

UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN TIIN (*Ficus Carica Linn*) DENGAN PELARUT AIR, METANOL DAN CAMPURAN METANOL-AIR

EVA AGUSTINA

Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya, Surabaya, Indonesia

*Corresponding author: agustina.eva001@gmail.com

ABSTRACT

Antioxidants can ward off free radicals in the body to resist oxidative damage caused by free radicals. The aim of this research is to know the influence of water solvent, methanol and methanol-water mixture to antioxidant activity. The extraction is done by maceration method. The extraction results in the phytochemical test and functional group analysis to determine the compounds contained in Pig leaf extract. Further testing of antioxidant activity with DPPH method. Pig leaf extract with methanol solvent has antioxidant activity with IC₅₀ 3,3005 µg / ml value, Pig leaf extract with water solvent has antioxidant activity 3,6976 µg / ml and Pig leaf extract with methanol solvent: water has antioxidant activity 13,6140 µg / ml. The IC₅₀ <50 µg / ml value indicates that the Pig leaf extract with some solvents has potent antioxidant potential. Pig leaf extract with methanol solvent has the best antioxidant activity with IC₅₀ 3,3005 µg / ml value because according to phytochemical test and functional group analysis that methanol solvent is able to extract more active compound such as flavonoid, Triterpenoid and Sterol, Alkaloid and Saponin followed by Pig leaf extract with water solvent and methanol mixture: water.

Keywords: Pig Leaf, Extraction, Phytochemical Test, Antioxidant Activity

PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari, kita tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas. Sumber pembentuk radikal bebas antara lain asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel. Reaksi ini sering disebut sebagai oksidasi (Umayah, 2007).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi. Senyawa antioksidan dapat melawan radikal bebas atau Reactive Oxygen Species (ROS) yang

terbentuk dari hasil metabolisme dalam tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit kanker, arteriosklerosis dan penuaan disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi. Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetis adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluene (BHT), dan tert-butil hidroksi quinon (TBHQ). Antioksidan alami adalah senyawa antioksidan yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan. Contoh antioksidan alami antara lain tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, karoten, asam tanat, asam galik (senyawa fenolik), asam ferulik (senyawa fenolik), quercetin (flavonoid) dan sebagainya. Antioksidan sintetis memiliki efektifitas yang tinggi namun

kurang aman bagi kesehatan sehingga penggunaannya diawasi secara ketat di berbagai negara. Sedangkan antioksidan alami memiliki sifat yang lebih aman apabila dikonsumsi oleh manusia. Salah satu tanaman yang diduga memiliki kandungan senyawa antioksidan yang tinggi adalah daun Tiin (Miryanti, 2011).

Dalam kitab suci Al-Qur'an terdapat surat khusus yang menyatakan tentang tanaman Tiin (Al-Qur'an-Surat At-Tiin ayat 1-3). Allah SWT menyebutkan tanaman tiin dalam surat tersendiri dalam Al-Quran pasti ada manfaat besar yang terkandung didalamnya yang dapat dimanfaatkan oleh umat manusia. Nabi Muhammad SAW juga bersabda, "Sekiranya aku katakan, Sesungguhnya buah yang turun dari Surga maka aku katakan, inilah buahnya (Tiin), sesungguhnya buah surga tiada keraguannya" (Hadis riwayat Abu Darba; Suyuti). Begitu istimewanya buah Tiin sampai-sampai Nabi Besar Muhammad SAW menyebutkan bahwa buah Tiin merupakan buah surga. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang kandungan apa saja yang terdapat dalam tanaman Tiin.

Tanaman Tiin yang memiliki nama ilmiah *Ficus carica* Linn merupakan keluarga Moraceae yang banyak tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Pohon Tiin sudah banyak dibudidayakan karena dipercaya banyak mengobati berbagai penyakit. Di Indonesia sendiri budidaya pohon Tiin ada di daerah Gresik Jawa Timur, dimana daun pohon tiin dimanfaatkan sebagai teh untuk mengobati penyakit diabetes. Dengan perkembangan ilmu pengetahuan banyak penelitian tentang kandungan dan manfaat pohon Tiin baik daun, buah maupun akarnya. Kandungan gizi dari Tiin antara lain serat, vitamin A, C, kalsium, magnesium dan potasium yang sangat diperlukan oleh tubuh. Selain itu adanya kandungan flavonoid, phenolik dan beberapa senyawa bioaktif seperti arabinose, β -amirin, β -karoten, glikosida, β -setosterol dan xanthol yang merupakan senyawa antioksidan (Joseph dan Raj, 2011).

