



## Uji Antioksidan Daun Kokang (*Lepisanthes amoena*) dengan Metode DPPH

### Antioxidant Analysis of Kokang Leaves (*Lepisanthes amoena*) Using DPPH Method

Siti Anisah Nur Fajriyati\*, M Arifuddin, Hadi Kuncoro

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

\*Email: [Sitianisah60@gmail.com](mailto:Sitianisah60@gmail.com)

#### Abstract

Kokang Leaf (*Lepisanthes amoena*) as a traditional cosmetic for the Dayak Benuaq and Tunjung tribe is very important to be developed in medicine because it is contain secondary metabolites as antioxidants. This research was conducted with the aim of knowing the yield of kokang leaves (*Lepisanthes amoena*), the profile of TLC, and knowing the fraction with the greatest antioxidants in kokang leaves (*Lepisanthes amoena*). The research used DPPH, KLT, and yield calculation method. The yield obtained in ethanol extract 96% = 23%; N-Hexan = 9.448%; Ethyl Acetate = 1.37%; Ethanol 70% = 9.95%. TLC test results using N.Hexan : Ethyl Acetate (2: 1) eluent and then sprayed with 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, in 96% ethanol extract there were 7 stains, N-Hexan Fraction 9 stains, Ethyl Acetate Fraction 5 stains, and Ethanol Fraction 70 % 1 stain. The qualitative test results after spraying DPPH on TLC, there were yellow spots on a purple background indicating antioxidant activity. The IC<sub>50</sub> results were obtained in 96% Ethanol Extract 6.8171 ppm, N-Hexan Fraction 10.0184 ppm, Ethyl Acetate Fraction 5.0107 ppm, and Ethanol 70% Fraction 24.7343 ppm. Based on the results above, it can be concluded that the ethyl acetate extract has the highest antioxidant activity with 5.0107 ppm being able to inhibit DPPH radicals.

**Keywords:** Antioxidants, *Lepisanthes Amoena*, Kokang Leaves, DPPH

#### Abstrak

Daun Kokang (*Lepisanthes amoena*) sebagai kosmetik tradisional suku dayak benuaq dan tunjung sangat penting untuk dikembangkan dalam pengobatan karena diduga memiliki kandungan metabolit sekunder sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui rendemen daun kokang (*Lepisanthes amoena*), profil KLT, dan mengetahui fraksi dengan antioksidan paling besar pada daun kokang (*Lepisanthes amoena*). Metode penelitian yang dilakukan menggunakan metode DPPH, profil KLT dan perhitungan rendemen. Hasil rendemen yang

didapatkan pada ekstrak Etanol 96% = 23%; N-Hexan = 9,448%; Etil Asetat = 1,37%; Etanol 70% = 9,95%. KLT dengan menggunakan eluen N.Hexan : Etil Asetat (2:1) lalu disemprot dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 %, pada ekstrak etanol 96 % terdapat 7 noda, Fraksi N-Hexan 9 noda, Fraksi Etil Asetat 5 noda, dan Fraksi Etanol 70 % 1 noda. Hasil uji kualitatif setelah penyemprotan DPPH pada KLT, terdapat bercak berwarna kuning pada latar ungu menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Hasil IC<sub>50</sub> didapatkan pada Ekstrak Etanol 96 % yaitu 6,8171 ppm, pada Fraksi N-Hexan 10,0184 ppm, pada Fraksi Etil Asetat 5,0107 ppm etanol 70 % 24,7343 ppm. Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak Etil Asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan 5,0107 ppm sudah bisa menghambat radikal DPPH.

