**Uji Kualitatif Aktivitas Radikal Bebas DPPH dari
Daun Penggugut (*Knema pallens* W.J.deWilde)**

**Qualitative Test of DPPH Radical Scavenging Activity from
Penggugut Leaves (*Knema pallens* W.J.deWilde)**

Annisa Anugrah Putri*, Hifdzur Rashif Rija'i, Laode Rijai

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: annisaanugrah24@gmail.com

Abstrak

Penggugut (*Knema pallens* W.J.deWilde) merupakan tanaman endemik Kalimantan yang termasuk kedalam famili *Myristicaceae* atau suku pala-palaan. Tanaman penggugut dapat ditemukan di habitat hutan dataran rendah, berpasir serta hutan bakau. Khasiat dan aktivitas dari tanaman penggugut khususnya daun belum banyak diketahui maupun diteliti. Sehingga, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui masing-masing persentase rendemen dari ekstrak dan fraksi daun penggugut dan untuk menentukan aktivitas radikal bebas DPPH dari daun penggugut. Metode yang digunakan diantaranya ekstraksi, fraksinasi cair-cair dan Kromatografi Lapis Tipis dengan menyemprotkan radikal bebas DPPH. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini didapatkan persentase rendemen diantaranya ekstrak metanol sebesar 8,04%, fraksi n-heksana sebesar 28,9%, fraksi etil asetat sebesar 7,83% dan fraksi n-butanol sebesar 9,8%. Pada uji kualitatif didapatkan noda yang terbukti memiliki aktivitas menghambat radikal bebas dengan ditandai noda warna kuning dengan latar belakang berwarna ungu diantaranya pada ekstrak metanol yaitu 4 noda dengan nilai Rf (0,07 ; 0,14 ; 0,29 ; 0,43), pada fraksi n-heksana yaitu 3 noda dengan nilai Rf (0,1 ; 0,21 ; 0,43), pada fraksi etil asetat yaitu 5 noda dengan nilai Rf (0,07 ; 0,17 ; 0,29 ; 0,43 ; 0,53) dan pada fraksi n-butanol tidak didapatkan noda.

Kata Kunci: *Knema pallens* W.J.deWilde, KLT, Daun Penggugut, DPPH

Abstract

Penggugut (*Knema pallens* W.J. deWilde) is an endemic plant from Kalimantan belongs to *Myristicaceae* or the nutmeg family. Penggugut can be found in habitats like lowland forest, sandy forests and mangroves. The efficacy and activity of penggugut especially the leaves, have not been

widely known or studied. So that make the purpose was to know about the percentage yield of extract and fraction from penggugut leaves and to know the activity of Radical Scavenging DPPH from penggugut leaves. The methods used include extraction, liquid-liquid fractionation and TLC by spraying DPPH. The results there are percentage of yield : methanol extract is 8,04%, n-hexane fraction is 28,9%, ethyl acetate fraction is 7,83% and n-butanol fraction is 9,8%. In the qualitative test, it was found that the spots have activity of Radical Scavenging were marked with yellow spots on a purple background, there are in the methanol extract have 4 spots with Rf values (0,07; 0,14; 0,29; 0,43), the n-hexane fraction have 3 spots with Rf values (0,1; 0,21; 0,43), the ethyl acetate fraction have 5 spots with Rf values (0,07; 0,17; 0,29; 0,43; 0,53) and the n-butanol fraction did not get any spots.

Keywords: *Knema pallens* W.J.deWilde, TLC, Penggugut Leaves, DPPH

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v14i1.544>

1 Pendahuluan

Tanaman Penggugut (*Knema pallens* W.J.deWilde) adalah salah satu tanaman endemik Kalimantan yang tumbuh di sekitar hutan dataran rendah, hutan bakau dan hutan berpasir dengan ketinggian 300 meter. Penggugut mempunyai tinggi pohon sekitar 8 hingga 30 meter dengan diameter dapat mencapai 36 cm. Ranting mempunyai diameter sekitar 5 sampai 12 milimeter. Batang memiliki ciri terdapat getah merah. Daun berwarna hijau tua dengan permukaan bawah pucat dengan ukuran yang sangat besar, Mempunyai bunga berdiameter antara 5-20 mm dengan warna coklat kekuningan [2].

