *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser memiliki kandungan senyawa metabolit

sekunder antara lain alkaloid, flavonoid dan saponin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser memiliki aktivitas sebagai antioksidan menggunakan metode 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH). Metode penelitian yakni eksperimental laboratorium dengan 5 konsentrasi 3 kali ulangan, selanjutnya pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 517 nm dan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil penelitian uji antioksidan ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser memiliki aktivitas yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} 28.74 ppm sedangkan pembanding vitamin C memiliki nilai IC_{50} 1.57 ppm, dengan nilai persamaan regresi dari konsentrasi benalu $y=0.3344x + 40.389$ dengan nilai $R^2=0.9726$ dan vitamin C menunjukkan $y=4.4065x + 43.079$ dengan nilai $R^2=0.9677$. maka dapat disimpulkan bahwa daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser pada tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci: Antioksidan, Benalu *Helixanthera cylindrica*, DPPH.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 15/09/2024,
Revised: 20/10/2024,
Accepted: 25/10/2024,
Available Online: 05/11/2024.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v7i4.626>

Pendahuluan

Obat tradisional merupakan bahan yang berasal dari alam dan masyarakat Indonesia telah mengenal sebelum ada obat sintetis atau obat paten. Kemajuan zaman dari pembangunan dan teknologi ternyata tidak melepas masyarakat untuk menggunakan obat tradisional karena tergolong mudah didapat dan jika dalam bentuk produk masih murah harganya. Masyarakat suku Minahasa menggunakan tumbuhan seperti daun, akar, kulit, batang, biji dan buah untuk pengobatan suatu penyakit. Obat tradisional atau juga disebut obat herbal dipercaya oleh masyarakat dapat memberikan efek penyembuhan dan penggunaannya dianggap tidak berbahaya bagi kesehatan karena tidak mengandung senyawa kimia sintetis.

Radikal bebas [1] dapat berasal dari dalam tubuh manusia hasil proses metabolisme dari reaksi kimia dalam tubuh dan radikal bebas dari luar tubuh atau lingkungan diantaranya berasal dari asap kendaraan bermotor, polusi udara oleh pabrik, bahan kimia industri, bahan makan dan minuman, asap rokok, radiasi dan sinar matahari. Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang kehilangan satu atau lebih elektron pasangannya [2]. Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif terhadap sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel [3]. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung beraksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh [4]. Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan [5]. Secara alami tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkali reaktivitas radikal bebas secara berkelanjutan, namun jika jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih maka dibutuhkan antioksidan tambahan. Antioksidan merupakan komponen yang dapat mencegah sel atau molekul teroksidasi dengan cara mendonorkan electron atau atom hydrogen pada radikal bebas [6]. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas dapat berupa kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif hingga penyakit kanker [7].

Benalu merupakan tumbuhan yang hidup atau menempel pada tumbuhan atau inangnya. Benalu disebut sebagai tumbuhan parasit karena mengambil makanan atau nutrisi dari inangnya. Salah satu benalu pada tumbuhan kelor yakni *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser. Berdasarkan hasil penelitian dari Wilar, dkk. [8], skrining fitokimia benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser pada tanaman kelor mengandung senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid dan saponin. Benalu pada tumbuhan kelor ini memiliki potensi atau sebagai alternatif dalam pengobatan tradisional karena memiliki kandungan metabolit sekunder yang sangat diperlukan dalam pengobatan.

Berdasarkan kajian tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dari benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser. Maka tujuan dari penelitian ini adalah Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser pada tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*) menggunakan metode 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl.

Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan 5 konsentrasi 3 kali ulangan, baik untuk ekstrak dan pembandingan vitamin C.

Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Ombulo Gorontalo. Daun Benalu *Helixanthera cylindrica* yang digunakan yaitu yang tidak terlalu mudah dan tidak terlalu tua. Daun benalu *Helixanthera cylindrica* dengan berat 600gram dibersihkan dari kotoran yang melengket dengan mencuci pada air yang mengalir, setelah bersih daun benalu *Helixanthera cylindrica* dipotong atau dirajang kemudian dikeringkan dengan cara di angin-anginkan, kemudian setelah kering daun benalu *Helixanthera cylindrica* dihancurkan dan diayak untuk mendapatkan ukuran yang seragam.