**Kata Kunci:** Antioksidan, *Lepisanthes Amoena*, Daun Kokang, DPPH

---

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.464>

---

## 1 Pendahuluan

Kalimantan memiliki kekayaan alam melimpah yang berpotensi sebagai obat dan tersebar di berbagai daerah. Salah satu sumber obat yang paling banyak digunakan adalah tumbuhan yang memiliki berbagai khasiat untuk pengobatan penyakit. Penelitian bahan alam khususnya pada tumbuhan merupakan hal yang sangat penting karena masih banyak senyawa pada tumbuhan yang belum diketahui aktivitasnya sebelum dijadikan suatu produk terutama di bidang pangan, obat-obatan maupun kosmetik. Oleh karena itu, berbagai macam metode dilakukan untuk meneliti adanya aktivitas senyawa tertentu pada tanaman [6]. Daun Kokang (*Lepisanthes amoena*) dari familia Sapindaceae. *L. amoena* dikenal dengan nama Kukang (Suku Kutai), Selekop (Suku Dayak Benuaq) , Langir (Jawa Barat) dan Rembia (Kalimantan Selatan). *L. amoena* secara empiris digunakan oleh suku dayak benuaq sebagai bedak dingin (pupur) untuk merawat kulit dan bekas jerawat. Sedangkan oleh suku kutai dan suku dayak tunjung digunakan untuk mengobati masalah pada kulit seperti noda hitam di wajah, bekas luka cacar dan bekas jerawat [6]. *L. amoena* memiliki golongan metabolit sekunder, seperti senyawa fenolik sebagai kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuh-tumbuhan, alkaloid yang memiliki cincin heterosiklik dan senyawa nitrogen dari tumbuhan berpotensi menghambat proses oksidatif, flavanoid sebagai penangkap radikal bebas karena

memiliki gugus hidroksil [2], tanin yang mempunyai sifat antioksidan sebagai penangkal radikal bebas penyebab penyakit salah satunya yaitu kanker, steroid yang termasuk dalam jenis antioksidan lipofilik [10], dan saponin sebagai peredam superoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas [9][11][7]. Selain itu menurut penelitian sebelumnya *L. amoena* dapat mengatasi berbagai macam permasalahan kulit seperti menghilangkan noda hitam, menghilangkan bekas jerawat, menjaga kulit, anti sinar UV, memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan serta penyembuh luka [3][6]. *L. amoena* berpotensi dan sangat penting untuk dikembangkan dalam pengobatan karena banyaknya kandungan golongan metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan adalah dengan metode peredaman radikal (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil) DPPH. Pengujian menggunakan DPPH sudah pernah dilakukan terutama pada penelitian antioksidan *L. amoena* dengan ekstrak methanol. Namun belum ada peneliti yang menguji DPPH dengan ekstrak Etanol 96% dan fraksinasi metode cair-padat. Oleh karena itu penelitian ini digunakan untuk membandingkan peredaman terbesar oleh ekstrak dan fraksi *L. amoena* terhadap radikal DPPH [3].

## 2 Metode Penelitian

### 2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Air suling, Alumunium foil, Asam Sulfat 10%, Daun Kokang (*Lepisanthes amoena*), DPPH, Etanol 70%, Etanol 96%, Etil Asetat, Metanol Absolute, N-Hexan, Plat KLT.

### 2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Batang pengaduk, Cawan porselen, Chamber, Corong Kaca, Desikator, Gelas kimia, Hot plate stirrer, Kaca arloji, Kuvet, Labu Erlenmeyer, Labu ukur, Lampu UV 254 nm, Lampu UV 366 nm, Mikropipet, Oven, Pipa kapiler, Pipet ukur, Propipet, Rak tabung reaksi, Rotary evaporator, Spatel, Spektrofotometri UV-Vis, Stirrer bar, Tabung reaksi, Tabung sentrifuge, Timbangan analitik.

### 2.3 Prosedur

Prosedur penelitian terdiri dari pembuatan simplisia, prosedur ekstraksi, prosedur fraksinasi, prosedur pengujian DPPH.