Bagian dari tanaman Tiin yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan berturut-turut paling tinggi adalah daun-daging buah-kulit buah. Daun tiin dapat menghambat radikal bebas 70 % dengan metode DPPH dan 50% dengan metode oksidasi nitrit masing-masing dengan konsentrasi 170 dan 500 $\mu\text{g/ml}$ (Oliveira, *et al.*, 2009). Aktivitas antioksidan dari daun Tiin yang diekstraksi dengan pelarut metanol 70% dapat mengobati penyakit jantung dimungkinkan karena adanya pengaruh dari senyawa flavonoid dan fenolik (Allahyari, 2014). Buah Tiin kering (*Ficus carica*) yang diekstraksi dengan campuran beberapa pelarut aseton, diklorometan, etil asetat dan metanol diuji nutrisi dan fotokimianya. Buah Tiin kering mengandung beberapa sumber nutrisi yaitu karbohidrat dan mineral diantaranya strontium, kalsium, magnesium, fosfor dan besi sedangkan protein dan serat relatif rendah. Kandungan fotokimia dari buah Tiin kering adalah fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Senyawa lain yang terkandung adalah vitamin E, β -amirin, stigmaterol, kampesterol, asam oleik, isoamil laurat dan toksoferol (Soni, *et al.*, 2014).

Ekstraksi buah Tiin dengan etanol juga memiliki aktivitas antioksidan dan anti kolagen yang tinggi sehingga baik digunakan untuk anti kerut pada kulit (Ghimeray, 2015). Daun Tiin yang diekstraksi dengan metanol juga dapat digunakan untuk anti inflamasi yang memberikan efek antiogenik atau pertumbuhan darah baru yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan oksigen sel-sel kanker. Anktivitas antioksidan dengan metode ekstraksi metanol ini sebesar 11,70 mg/ GAE/100 gr sampel kering (Oskouei, 2015).

Pelarut yang banyak digunakan untuk mengekstraksi tanaman Tiin adalah metanol dan etanol. Hasil ekstrak dari penggunaan pelarut metanol dan etanol ini relatif kurang aman apabila produk yang dihasilkan dikonsumsi oleh manusia. Pelarut yang relatif aman untuk ekstraksi produk konsumtif adalah air. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan digunakan variasi pelarut dalam mengekstrak

daun Tiin yaitu dengan pelarut air, metanol dan campuran metanol-air untuk melihat perbedaan aktivitas antioksidannya. Dalam penelitian ini digunakan daun tanaman Tiin karena menurut penelitian yang dilakukan Oliveira, 2009 aktivitas antioksidan paling tinggi terdapat pada daun Tiin. Hasil ekstraksi daun Tiin di uji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH sebagai radikal bebas yang stabil. Daun Tiin diambil dari tempat budidaya tanaman Tiin di daerah Gresik Jawa Timur yang pemanfaatnya belum optimal, sehingga diharapkan dengan adanya penelitian ini di Indonesia dapat meningkatkan budidaya tanaman Tiin dan penggunaan manfaat dari tanaman ini untuk kesehatan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Tiin (*Ficus carica Linn*) yang diperoleh dari daerah Gresik Jawa Timur, metanol, aquades, Difenilpikril Hidrazil Hidrat (DPPH), kloroform, kalium iodida, iodium, asetat, FeCl₃, H₂SO₄ pekat, dan HCl.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, alat maserasi, corong, kertas saring, erlenmeyer, beaker glass, kaca arloji, botol vial, timbangan digital, pipet mikro, rotary evaporator, vorteks, pemanas, spektrofotometer UV-Vis, FT-IR.

Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun Tiin yang diperoleh dari daerah Gresik Jawa Timur. Daun Tiin sebanyak 1 Kg dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 3 hari. Daun Tiin yang sudah kering di diblender sampai halus. Serbuk daun Tiin siap untuk diekstraksi.