Pembuatan Ekstrak Daun Benalu *Helixanthera cylindrica*

Pembuatan ekstrak. Daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser sebanyak 600gram dimaserasi dengan etanol 95% (1,5 Liter) sampai terendam selama 24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring, filtratnya ditampung, sedangkan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut etanol yang baru (1 Liter) selama 24 jam, disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cara yang sama dan dilakukan sampai 3 (3 x 24 jam). Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan pada tekanan rendah dan suhu 40°C dengan penguap putar vacum (vacum rotary evaporator) sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol 14,7 gram.

Pembuatan larutan DPPH 0.1mM

Serbuk DPPH (BM 394,32) 0.39432gram dilarutkan dengan methanol p.a 10 ml. Larutan DPPH 0.1M dipipet 100µl dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dicukupkan dengan methanol p.a sampai tanda batas (DPPH 0.1mM) [9].

Penentuan Panjang gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan metanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang maksimum 517 nm[10].

Pembuatan Larutan blanko

Larutan DPPH 0.15mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan Larutan induk ekstrak konsentrasi 1000 ppm

Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan dengan methanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, volume dicukupkan dengan methanol p.a sampai tanda batas. Pembuatan larutan uji seri konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi

| Konsentrasi | Larutan stok (ml) | Metanol p.a (ml) |
|-------------|-------------------|------------------|
| (1) | (2) | (3) |
| 20ppm | 0.2 | 10 |
| 40 ppm | 0.4 | 10 |
| 60 ppm | 0.6 | 10 |
| 80 ppm | 0.8 | 10 |
| 100 ppm | 1 | 10 |

Keterangan: ppm (parts per million), ml (mililiter), p.a (pro analis)

Pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 2 ml masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0.15 mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm, selanjutnya dianalisis.

Penentuan persen inhibisi

Aktivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{inhibisi DPPH} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi bahan uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan sebagai nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀ [11]. Dari % perendaman yang diperoleh tentukan IC₅₀ yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan rumus:

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

Keterangan :

a : nilai x pada kurva linear

b : nilai y pada kurva linear

Analisis data

Penentuan sifat antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀, dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini:

Tabel 2. Penentuan IC₅₀ Menurut *Molyneux*

| Nilai IC ₅₀ | Sifat Antioksidan |
|------------------------|-------------------|
| (1) | (2) |
| 50 ppm < | Sangat Kuat |
| 50 ppm - 100 ppm | Kuat |
| 100 ppm - 150 ppm | Sedang |
| 150 ppm - 200 ppm | Lemah |

Data antioksidan ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* dan Vitamin C di hitung nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya data dianalisis dengan persamaan regresi linear menggunakan program Microsoft Excel untuk melihat hubungan variasi konsentrasi dengan persen inhibisi.

Hasil dan Pembahasan

Uji Ekstrak Daun Benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser

Penelitian ini menggunakan sampel daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser pada tumbuhan kelor dengan berat 600gram berat basah, dengan berat kering \pm 361 gram. Hasil dari proses maserasi menggunakan etanol 95% yang kemudian disaring dan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C menghasilkan ekstrak kental daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser seberat 14,7gram berwarna hijau tua.

Hasil skrining fitokimia daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser pada tumbuhan kelor yang dilakukan oleh Wilar et al., 2021 [8] merupakan pengujian awal untuk melihat kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam benalu tersebut [12]. Tumbuhan yang memiliki senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan [13]. Terdapat dua golongan senyawa fenolik yakni flavonoid [14] dan saponin. Berikut hasil skrining fitokimia seperti pada Tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Daun Benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser

| Pengujian | Hasil | Pereaksi | Perubahan kimia-fisik |
|--------------|-------|--------------------------------|---|
| (1) | (2) | (3) | (4) |
| Alkaloid | + | Dragendroff Wagner Mayer | kuning kecoklatan coklat merah jingga |
| Flavonoid | + | HCL dan Mg | merah kecoklatan |
| Saponin | + | Aquades | gelembung buih |
| Tanin | - | - | - |
| Steroid | - | - | - |
| Triterpenoid | - | - | - |

(Data: Wilar et al., 2021)

Hasil Uji Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Uji aktivitas antioksidan menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) [14] dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron. Mekanisme kerja dalam metode DPPH yaitu dimana senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu ke kuning yang kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm [15].