Khasiat dan manfaat Tanaman ini belum diketahui dengan jelas karena referensi pada tanaman ini belum banyak ditemukan. Dalam klasifikasi berdasarkan genus *Knema* diketahui bahwa beberapa tanaman genus ini memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, asetofenon, resorsinol, lignan, dan turunan fenilalkilfenol. Berdasarkan literatur, tanaman genus *Knema* juga menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri, sitotoksitas, antinematodal, dan penghambatan asetilkolinesterase [4]. Minimnya penelitian menggunakan Tanaman Penggugut baik untuk pengujian terkait aktivitas antiradikal, memicu latar belakang pada penelitian ini untuk mencari aktivitas peredaman radikal bebas DPPH pada ekstrak dan fraksi daun tanaman

penggugut dengan metode Kromatografi Lapis Tipis.

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi sampel daun penggugut (*Knema pallens* W.J.deWilde) yang diperoleh dari BKSDA (Balai Konservasi Sumber Daya Alam) Kalimantan Timur dengan nomor koleksi : FF14.21, aquades, metanol, n-heksana, etil asetat, n-butanol, DPPH (*2,2-difenil-1-pikrihidrazil*), metanol absolute, aluminium foil, kertas saring, plat KLT, pereaksi dragendorf, pereaksi mayer, pereaksi wagner, pereaksi Lieberman-bouchard, serbuk magnesium, FeCl₃, HCl.

2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi toples kaca, batang pengaduk, *Rotary Evaporator*, wadah ekstrak dan fraksi, corong pisah, gelas kimia, kaca arloji, chamber, lampu UV 254 nm dan 366 nm, corong kaca, desikator, oven, pipa kapiler, pipet tetes, pipet ukur, tabung reaksi, penjepit tabung, hotplate, rak tabung, botol coklat, pinset, botol spray KLT, etiket.

2.3 Prosedur

Prosedur penelitian ini meliputi pembuatan simplisia, maserasi, fraksinasi cair-cair, menghitung % rendemen, skrining fitokimia dan uji kualitatif KLT menggunakan DPPH.

2.3.1 Pembuatan simplisia

Penelitian dilakukan dengan mengumpulkan bahan baku daun dari tanaman penggugut (*Knema pallens* W.J.deWilde), lalu bahan baku diolah menjadi simplisia dengan mula-mula mencuci bersih daun penggugut lalu dikeringkan di tempat terhindar sinar matahari, dilakukan perajangan dan penghalusan pada daun penggugut yang kering, dan dikumpulkan sampel menjadi simplisia.

2.3.2 Maserasi

Simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemilihan pelarut metanol karena merupakan pelarut polar yang diharapkan dapat menarik semua komponen senyawa baik dari polar, semipolar hingga nonpolar. Simplisia yang telah di maserasi dengan metanol ditampung dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Ekstrak pekat disimpan dalam desikator hingga kering.

2.3.3 Fraksinasi Cair-cair

Proses fraksinasi cair-cair mulai-mula diambil ekstrak metanol yang telah kering sebanyak 10gram lalu dilarutkan menggunakan aquades dan difraksinasi menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya. Pelarut dimulai dari pelarut non polar hingga polar yaitu n-heksana, etil asetat dan n-butanol. Fraksi yang didapatkan ditampung dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Fraksi pekat disimpan dalam desikator hingga kering.

2.3.4 Menghitung % Rendemen

Ekstrak dan fraksi yang sudah kering dihitung % rendemennya. Pada perhitungan rendemen ekstrak dengan cara membagi berat ekstrak kering yang didapatkan dengan jumlah simplisia yang digunakan lalu dikali dengan 100%. Pada perhitungan fraksi dengan cara membagi berat fraksi kering dengan berat ekstrak yang digunakan saat fraksinasi lalu dikali dengan 100%.

2.3.5 Skrining Fitokimia

Simplisia, ekstrak dan tiap fraksi dilakukan skrining fitokimia berupa uji alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan saponin. Pada uji alkaloid digunakan 3 reagen yaitu dragendorff, wagner dan mayer. Hasil positif pada pereaksi dragendorff adanya endapan jingga, pada pereaksi mayer hasil positif menunjukkan ada endapan putih kekuningan dan pada pereaksi wagner adanya endapan coklat menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid [3][5].

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan larutan HCl pekat dan serbuk magnesium pada sampel. Hasil positif menunjukkan adanya warna merah pada sampel jika mengandung flavonoid [5].

Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan pereaksi FeCl_3 10% pada sampel. Hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi hijau biru atau hijau pada sampel jika mengandung fenolik [3].

Uji steroid dilakukan dengan menambahkan pereaksi *Liebermann Burchard* pada sampel. Hasil positif menunjukkan perubahan warna biru atau hijau pada sampel jika mengandung steroid [1].

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan air panas pada sampel dan digojog selama beberapa menit. Hasil positif adanya busa yang stabil setelah penambahan HCl 2N jika sampel mengandung saponin [1].