Poses ekstraksi

Daun Tiin diekstraksi dengan variasi jenis pelarut metanol, air dan campuran metanol-air

(9:1) dalam suhu kamar selama 48 jam. Dalam proses ekstraksi 50 gr daun tiin diekstraksi dengan metode maserasi dengan 300 mL pelarut dengan sesekali dilakukan pengadukan. Setelah proses ekstraksi dilakukan penyaringan dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu hasil maserasi dimaserasi lagi dengan pelarut yang sesuai selama 24 jam. Sedangkan Filtratnya ditampung dulu. Hasil remaserasi juga dipisahkan, filtrat hasil remaserasi digabungkan dengan filtrat yang pertama. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu dan tekanan tertentu sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang dan dianalisis gugus fungsinya dengan FT-IR.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan adalah pengujian secara kualitatif terhadap senyawa yang terkandung pada tumbuhan. Pada penelitian ini untuk mengetahui senyawa sterol, triterpenoid, alkaloid, saponin, flavonoid prosedurnya sebagai berikut:

Uji alkaloid

Uji alkaloid dengan menggunakan metode Wagner yaitu sampel diambil sedikit, ditambah dengan HCl 2M dan dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring, kemudian filtrat ditambah HCl 2M hingga volume tertentu. Filtrat dibagi ke dalam 2 tabung reaksi, tabung pertama ditambahkan reagen Wagner dan tabung yang lainnya sebagai blanko. Tabung pertama diamati terbentuknya endapan dan dibandingkan dengan blanko. Jika terbentuk endapan, maka bahan positif mengandung alkaloid.

Uji sterol dan triterpenoids

Bahan alam yang sudah diekstrak dilarutkan dalam kloroform, kemudian disaring dan filtratnya diuji dengan:

Uji Salkowski

Beberapa tetes asam sulfat pekat ditambahkan ke larutan kloroform dan diamati untuk warna merah di lapisan bawah untuk sterol dan warna kuning keemasan menunjukkan adanya Triterpenoid.

Libermann Buchard

Beberapa tetesan hidrida asetat ditambahkan ke dalam larutan kloroform, kocok dan teteskan 1 ml asam sulfat pekat dengan hati-hati ditambahkan dari sisi tabung reaksi. Jika berwarna coklat kemerahan menunjukkan adanya sterol dan cincin merah menunjukkan adanya triterpenoid.

Uji Saponin

Sebanyak 0.5 g ekstrak ditambahkan 5 ml air suling dalam tabung reaksi. Larutan dikocok dengan kuat dan diamati terbentuknya buih yang stabil. Buih itu dicampur dengan 3 tetes minyak zaitun dan dikocok dengan kuat setelah itu diamati untuk pembentukan emulsi.

Uji Flavonoid

Sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian 2 ml larutan tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 1% (1 g FeCl₃ dilarutkan dalam 100 mL akuades), apabila terbentuk warna hijau, merah ungu, biru/hitam menunjukkan positif terhadap flavonoid.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kental daun Tiin diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Larutan DPPH 1 mM dibuat dalam metanol (masing-masing 1 mL). Ekstrak divariasikan konsentrasinya dengan menggunakan 0,01-0,16 mg dalam 5 mL metanol. Ekstrak yang sudah divariasikan konsentrasinya dimasukkan ke larutan DPPH yang telah dibuat sebelumnya. Campuran kemudian divorteks dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada λ 517 nm, larutan blnko yang digunakan adalah

metanol. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara duplo. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH. Kapasitas antioksi dan (persen ihibisi) untuk menghambat radikal bebas menurut Andayani *et al.* (2008) ditentukan dengan persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

- Abs Kontrol = absorbansi larutan kontrol pada panjang gelombang 517 nm
 Abs Sampel = absorbansi larutan uji atau larutan pembanding pada panjang gelombang 517 nm.

Dari persen penangkal radikal bebas dibuat kurva antara persen penangkal radikal bebas terhadap konsentrasi larutan uji. Dari persamaan regresi linier ditentukan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi inhibisi larutan uji yang mampu menangkal 50% radikal bebas.

Hasil perhitungan dimasukkan dalam persamaan linier dengan persamaan:

$$Y = aX + b$$

Keterangan:

- Y = % Inhibisi
 a = Gradien
 X = Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
 b = Konstanta

Persamaan linier yang dihasilkan digunakan untuk memperoleh nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi yang diperoleh pada saat % inhibisi sebesar 50 dari persamaan $Y = aX + b$. Pada saat % Inhibisi = 50, maka rumus untuk menghitung nilai IC₅₀ persamaannya menjadi
 $50 = aX + b$

Analisis Data

Untuk mengetahui perbedaan pelarut (metanol, air, metanol:air) pada ekstraksi daun tiin terhadap aktivitas antioksidan digunakan uji