Pada uji aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan sampel ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* dan vitamin C sebagai pembanding. Masing-masing dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5. Berikut hasil uji aktivitas antioksidan dari daun benalu *Helixanthera cylindrica*.

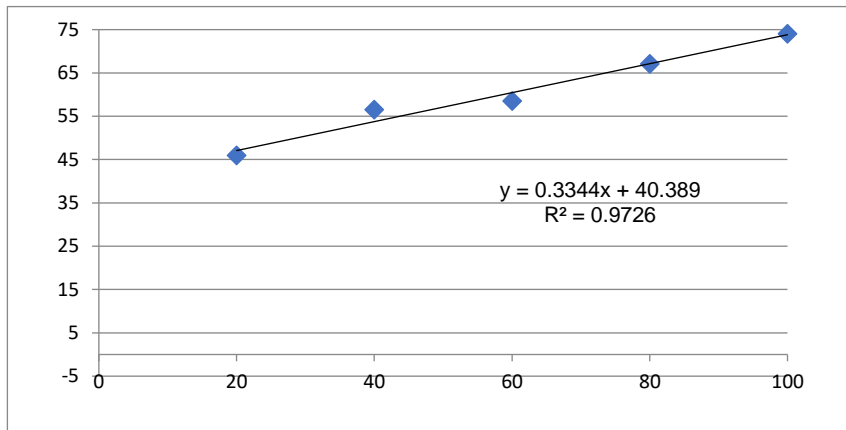
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu *Helixanthera cylindrica*

| Konsentrasi | Ulangan | Rata-rata | % Inhibisi | IC ₅₀ (ppm) |
|-------------|---------|-----------|------------|------------------------|
|-------------|---------|-----------|------------|------------------------|

| (ppm) | U1 | U2 | U3 | | | |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 20 | 0.459 | 0.429 | 0.477 | 0.455 | 45.96 | |
| 40 | 0.392 | 0.387 | 0.319 | 0.366 | 56.53 | |
| 60 | 0.396 | 0.304 | 0.348 | 0.349 | 58.55 | 28.74 |
| 80 | 0.299 | 0.262 | 0.271 | 0.277 | 67.1 | |
| 100 | 0.209 | 0.222 | 0.224 | 0.218 | 74.11 | |
| Kontrol DPPH | 0.844 | 0.842 | 0.842 | 0.842 | | |

Keterangan: U1 (Ulangan pertama), U2 (Ulangan kedua), U3 (Ulangan ketiga), IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%, ppm (parts per million), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Dari hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ dari daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser menunjukkan nilai 28.74 (ppm), untuk mendapatkan nilai tersebut menggunakan rumus % inhibisi DPPH [16]. Dibawah ini hasil analisis nilai %inhibisi dengan konsentrasi/ppm menggunakan analisis regresi linier, dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva % Inhibisi Aktivitas Antioksidan Sampel Ekstrak

Dari analisis persamaan regresi [17] untuk data hasil uji analisis antioksidan daun benalu *Helixanthera cylindrica* menunjukkan data yang linier yakni garis lurus dan titik-titik %inhibisi mendekati garis lurus. Hasil analisis persamaan regresi menunjukkan $y=0.3344x + 40.389$ dengan nilai $R^2=0.9726$.

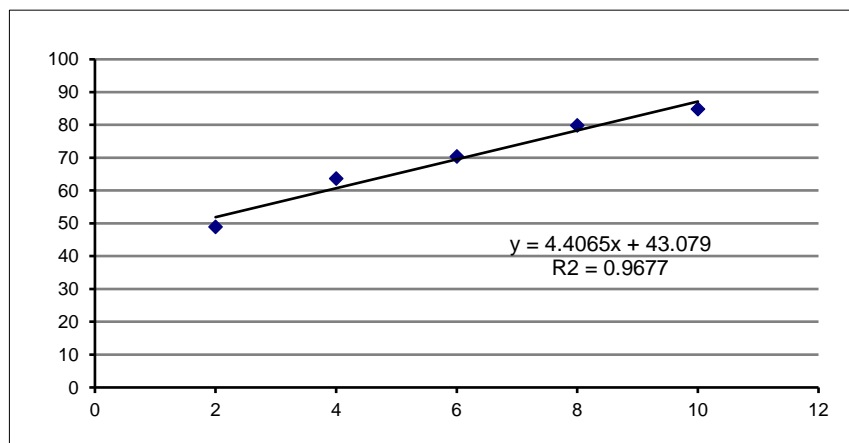
Selanjutnya dibawah ini yakni uji aktivitas antioksidan dengan pembanding vitamin C, menunjukkan nilai IC₅₀ pada angka 1.57 ppm.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Pembanding