#### 2.3.1 Pembuatan Simplisia

Sampel daun kokang (*Lepisanthes amoena*) segar sebanyak 1 kg diambil dari daerah Tenggarong, Kalimantan Timur. Sampel terlebih dahulu dikumpulkan lalu dibersihkan dari zat pengotor yang menempel pada daun kokang. Kemudian sampel dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan. Selanjutnya daun kokang yang telah bersih dikeringkan dengan diangin-anginkan. Setelah proses pengeringan maka didapatkan simplisia daun kokang kering yang siap untuk diekstraksi.

#### 2.3.2 Prosedur Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Pertama, daun kokang kering 500 g ditambahkan dengan etanol 96%. Wadah maserasi ditutup dan lalu direndam hingga tersari dan disimpan tempat terlindung dari sinar matahari. Direndam hingga simplisia tersari, dilakukan penyarian hingga larutan menjadi bening. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtratnya lalu

diuapkan larutan ekstrak dengan rotary evaporator [12].

#### 2.3.3 Prosedur Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-padat menggunakan pelarut n-heksan. Setelah itu dipisahkan bagian yang larut n-heksan ke dalam tabung sentrifuge hingga semua tabung terisi merata. Lalu dinyalakan alat sentrifuge dan diatur waktu kerja alat selama 15 menit. Setelah itu, dikeluarkan bagian supernatnya, dan ampasnya ditambahkan lagi pelarut n-heksan sebanyak 200 mL untuk dipartisi kembali hingga larutan terlihat bening. Selanjutnya ampas (tidak larut n-heksan) ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 200 mL dan diaduk menggunakan magnetic stirrer kemudian dipisahkan yang larut etil asetat kedalam tabung sentrifuge lalu disentrifuge selama 15 menit. Setelah itu, dikeluarkan bagian supernatnya. Ampasnya ditambahkan lagi pelarut etil asetat sebanyak 200 ml dan dipartisi kembali. Perlakuan ini dilakukan terus-menerus hingga larutan terlihat bening. Selanjutnya ampas (tidak larut etil asetat) ditambahkan pelarut etanol 70 % sebanyak 200 ml dan diaduk menggunakan magnetic stirrer kemudian dipisahkan yang larut etanol 70% ke dalam tabung sentrifuge dan disentrifuge selama 15 menit kemudian dikeluarkan bagian supernatnya. Ampasnya ditambahkan lagi pelarut etanol 70% sebanyak 200 mL dan dipartisi kembali. Perlakuan ini dilakukan terus menerus hingga larutan terlihat bening. Selanjutnya, hasil partisi dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian ditimbang untuk diperoleh berat masing-masing ekstrak [5].

#### 2.3.4 Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 4 mg dan dilarutkan dengan methanol absolute hingga 100 ml dalam labu ukur. Larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 2 ml dan ditambahkan 2 ml metanol absolute dalam tabung reaksi, larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit dalam keadaan gelap. Selanjutnya, diukur dengan spektrofotometri UV-Vis gelombang 500-520 nm [8].

### 2.3.5 Pembuatan Seri Konsentrasi Sampel

Penentuan seri konsentrasi dimulai dengan membuat masing-masing ekstrak menjadi 1000 ppm yaitu 5 mg sampel dilarutkan dalam 50 ml etanol [4].

### 2.3.6 Pengujian Pada Sampel

Ekstrak daun kokang seri konsentrasi 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm dari masing-masing konsentrasi diambil 2 ml lalu ditambahkan dengan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 2 ml, lalu dikocok dengan vortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, serapan diukur pada panjang gelombang 519 nm [8].