ANOVA karena memiliki lebih dari dua kelompok sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai pada kandungan didalam tanaman tersebut. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi, yaitu bahan tanaman yang digunakan, pemilihan pelarut, dan metode yang digunakan. Bahan tanaman yang digunakan dapat berupa bagian tanaman utuh atau yang telah melalui proses pengeringan. Pemilihan metode dan pelarut yang akan digunakan harus dengan tepat, agar mendapatkan hasil yang maksimal. Pemilihan metode dan pelarut yang digunakan harus tepat untuk mendapatkan hasil yang maksimal (Sarker SD, *et al.*, 2006) . Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada tanaman. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat terlarut ke dalam pelarut yang sesuai berdasarkan sifat like dissolves like, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar pelarut dan zat terlarut yaitu zat terlarut akan berdifusi masuk ke dalam pelarut. umumnya zat aktif dalam tanaman mudah larut dalam pelarut organik (Herbone, 1987). Ekstraksi berakhir ketika tercapainya kesetimbangan antara konsentrasi metabolit dalam pelarut dengan bahan yang digunakan.

Daun Tiin diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, air dan metanol air dengan perbandingan tertentu. Sebelum dilakukan maserasi daun tiin disortasi, dicuci, dikeringkan dan dihaluskan untuk mendapatkan serbuk daun Tin. Proses sortasi dan pencucian bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya. Sebelum dikeringkan dengan oven daun Tin yang sudah bersih dipotong kecil-kecil untuk mempermudah proses penguapan kandungan air selama proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan dengan oven pada suhu 80°C sampai daun tiin benar-benar kering.

Proses pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel, sehingga molekul H₂O tidak akan menghalangi distribusi senyawa aktif pada saat maserasi, selain itu pengeringan dilakukan agar sampel tidak mudah rusak oleh adanya pertumbuhan jamur. Daun tiin yang sudah kering dihaluskan untuk menjadikannya serbuk. Proses ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari sampel, sehingga distribusi senyawa pada pelarut pada saat maserasi berjalan optimal. Serbuk yang sudah kering disimpan dalam wadah bersih dan kering untuk mencegah kerusakan senyawa.

Serbuk daun Tiin kemudian dimaserasi dengan pelarut yang sesuai. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruang. Pada proses perendaman sampel akan mengalami pemecahan dinding dan membrane sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organik (Handayani, 2015). Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk daun Tin dengan pelarut metanol, air dan metanol:air selama 3x24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Metanol dipilih sebagai pelarut karena memiliki tetapan dielektrik 33, tetapan dielektrik metanol ini lebih rendah daripada air yang memiliki tetapan dielektrik 80. Tetapan dielektrik menunjukkan derajat kepolaran, semakin besar tetapan dielektrik maka semakin besar kepolaran pelarut tersebut, sehingga dapat dikatakan bahwa kepolaran dari pelarut metanol lebih rendah daripada pelarut air. Kepolaran yang lebih rendah dari pelarut air bermanfaat untuk melarutkan semua zat, baik bersifat polar maupun semipolar. Sedangkan pemilihan pelarut air karena sifat air yang tidak beracun sehingga lebih aman. Setelah direndam dengan methanol selama 24 jam sampel kemudian disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang telah dihasilkan kemudian dikentalkan dengan rotary evaporator untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental daun tiin.

Hasil ekstrak daun tiin dengan beberapa pelarut kemudian dianalisis dengan FTIR untuk melihat gugus fungsi berdasarkan intensitas cahaya inframerah yang diserap oleh senyawa-senyawa hasil ekstraksi. Spektra FTIR senyawa hasil ekstraksi menunjukkan serapan-serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi. Ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol menunjukkan vibrasi molekul ulur maupun tekuk. Pada bilangan gelombang 3650-3200 cm^{-1} dengan puncak yang melebar menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi hidroksi (-OH), bilangan gelombang 2137,37 cm^{-1} menunjukkan serapan khas gugus fungsi alkena C=C hal ini juga diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 921,11 cm^{-1} , 894,30 cm^{-1} , 824,48 cm^{-1} , 662,46 cm^{-1} pada daerah finger print yang mengindikasikan adanya vibrasi tekuk =CH, bilangan gelombang 1592,8 cm^{-1} menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi karbonil C=O, bilangan gelombang 1416,11 cm^{-1} menunjukkan serapan khas gugus fungsi C-H (sp^3) hal ini didukung dengan adanya gugus fungsi C-C alifatik, bilangan gelombang 1078,12 cm^{-1} menunjukkan serapan khas vibrasi tekuk gugus fungsi C-O eter. Dari analisis gugus fungsi dapat diprediksi bahwa dalam ekstrak daun tiin dengan pelarut metanol terdapat golongan senyawa fenolik atau flavonoid. Hal ini ditandai dengan keunikan dari senyawa fenolik atau flavonoid yaitu memiliki gugus O-H dan beberapa cincin aromatik yang ditandai oleh gugus fungsi C=C.