| Konsentrasi (ppm) | Ulangan | | | Rata- rata | % Inhibisi | IC ₅₀ (ppm) |
|-------------------|---------|-------|-------|------------|------------|------------------------|
| | U1 | U2 | U3 | | | |
| 2 | 0.411 | 0.427 | 0.453 | 0.430 | 48.93 | |
| 4 | 0.311 | 0.303 | 0.305 | 0.306 | 63.66 | |
| 6 | 0.256 | 0.273 | 0.219 | 0.249 | 70.42 | 1.57 |
| 8 | 0.217 | 0.155 | 0.177 | 0.183 | 78.27 | |
| 10 | 0.113 | 0.117 | 0.153 | 0.127 | 84.92 | |
| Kontrol DPPH | 0.844 | 0.842 | 0.842 | 0.842 | | |

Keterangan: U1 (Ulangan pertama), U2 (Ulangan kedua), U3 (Ulangan ketiga), IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%, ppm (parts per million), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Dari hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ dari vitamin C menunjukkan nilai 1.57 (ppm). Nilai IC₅₀ mendekati ke angka "0" karena vitamin C merupakan senyawa sintetis dan paten maka ragam konsentrasi diencerkan 10 kali lebih kecil. Dibawah ini hasil analisis nilai %inhibisi dengan konsentrasi/ppm menggunakan analisis regresi linier, dapat dilihat pada gambar 2.



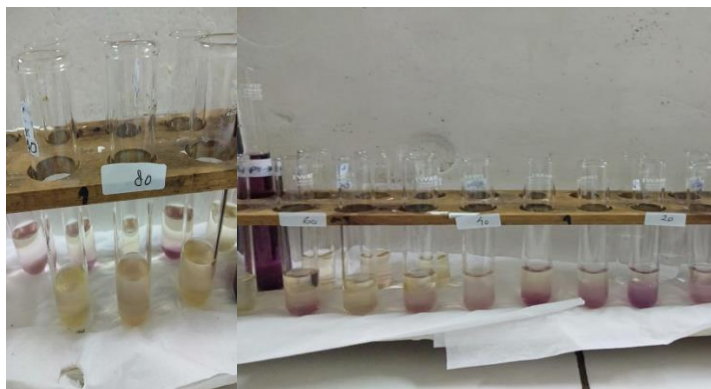
Gambar 2. Grafik Konsentrasi dan %Inhibisi Vitamin C.

Dari analisis persamaan regresi untuk data hasil uji analisis vitamin C sebagai pembanding menunjukkan data yang linier yakni garis lurus dan titik %inhibisi mendekati garis lurus. Hasil analisis persamaan regresi menunjukkan $y=4.4065x + 43.079$ dengan nilai $R^2=0.9677$. Pada koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai IC₅₀, sedangkan koefisien x pada persamaan regresi diatas adalah konsentrasi dari ekstrak kasar dan vitamin C yang akan dicari nilainya, dimana nilai x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam radikal bebas yang dalam hal ini adalah DPPH dan nilai R yang mendekati 1 bernilai positif, maka nilai R memiliki nilai maksimum 1 tidak pernah lebih dari 1 [9]. Hasil ini berarti jika suatu senyawa dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ yang digunakan kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilainya diantara 50-100 ppm, sedang apabila nilainya diantara 100-150 ppm dan lemah jika nilainya antara 150-200 ppm menurut *Molyneux*.