2.3.6 Uji kualitatif KLT menggunakan DPPH

Pada uji kualitatif mula-mula dilakukan pelarutan sampel ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol daun penggugut dengan menggunakan pelarut etil asetat. Selanjutnya diaktifkan plat KLT dengan dioven dan ditotol ekstrak dan tiap fraksi pada KLT. Selanjutnya dilakukan elusi menggunakan eluen terbaik yang didapatkan yaitu N-heksana : Etil Asetat (2:1). Setelah dielusi, plat KLT disemprot menggunakan DPPH 200 ppm dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif adalah jika terdapat noda berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu dan dihitung nilai R_f nya.

3 Hasil dan Pembahasan

Data hasil penelitian ini meliputi data % rendemen ekstrak dan fraksi daun penggugut,

data skrining fitokimia dan data uji kualitatif Kromatografi Lapis Tipis menggunakan DPPH 200 ppm.

3.1 Data % Rendemen

Tabel 1 Data % Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Penggugut

Jenis Sampel	Rendemen
Ekstrak Metanol	8,04 %
Fraksi N-heksana	28,9 %
Fraksi Etil Asetat	7,83 %
Fraksi N-butanol	9,8 %

Tabel 1 merupakan data persentase rendemen dari ekstrak dan fraksi daun penggugut. Pada % rendemen ekstrak metanol yang didapatkan dihitung dengan cara membagi berat ekstrak kering yang didapat (54,63 gram) dengan berat simplisia yang digunakan (679 gram) lalu dikali 100%. Sehingga, didapatkan % rendemen ekstrak metanol daun penggugut yaitu sebesar 8,04%. Perhitungan persentase rendemen fraksi juga dengan cara membagi berat fraksi kering yang didapat masing-masing (gram) dengan berat ekstrak yang digunakan pada fraksinasi cair-cair (gram) lalu dikali 100%. Sehingga, didapatkan % rendemen fraksi daun penggugut diantaranya fraksi n-heksana sebesar 28,9%, fraksi etil asetat 7,83% dan fraksi n-butanol 9,8%.

3.2 Data Uji Skrining Fitokimia

Tabel 2 menunjukkan data skrining fitokimia dari simplisia, ekstrak dan tiap fraksi dari daun penggugut. Skrining fitokimia merupakan tahapan awal untuk mengetahui kandungan senyawa pada daun penggugut yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga mampu menunjang uji kualitatif peredaman radikal bebas DPPH. Didapatkan hasil dari skrining fitokimia diantaranya pada simplisia didapatkan hasil yaitu positif flavonoid, fenolik dan steroid. Pada ekstrak metanol didapatkan hasil yaitu positif alkaloid pada pereaksi dragendorff dan pereaksi mayer serta positif fenolik. Pada fraksi n-heksana didapatkan hasil positif steroid. Pada fraksi etil asetat didapatkan hasil yaitu positif alkaloid pada pereaksi dragendorff serta positif steroid. Pada fraksi n-butanol didapatkan hasil yaitu positif steroid.

3.3 Data Uji Kualitatif KLT

Pada Gambar 1 menunjukkan plat KLT yang sebelum dan yang sesudah disemprot DPPH 200 ppm. Pada plat yang belum disemprot DPPH menunjukkan beberapa spot noda yang terelusi dan dapat dilihat secara visible, dengan sinar uv 254 nm dan juga dengan sinar uv 366 nm. Pada plat KLT tersebut dilakukan penyemprotan DPPH 200 ppm atau sebagai radikal bebas untuk membuktikan apakah pada ekstrak dan fraksi daun penggugut mempunyai aktivitas peredaman radikal bebas.

Tabel 2 Data Uji Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	Simplisia	Ekstrak metanol	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi n-butanol
Alkaloid	Dragendorff	-	+	-	+
	Mayer	-	+	-	-
	Wagner	-	-	-	-
Flavonoid	+	-	-	-	-
Fenolik	+	+	-	-	-
Steroid	+	-	+	+	+
Saponin	-	-	-	-	-

Gambar 1 Hasil uji kualitatif Kromatografi Lapis Tipis dengan menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak atau eluen dengan perbandingan n-heksana : etil asetat (2 : 1). Plat sebelum disemprot DPPH 200 ppm : (1) visible , (2) pada lampu UV 254 nm, (3) pada lampu UV 366 nm dan Plat setelah disemprot DPPH 200 ppm : (4) visible, (5) pada lampu UV 254 nm, (6) pada lampu UV 366 nm.