Ekstrak daun Tiin dengan pelarut air menunjukkan vibrasi molekul ulur maupun tekuk setelah terkena radiasi sinar infra merah. Pada bilangan gelombang 3650-3200 cm^{-1} dengan puncak yang melebar menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi hidroksi (-OH), bilangan gelombang 2926,33 cm^{-1} menunjukkan serapan khas gugus fungsi alkena C=C hal ini juga diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 921,11 cm^{-1} , 895,59 cm^{-1} , 825,57 cm^{-1} , 749,57 cm^{-1} pada daerah

finger print yang mengindikasikan adanya vibrasi tekuk =CH, bilangan gelombang 1633,38 cm^{-1} menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi karbonil C=O, bilangan gelombang 1385,39 cm^{-1} menunjukkan serapan khas gugus fungsi C-H (sp^3) hal ini didukung dengan adanya gugus fungsi C-C alifatik, bilangan gelombang 1075,33 cm^{-1} menunjukkan serapan khas vibrasi tekuk gugus fungsi C-O eter. Dari analisis gugus fungsi dapat diprediksi bahwa dalam ekstrak daun tiin dengan pelarut air terdapat golongan senyawa fenolik atau flavonoid. Hal ini ditandai dengan keunikan dari senyawa fenolik atau flavonoid yaitu memiliki gugus O-H dan beberapa cincin aromatik yang ditandai oleh gugus fungsi C=C.

Ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol:air menunjukkan vibrasi molekul ulur maupun tekuk setelah terkena radiasi sinar infra merah. Pada bilangan gelombang 3650-3200 cm^{-1} dengan puncak yang melebar menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi hidroksi (-OH), bilangan gelombang 2852,52 cm^{-1} menunjukkan serapan khas gugus fungsi alkena C=C hal ini juga diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 688,13 cm^{-1} pada daerah finger print yang mengindikasikan adanya vibrasi tekuk =CH, bilangan gelombang 1728,34 cm^{-1} menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi karbonil C=O, bilangan gelombang 1577,47 cm^{-1} menunjukkan serapan khas gugus fungsi C-H (sp^3) hal ini didukung dengan adanya gugus fungsi C-C alifatik, bilangan gelombang 1135,46 cm^{-1} menunjukkan serapan khas vibrasi tekuk gugus fungsi C-O eter. Dari analisis gugus fungsi dapat diprediksi bahwa dalam ekstrak daun tiin dengan pelarut air terdapat golongan senyawa fenolik atau flavonoid. Hal ini ditandai dengan keunikan dari senyawa fenolik atau flavonoid yaitu memiliki gugus O-H dan beberapa cincin aromatik yang ditandai oleh gugus fungsi C=C.

Tabel 1. Puncak Spektra FTIR ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol, air, serta metanol:air

Pelarut Metanol			
No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas
1	Alkohol (-OH)	3416,4	Melebar
2	Alkena (-C=C-)	2137,37	Tajam
3	Karbonil (-C=O)	1592,8	Tajam
4	Alkana (sp ³ C-H)	1416,11	Tajam
5	C-O	1078,12	Tajam
Pelarut air			
No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas
1	Alkohol (-OH)	3390,18	Melebar
2	Alkena (-C=C-)	2926,33	Tajam
3	Karbonil (-C=O)	1633,38	Tajam
4	Alkana (sp ³ C-H)	1385,39	Tajam
5	C-O	1075,33	Tajam
Pelarut metanol:air			
No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas
1	Alkohol (-OH)	3424,43	Melebar
2	Alkena (-C=C-)	2852,52	Tajam
3	Karbonil (-C=O)	1728,34	Tajam
4	Alkana (sp ³ C-H)	1577,47	Tajam
5	C-O	1135,46	Tajam

Identifikasi senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan uji fitokimia. Uji Mayer Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandaidengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I⁻ dari

kalium iodida menghasilkan ion I₃⁻ yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K⁺ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. (Marliyana, *et al.*, 2005).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia

Uji	Senyawa	Tanda	Met	Air	Met:air
Uji Salkowski	Triterpenoid dan Sterol	Cicin Merah dan biru	(+)	(+)	(+)
Uji Mayer	Alkaloid	Endapan putih	(+)	(+)	(-)
Uji Forth	Saponin	Buih	(+)	(-)	(-)
Uji Flavonoid	Flavonoid	Coklat	(+)	(+)	(+)

Uji Salkowski, sampel yang telah dilarutkan dengan larutan kloroform, difiltrasi dan filtrat ditambahkan H₂SO₄ hingga ada perubahan warna dengan keseluruhan 30 tetes. Pada tetes ke 5 sampel menjadi warna hijau pekat, dan pada tetesan ke 30 warna sampel menjadi hijau bening dengan ada pemisahan senyawa, dimana endapan hijau pekat dan supernatan yang lebih terang (bening). Penambahan H₂SO₄ ini berfungsi sebagai pemutus ikatan ester lipid (Wulandari *et al.*, 2013). Asam sulfat (H₂SO₄) merupakan

cairan yang bersifat korosif, tidak berwarna, tidak berbau, sangat reaktif dan mampu melarutkan berbagai logam. Bahan kimia ini dapat larut dengan air dengan segala perbandingan, mempunyai titik leleh 10,49°C dan titik didih pada 340°C tergantung kepekatan serta pada temperatur 300°C atau lebih terdekomposisi menghasilkan sulfur trioksida (Hikmah dan Zuliyana, 2010). Sehingga hasil ini, dapat dikatakan bahwa pada sampel tidak terdapat triterpenoid dan steroid. Triterpenoid merupakan senyawa yang

kerangka karbonnya berasal dari enam isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualen. Triterpenoid umumnya berbentuk kristal seringkali bertitik leleh tinggi dan sukar dicirikan karena tidak memiliki kereaktifan kimia (Purba, 2007). Steroid merupakan sejumlah senyawa lipid yang mempunyai struktur dasar yang sama dan dapat dianggap sebagai derivat dari perhidrosiklopentanofenantrena, yang terdiri atas 3 cincin sikloheksana terpadu seperti bentuk fenantrena (cincin A, B, dan C) dan sebuah cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana (cincin D).

Uji Forth, uji ini dilakukan untuk menentukan atau mengidentifikasi dari senyawa saponin. Sampel yang telah ditambahkan dengan 5 mL aqudest kemudian dikocok, maka terdapat buih. Jika buih tersebut tetap ada selama 30 detik maka identifikasi menunjukkan adanya saponin. Buih atau busa ini menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Marliana *et al*, 2005).

Uji Flavonoid, sampel yang telah diarutkan dengan 2 mL ditetesi dengan FeCl₃ 2-5 tetes maka sampel terdapat endapan berwarna coklat. Flavonoid adalah salah satu kelompok metabolit sekunder dan merupakan salah satu golongan senyawa fenol terbesar yang dihasilkan secara alami oleh tumbuhan. Meskipun pada tumbuhan dihasilkan kandungan yang kecil dibandingkan dengan tumbuhan laut atau alga, mikroorganisme, bakteri, jamur, dan lumut (Meilanty *et al*, 2014). Flavonoid merupakan senyawa polifenol sehingga bersifat agak asam dan dapat larut dalam basa dan karena senyawa polihidroksi maka juga bersifat polar. Sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton, air, butanol, dimetil sulfoksida, dan dimetil formamida. Disamping itu, dengan adanya gugus glikosida yang terikat pada gugus flavonoid sehingga cenderung menyebabkan flavonoid terlarut dalam air. Flavonoid juga

merupakan pelarut yang bersifat melarutkan senyawa-senyawa mulai dari kurang polar sampai dengan polar (Sari *et al*, 2016).

Sampel akhir yang didapatkan bisa jadi berwarna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol dan menunjukkan adanya flavonoid (Syamsul *et al*, 2013). Jika sampel terdapat warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat menunjukkan adanya flavonol, dan merah tua menunjukkan flavonon (Fitriyani *et al*, 2011).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH, metode ini digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Metode pengujian ini berdasarkan pada kemampuan antioksidan tersebut dalam menetralsir radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan adalah DPPH (*1,1-diphenyl-2-piclylhydrazyl*).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil karena delokalisasi elektron di seluruh molekul sehingga terjadi dimerisasi yang menjadi masalah untuk radikal bebas lainnya. Delokalisasi elektron juga menyebabkan timbulnya warna ungu yang ditunjukkan oleh pita serapan larutan dalam etanol pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Ketika DPPH dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, terjadi peningkatan bentuk tereduksi dari DPPH yaitu *1,1-diphenyl-2-piclylhydrazyl* yang mengakibatkan hilangnya warna ungu dan berubah menjadi terbentuk warna kuning pucat.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji dilaporkan sebagai IC₅₀ yaitu jumlah antioksidan yang dibutuhkan untuk menurunkan 50% konsentrasi radikal DPPH awal.