Pada Tabel 4 dapat dijelaskan bahwa penghambatan radikal bebas terhadap ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka absorbansi dari Benalu *Helixanthera cylindrica* semakin menurun, yang artinya Daun Benalu Kelor *Helixanthera cylindrica* dapat menangkal atau meredam radikal bebas DPPH. Gambar 4, menunjukkan korelasi antara variasi konsentrasi sampel dengan %inhibisi, dimana semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi akan semakin kecil akibat adanya senyawa antioksidan. Dari nilai absorbansi masing-masing konsentrasi maka dapat dihitung persen inhibisinya, yaitu kemampuan suatu senyawa untuk menghambat reaksi oksidasi yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Aktivitas antioksidan menggunakan metode 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) [18] dinyatakan dengan IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas DPPH sebanyak 50% [19]. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa yang mengandung antioksidan serta memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam. Jadi jika Nilai IC₅₀ semakin kecil berarti semakin kuat daya antioksidannya. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ <50 ppm. Berdasarkan hasil nilai IC₅₀ tersebut maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* pada tumbuhan kelor memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan ragam konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm, artinya semakin tinggi konsentrasi uji maka semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Seperti pada gambar 3 dibawah ini, dapat dilihat ketika konsentrasi uji semakin besar maka pengaruh aktivitas antioksidan dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* memberikan pengaruh perubahan warna dari warna ungu dengan konsentrasi rendah yang mengandung

radikal bebas atau larutan DPPH menjadi warna bening kekuning-kuningan dengan konsentrasi yang makin tinggi yakni 100 ppm.



Gambar 3. Konsentrasi Uji Larutan DPPH dan Ekstrak Daun Benalu

DPPH merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan kandungan senyawa antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Elektron yang tidak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorbansi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 517 \text{ nm}$ [19] dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil.

Pengukuran serapan dilakukan selama rentang waktu inkubasi memasuki menit ke-26 hingga menit ke-30 agar terjadi reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dengan sampel yang diuji secara maksimal. Karena operating time dengan serapan yang stabil meningkat pada senyawa antioksidan terjadi di menit ke 15 sampai menit ke 30 dan absorbansi maksimalnya terjadi pada menit ke 26 sampai 30 menit. Uji aktivitas antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), metode ini dipilih karena pengujian dan pembuktian secara ilmiah di laboratorium terhitung sederhana, mudah, cepat dan hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron dan dengan mudah dilihat dari segi perubahan warna [20].

Berdasarkan hasil pengujian ekstrak daun *Helixanthera cylindrica* (Jack) Dancer memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yakni mampu menangkal radikal bebas karena memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat merendam dan mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas yang disebabkan oleh polusi udara, asap hitam, makanan dan minuman yang tidak sehat yang masuk pada organ tubuh manusia. Kemampuan senyawa flavonoid dalam merendam radikal bebas erat hubungannya dengan struktur dasar yang dimiliki oleh senyawa flavonoid yang mengandung gugus hidroksil sehingga mampu menyumbangkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan suatu radikal bebas sehingga radikal bebas yang terbentuk memiliki sifat yang stabil. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi disebabkan adanya senyawa yang berperan besar sebagai antioksidan alami pada tumbuhan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak daun benalu *Helixanthera cylindrica* (Jack) Dancer pada tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} 28.74 ppm menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

Conflict of Interest

Semua penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan.

Acknowledgement

Penelitian ini dibiayai oleh Kemendikbudristek tahun 2024 melalui skema Penelitian Dosen Pemula Afiriasi dengan nomor kontrak 118/E5/PG.02.00.PL/2024.