## 3 Hasil dan Pembahasan

### 3.1 Hasil Rendemen Daun Kokang

Hasil ekstraksi *L.amoena* didapatkan rendemen dari setiap ekstrak, adapun hasil rendemen dan berat ekstrak dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Berat ekstrak dan rendemen

Ekstrak	Berat	Hasil
Etanol 96 %	115 g	23 %
N-hexan	0,945 g	9,45 %
Etil Asetat	0,137 g	1,37 %
Etanol 70%	0,995 g	9,95 %

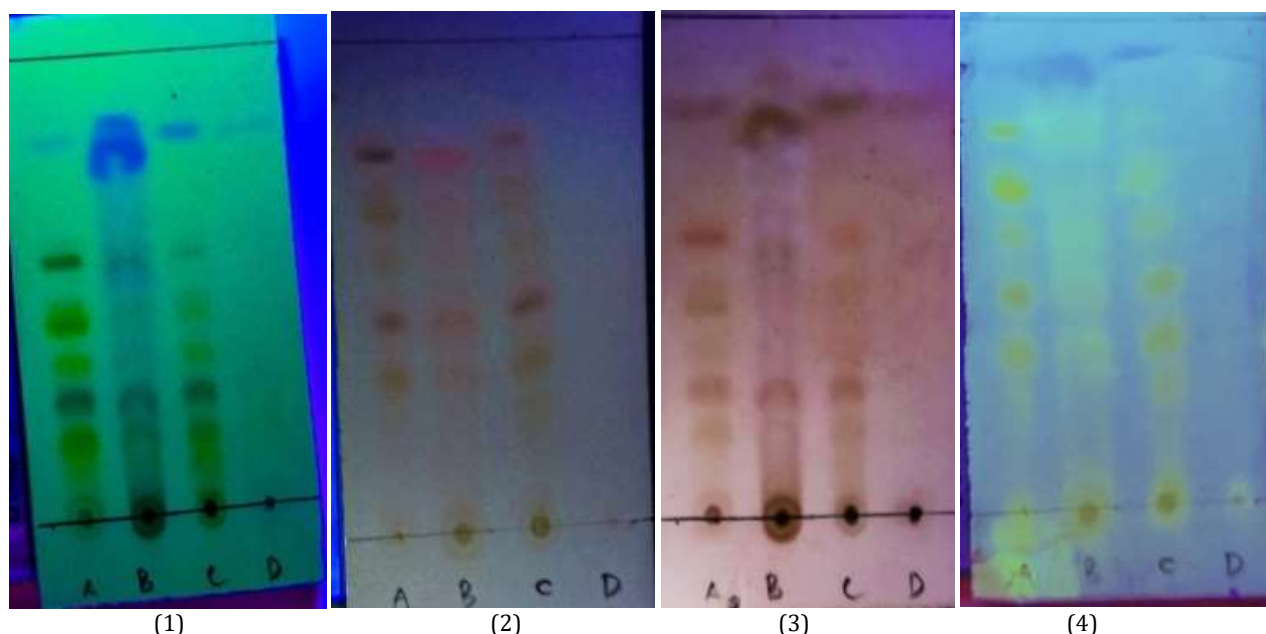
Dari tabel 1 dapat diketahui hasil ekstraksi daun kokang sebanyak 500 g yang dilakukan dengan Maserasi dan difraksinasi dengan metode cair-padat dengan pelarut etanol 96 % menghasilkan ekstrak awal sebanyak 115 g (rendemen 23%), fraksi n-

hexan sebanyak 0,945 g (rendemen 9,45%), fraksi etil asetat sebanyak 0,137 g (rendemen 1,37%), fraksi etanol 70 % sebanyak 0, 995 g (rendemen 9,95%).

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% untuk mengurangi kadar air sehingga lebih mempercepat penguapan ekstrak, selain itu tidak toksik dan dapat melarutkan dengan baik senyawa golongan flavonoid yang memiliki kemampuan mengikat radikal bebas. Etanol juga mampu melarutkan senyawa polar, semi polar maupun senyawa nonpolar. Untuk fraksinasi digunakan pelarut n-hexan untuk menarik senyawa non polar, etil asetat senyawa semi polar, dan etanol 70 % senyawa polar. Adapun metode ekstraksi dengan maserasi digunakan karena lebih banyak menarik senyawa metabolit sekunder dan menghindari ekstraksi metode panas yang dapat merusak beberapa jenis senyawa sehingga dapat merusak aktivitas antioksidan sampel. fraksinasi cair-padat digunakan untuk mendapatkan rendemen yang lebih banyak [13][14].