Aktivitas antioksidan dapat diketahui dari nilai persen inhibisi. Naiknya persen inhibisi dipengaruhi oleh menurunnya nilai absorbansi yang dihasilkan oleh sampel. Penurunan nilai absorbansi disebabkan oleh tingginya

konsentrasi sampel. Hal ini mengakibatkan semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin kecil nilai absorbansi sehingga mengakibatkan persen inhibisi semakin tinggi. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol menunjukkan IC50 yang paling bagus dan dilanjutkan dengan ekstrak daun tiin menggunakan pelarut air dan campuran metanol:air yaitu masing-masing sebesar 3,3005 ; 3,6976 dan 13,6140 µg/ml.

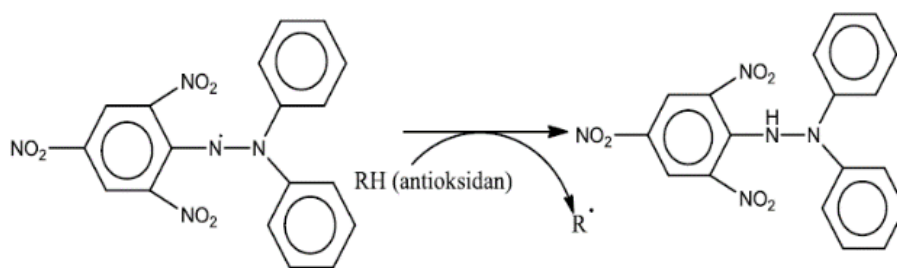
Dari hasil pengujian diketahui ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC50 3,3005 µg/ml, dan selanjutnya ekstrak daun Tiin dengan pelarut air memiliki aktivitas antioksidan 3,6976 µg/ml dan ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol:air memiliki aktivitas antioksidan 13,6140 µg/ml. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel tersebut memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC50 kurang dari 50 µg/ml, kuat apabila nilai IC50 antara 50-100 µg/ml, sedang apabila nilai IC50 berkisar antara 100-150 µg/ml, dan lemah apabila nilai IC50 berkisar antara 150-200 µg/ml.

Ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling bagus dengan nilai IC50 3,3005 µg/ml karena menurut uji fitokimia dan analisis gugus fungsi bahwa pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa aktif seperti flavonoid, Triterpenoid

dan Sterol, Alkaloid dan Saponin. Metanol mampu mengekstrak lebih banyak senyawa aktif karena sifat dari metanol yang memiliki tetapan dielektrik 33 sehingga mampu mengekstrak senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar.

Ekstrak daun Tiin dengan pelarut air memiliki aktivitas antioksidan dibawah pelarut air dengan nilai IC50 3,6976 µg/ml karena menurut uji fitokimia dan analisis gugus fungsi bahwa pelarut air mampu mengekstrak senyawa aktif seperti flavonoid, Triterpenoid dan Sterol dan Alkaloid. Pelarut air hanya mampu mengekstrak senyawa yang bersifat polar dan semi polar karena memiliki tetapan dielektrik yang lebih tinggi daripada metanol yaitu 88. Sedangkan ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol:air memiliki kapasitas antioksidan yang kurang bagus karena perbedaan tetapan dielektrik dari kedua pelarut ini yang terpaut jauh sehingga senyawa aktif akan susah untuk masuk ke campuran pelarut tersebut. Senyawa aktif yang mampu terekstrak hanya flavonoid, Triterpenoid dan Sterol.

Perbedaan hasil dari nilai IC50 ekstrak daun Tiin dianalisa secara statistika menggunakan uji ANOVA satu jalur dengan SPSS. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai IC50 ekstar daun Tiin dengan pelarut metanol, air dan metanol:air berbeda secara signifikan ($p < 0.05$).