Keterangan : Ex = Ekstrak Metanol N = Fraksi N-heksana E = Fraksi Etil Asetat B = Fraksi N-butanol

Noda yang ditotol pada plat KLT berturut-turut dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol. Setelah penyemprotan DPPH 200 ppm didapatkan hasil positif berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu yang dapat dilihat secara visible pada gambar. Pemilihan radikal bebas DPPH dipilih pada pengujian antiradikal menggunakan plat KLT dikarenakan prinsip dalam pengujiannya cukup mudah, yaitu ketika sampel atau senyawa yang mempunyai aktivitas peredaman radikal bebas akan mampu mendonorkan atom hidrogen yang menyebabkan larutan DPPH yang semula berwarna ungu akan memudar dan sampel yang positif akan berwarna kuning, hal ini yang menandakan bahwa senyawa radikal bebas DPPH telah tereduksi [6].

Pada plat KLT yang telah disemprot DPPH 200 ppm menunjukkan hasil positif pada ekstrak metanol dengan 4 noda, fraksi n-heksana dengan 3 noda dan fraksi etil asetat dengan 5 noda. Rincian lengkapnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3 Data Uji KLT dengan Penyemprotan DPPH 200 ppm

No	Sampel	Noda	Rf	Warna
1	Ekstrak Metanol	4	0,07	Kuning
			0,14	Kuning
			0,29	Kuning
			0,43	Kuning
2	Fraksi N-heksana	3	0,1	Kuning
			0,21	Kuning
			0,43	Kuning
3	Fraksi Etil Asetat	5	0,07	Kuning
			0,17	Kuning
			0,29	Kuning
			0,43	Kuning
4	Fraksi N-butanol	0	0,53	Kuning
			0	-

Tabel 3 menunjukkan jumlah noda pada tiap ekstrak dan fraksi daun penggugut. Pada ekstrak metanol nilai Rf yang didapat dari 4 noda diantaranya 0,07 ; 0,14; 0,29 ; 0,43. Pada fraksi n-heksana nilai Rf yang didapat dari 3 noda diantaranya 0,1 ; 0,21 ; 0,43. Pada fraksi etil asetat nilai Rf yang didapat dari 5 noda diantaranya 0,07 ; 0,17 ; 0,29 ; 0,43 ; 0,53 dan pada fraksi n-butanol tidak didapatkan noda. Sehingga ekstrak dan fraksi yang memiliki aktivitas meredam radikal bebas DPPH adalah ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat.

4 Kesimpulan

Hasil kualitatif pada ekstrak dan fraksi daun penggugut pada penghambatan radikal bebas DPPH menunjukkan hasil positif dapat menghambat dengan ditunjukan adanya noda warna kuning dengan latar belakang berwarna ungu diantaranya pada ekstrak metanol yaitu 4 noda dengan nilai Rf (0,07 ; 0,14 ; 0,29 ; 0,43), pada fraksi n-heksana yaitu 3 noda dengan nilai Rf (0,1 ; 0,21 ; 0,43), pada fraksi etil asetat yaitu 5 noda dengan nilai Rf (0,07 ; 0,17 ; 0,29 ; 0,43 ; 0,53) dan pada fraksi n-butanol tidak didapatkan noda.

5 Kontribusi Penulis

Annisa Anugrah Putri: Melakukan penelitian, pengumpulan data serta melakukan penyusunan manuskrip. Laode Rijai dan Hifdzur Rashif Rija'i : Pembimbing, pengarah dalam penelitian serta penyelarasan akhir manuskrip.

6 Konflik Kepentingan

Tidak terdapat konflik kepentingan pada penelitian ini.

7 Daftar Pustaka

- [1] Akasia Alanis Ismi, I Dewa Nyoman Nurweda Putra, dan I Nyoman Giri Putra. 2021. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal Of Marine Research And Technology* vol. 4 (1), 16-22.
- [2] W. J. J. O. DeWilde. 2000. Flora Malesiana Series I - Seed Plants *Myristicaceae*. *Nationaal Herbarium Nederland* vol. 14.
- [3] Roanisca Ocra dan Robby Gus Mahardika. 2021. Skrining Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binjai (*Mangifera caesia*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Pharmascience*, vol. 8 (2), 9-16.
- [4] Salleh Wan Mohd Nuzul Hakimi Wan dan Farediah Ahmad. 2017. Phytochemistry and biological activities of the genus *Knema* (*Myristicaceae*). *Pharmaceutical Sciences*, vol. 23, 249-255.
- [5] Sukmawaty Eka, H. Hafsan, Mashuri Masri, Inna Shintia, Sinar Wahyuni, dan Ulfa Nur Alfriani Amir. 2021. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Cendawan Endofit *Aspergillus* sp. *Jurnal Biotik* vol. 8 (2), 218-231.
- [6] Erlidawati, Safrida, & Mukhlis. 2018. *Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes* (1st ed.). Syiah Kuala University Press.