### 3.2 Hasil Profil KLT Dan Uji Kualitatif

Hasil profil KLT dengan menggunakan eluen N.Hexan-Etil Asetat (2:1). Sistem eluen tersebut digunakan karena lebih banyak memisahkan noda yang beraktivitas anti-radikal bebas dibandingkan sistem eluen lain yang telah diujikan. Lalu disemprot dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 %, pada ekstrak etanol 96 % terdapat 7 noda, Fraksi N-Hexan 9 noda, Fraksi Etil Asetat 5 noda, dan Fraksi Etanol 70 % 1 noda. Hasil uji kualitatif setelah penyemprotan DPPH pada KLT, terdapat bercak berwarna kuning pada latar ungu menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram hasil Uji KLT dan Uji Kualitatif ekstrak etanol 96% Daun Kokang menggunakan fase diam silica gel 60 F254, dan fase gerak N.Hexan-Etil Asetat (2:1): (1) Uji KLT pada lampu UV 254 nm; (2) Uji KLT pada lampu UV 366 nm; (3) Uji KLT pada setelah disemprot pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, dilihat dibawah sinar tampak; (4) KLT setelah disemprot larutan DPPH 100 ppm..

Keterangan pada plat: A = Etanol 96%, B = N-Hexan, C = Etil Asetat, dan D = Etanol 70%

Dari gambar 1(1) dapat diketahui bahwa hasil pengamatan pada UV 254 nm menunjukkan pada ekstrak etanol 96% terdapat 7 noda, Fraksi N-Hexan 5 noda, Fraksi Etil Asetat 6 noda, dan Fraksi Etanol 70 % 1 noda.

Dari gambar 1.2) dapat diketahui bahwa hasil pengamatan pada UV 366 nm menunjukkan pada ekstrak etanol 96% terdapat 5 noda, Fraksi N-Hexan 5 noda, Fraksi Etil Asetat 5 noda, dan Fraksi Etanol 70 % 1 noda.

Hasil uji kualitatif pada gambar 1(3) menunjukkan bahwa noda pada ekstrak etanol 96%, N-hexan, Etil Asetat, dan etanol 70% memberikan reaksi positif terhadap senyawa flavonoid, yaitu menunjukkan warna kuning setelah disemprot H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, dilihat di bawah sinar tampak. Dari hasil pengamatan pada ekstrak etanol 96% terdapat 7 noda, Fraksi N-Hexan 9 noda, Fraksi Etil Asetat 5 noda, dan Fraksi Etanol 70 % 1 noda.

Hasil uji kualitatif pada gambar 1(4) menunjukkan adanya noda berwarna kuning dengan latar belakang ungu hal ini menunjukkan adanya senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan.

### 3.3 Hasil Pengukuran Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH dengan Spektrofotometer UV-VIS

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH didapatkan hasil IC<sub>50</sub> yang dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Nilai IC<sub>50</sub> daun kokang

Sampel	Konsentrasi ppm	Nilai Probit	% Inhibisi	IC <sub>50</sub>
Etanol 96%	25	3,2735	4,175	6,8171 ppm
	50	3,5907	7,494	
	100	3,6919	8,779	
Fraksi N-heksan	25	5,6309	71,359	10,018 4 ppm
	50	5,6809	75,107	
	100	5,7872	78,211	
Fraksi Etil Asetat	25	5,2804	60,546	5,0107 ppm
	50	5,4565	66,809	
	100	5,5369	70,235	
Fraksi Etanol 70%	25	5,0860	52,730	24,734 3 ppm
	50	5,2380	59,207	
	100	5,8780	80,513	

Dari tabel 2 dapat diketahui bahwa persen peredaman DPPH meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun kokang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96%, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil

Asetat, dan Fraksi etanol 70% memiliki aktivitas radikal bebas.