Supplementary Materials

References

- [1] Staniek, K., Gille, L. 2010. Is thymoquinone an antioxidant? e BMC Pharmacology 2010, 10(Suppl1): A9. <https://bmcpharma.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2210-10-S1-A9>.
- [2] Kuntorini, E.M., dan Astuti, M.D. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine AmericanaMerr). Jurnal Sains dan Terapan Kimia. 4(1):15-22.
- [3] Jawi, I.M., Suprpta, N.D., dan Sutirtayasa, I.W.P. 2007. Efek Antioksidan Ekstrak Umbi Ubijalar Ungu (Ipomoiea batatas L.) terhadap Hati Setelah Aktivitas Fisik Maksimal dengan Melihat Kadar AST dan ALT Darah pada Mencit. Dexa Media, 20 (3) 65-71.
- [4] Badarinath, A., Rao, K., Chetty C.S., Ramkanth, S., Rajan, T., and Gnanaprakash, K. 2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations. International Journal of PharmTech Research, 2010: 1276-1285.
- [5] Mandal, S., Yadav, S., Nema, R. 2009. A Review: Antioxidants. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2009. 102-104.
- [6] Erguder, B., Avci, A., Devrim, E., and Durak, I. 2007. Effects of cooking techniques on antioxidant enzyme activities of some fruits and vegetables. Turk. J. Med. Sci., 37(3): 151-156.
- [7] Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Cetakan ke-1. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- [8] Wilar, F.K., Mongi, J., Kanter, J.W., Potalangi, N.O. 2021. Uji Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Benalu (*Helixanthera cylindrica* (Jack) Danser) di Tanaman Kelor pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan. Skripsi. Fakultas MIPA UKI Tomohon.
- [9] Besin, C. S. M., Kanter, J. W., Maarisit, W., Tumbel, S. L., Pareta, D. N., & Montolalu, F. M. 2024. Studi Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) Pada Tanaman Pala. Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical), 7(1), 27–32. <https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v7i1.447>.
- [10] Musfiroh, E., dan Syarif, S.H. 2012. Uji aktivitas peredaman radikal bebas nanopartikel emas dengan berbagai konsentrasi sebagai material antiaging dalam kosmetik. UNESA Journal of Chemistry. 1(2):18-25.
- [11] Nurjanah, Izzati, L., dan Abdullah, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). ILMU KELAUTAN ISSN 0853-7291, September 2011. Vol. 16 (3) 119-124.
- [12] Rosane L.C., G.P. Zandoná, R.C. Rossi, C.D. Ferreira, J.F. Hoffmann. 2023. Solid-phase extraction for determination of phenolic compounds in food and beverage. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Elsevier. ISBN 9780124095472, <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15978-7.00001-1>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780443159787000011>)
- [13] Yang, H., Q. Zhang, Y. Zeng, C. Cheng, T.E. Coldea, H. Zhao. 2024. Differences in structure, stability and antioxidant activity of melanoidins from lager and ale beers. Journal Lwt;205(April):116517. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116517>.
- [14] Chen, T., Q. Zeng, M. Cao, L. Zhang, B. Adyari, C. Ma. 2024. In vitro antioxidant activity of *Moringa oleifera* Lam. leaf after *Monascus purpureus* fermentation and chemical component changes by untargeted metabolomics. Jo you're na f. Environ Res;118344. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118344>.
- [15] Wonggo, D., C. Anwar, V. Dotulong, A. Reo, N. Taher, R.A. Syahputra, et al. 2024. Subcritical water extraction of mangrove fruit extract (*Sonneratia alba*) and its antioxidant activity, network pharmacology, and molecular connectivity studies. J Agric Food Res. ;18(May):101334. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101334>.

- [16] Ayed, A., L. Caputo, V. De Feo, H.S. Elshafie, F. Fratianni, F. Nazzaro, et al. 2024. Antimicrobial, anti-enzymatic and antioxidant activities of essential oils from some Tunisian Eucalyptus species. *Heliyon.*;10(14):e34518. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34518>.
- [17] Rashid, Harun-Or.M., S. Akter, U. Habiba, F.R. Laboni, J. Uddin, Z.K. Labu, et al. 2023. Antioxidant, antibacterial, cytotoxic and thrombolytic activities of flowers of *Mirabilis jalapa* L: Possible role of phenolics and flavonoids. *J Agric Food Res*:100893. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100893>.
- [18] Namuga, C., H. Muwonge, K. Nasifu, P. Sekandi, T. Sekulima, J.B. Kirabira. 2024. *Hoslundia opposita* vahl is a potential source of bioactive compounds with antioxidant and antibiofilm activity for wound healing. *BMC Complement Med Ther.*;24(1):1–16.
- [19] Ayad, R., S. Akkal. 2019. Chapter 12 - Phytochemistry and biological activities of Algerian *Centaurea* and related genera, Editor(s): Atta-ur-Rahman, *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, Volume 63. Pages 357-414. ISSN 1572-5995, ISBN 9780128179017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817901-7.00012-5>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128179017000125>)
- [20] Ridho, E. A., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL). Naskah Publikasi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.