Perbandingan aktivitas antioksidan dari daun kokang dapat dilihat dari hasil IC50 didapatkan pada Ekstrak Etanol 96 % yaitu 6,8171 ppm, pada Fraksi N-Hexan 10,0184 ppm, pada Fraksi Etil Asetat 5,0107 ppm etanol 70 % 24,7343 ppm. Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak Etil Asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan 5,0107 ppm sudah bisa menghambat radikal DPPH dan pada ekstrak etanol 96%, fraksi N-hexan, Fraksi Etil asetat, Fraksi Etanol 70% merupakan antioksidan sangat kuat karena secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm (IC50 < 50 ppm), kuat (50 ppm < IC50 < 100 ppm), sedang (100 ppm < IC50 < 150 ppm), lemah (150 ppm < IC50 < 200 ppm), dan sangat lemah (IC50 > 200 ppm) [1].

#### 4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan hasil uji kualitatif penyemprotan DPPH pada KLT, terdapat bercak berwarna kuning pada latar ungu menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Hasil IC50 dapat disimpulkan bahwa ekstrak Etil Asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan 5,0107 ppm sudah bisa menghambat radikal DPPH.

#### 5 Daftar Pustaka

- [1] Andriani Y, Wahid MEA Muhammad TST and Mohamad H, January 2011, Antibacterial, Radical - Scavenging Activities and Cytotoxicity Properties of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl leaves In HEPG2 Cell Lines. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, Volume 2, Issue 7 ISSN: 0975-8232.
- [2] Arifin b., 2018, 'Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid'. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- [3] Batubara, I. and Mitsunaga, T, 2013, 'Use of Indonesian Medicinal Plants Products Against Acne'. *Reviews in Agricultural Science*, 1(0), 11-30.
- [4] FJ Sami, Siti Rahimah, (2015). 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Dan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat)'. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia (JFFI)*. 2(2), 107-110
- [5] Haeria, Sukri, Muhammad Rusdi. 2016. 'Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak n-heksan Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm F.)'. *Majalah Farmasi, Sains, dan Kesehatan Pharmauho* 2(1), 13-16.
- [6] Henny Hidayah, Rolan Rusli, Herman, M. A. M., 2013, 'Potensi Ekstrak Daun Kokang (*Lepisanthes amoena* (Haask) Leenh) Sebagai Obat Luka'. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699.
- [7] Herman, 2013, 'Aktivitas Antioksidan Beberapa Tumbuhan Obat Kalimantan Timur'. *J. Trop. Pharm. Chem.*, 2(2), 100-10.
- [8] Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin: *Journal of Science and Technology*.
- [9] Rijai, L., 2012, 'Beberapa Tumbuhan Obat Asal Kalimantan Timur Sebagai Sumber Saponin Potensial'. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 1(4), 301-306.
- [10] Safrina D.H, Sri P., Ekowati H., 2014, 'Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih'. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), 80-91.
- [11] Salusu, H. D., Ariani, F., Obeth, E., Rayment, M., Budiarso, E., Kusuma, I. W., & Arung, E. T., 2017, 'Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Kokang (*Lepisanthes amoena*) Fruit. Agrivita'. *Journal of Agricultural Science*, 39(2), 214-218.
- [12] Senja, Yulia Rima, dkk. 2014. 'Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L var. *capitata* f. *Rubra*)'. *Journal of Faculty Of Pharmacy Univesitas Gadjah Mada*, Vol 19 (1), 43-48.
- [13] Tiwari, p., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. 2011. Phyrochemical screening and extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica scencia*, Vol.1 (1): 98-106.
- [14] Trusheva, B., Trunkova, D., Bankova, V. 2007. Different Extraction of Biologically active components from propolis; a Preliminary Study. In: *Chemistry Central Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.