Gambar 1. Reaksi penangkalan radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan

Hasil koreksi menunjukkan bahwa signifikansi < 0.05 dan $F_{hit} > F_{tabel}$, sehingga dapat disimpulkan bahwa faktor pelarut mempengaruhi nilai IC50. Terdapat perbedaan secara signifikan antara aktivitas antioksidan terhadap ekstrak daun Tiin yang diekstraksi

dengan pelarut metanol, air dan metanol:air. Secara keseluruhan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol lebih kuat daripada aktivitas antioksidan ekstrak daun Tiin dengan pelarut air dan metanol:air.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 3,3005 µg/ml, ekstrak daun Tiin dengan pelarut air memiliki aktivitas antioksidan 3,6976 µg/ml dan ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol:air memiliki aktivitas antioksidan 13,6140 µg/ml. Nilai IC50 < 50 µg/ml menunjukkan bahwa ekstrak daun Tiin dengan beberapa pelarut memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat. Ekstrak daun Tiin dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling bagus dengan nilai IC50 3,3005 µg/ml karena menurut uji fitokimia dan analisis gugus fungsi bahwa pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa aktif lebih banyak seperti flavonoid, Triterpenoid dan Sterol, Alkaloid dan Saponin dilanjutkan dengan ekstrak daun Tiin dengan pelarut air dan campuran metanol : air. Hasil koreksi menunjukkan bahwa signifikansi < 0.05 dan Fhit > Ftabel , sehingga dapat disimpulkan bahwa faktor pelarut mempengaruhi nilai IC50.

DAFTAR PUSTAKA

- Allahyari, S., Delazar, A., & Najafi, M. (2014). Evaluation of general toxicity, anti-oxidant activity and effects of *Ficus carica* leaves extract on ischemia/reperfusion injuries in isolated heart of rat. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 4(Suppl 2), 577.
- Dungir, S. G., Katja, D. G., & Kamu, V. S. (2012). Aktivitas antioksidan ekstrak fenolik dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 1(1), 11-15.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri, N. (2011). Anti-inflammatory Activity of Piper crocatum Ruiz & Pav. Leaves metanolic extract in rats. *Traditional Medicine Journal*, 16(1), 34-42.
- Ghimeray, A. K., Jung, U. S., Lee, H. Y., Kim, Y. H., Ryu, E. K., & Chang, M. S. (2015). In vitro antioxidant, collagenase inhibition, and in vivo anti-wrinkle effects of combined formulation containing *Punica granatum*, *Ginkgo biloba*, *Ficus carica*, and *Morus alba* fruits extract. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 8, 389.
- Joseph, B., & Raj, S. J. (2011). Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn—An overview. *International journal of pharmtech research*, 3(1), 8-12.
- Marliana, S. D., & Suryanti, V. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26-31.
- Meilanty, E., Riska, P., dan Toni. (2014) Flavonoid. *Makalah*. Program Studi DIII-Analis Kimia. Jurusan Teknik Kimia. Politeknik Negeri Bandung, Bandung
- Miryanti, Y. A., Sapei, L., Budiono, K., & Indra, S. (2011). Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Research Report-Engineering Science*, 2.
- Muhimmah, I. (2011) Taksonomi Tumbuhan Tinggi Buah tin (*Ficus carica*) dalam perspektif islam, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim
- Oliveira, A. P., Silva, L. R., Andrade, P. B., Valentão, P., Silva, B. M., Pereira, J. A., & de Pinho, P. G. (2010). Determination of low molecular weight volatiles in *Ficus carica* using HS-SPME and GC/FID. *Food chemistry*, 121(4), 1289-1295.
- Poedjiadi, A., dan Supriyanti, T. (2012) *Dasar-Dasar Biokimia*. UI-Press, Jakarta.
- Pramudita, T., Syafnir, L., dan L. Purwanti, Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.), *Prosiding Penelitian SPeSLA*. Prodi Farmasi FMIPA. Universitas Islam Bandung, Bandung, 2015.
- Purba, R. (2007) Analisis Fitokimia dan Uji Bioaktivitas Daun Kaca (*Peperonia pellucida*), *Jurnal Kimia Wulanarman*. Hal 1-7
- Richa, Y. (2009) Uji aktivitas penangkap radikal dari ekstrak petroleumeter, etil asetat dan etanol rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Saoudi, M., & El Feki, A. (2012). Protective role of *Ficus carica* stem extract against hepatic oxidative damage induced by methanol in male Wistar rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Sari, A.K., Anggraeni, D.A., Safitri G.A., dan Betan P.T. (2016) Flavonoid *Makalah Fitokimia*. S1 Farmasi. Stikes Karya Putra Bangsa, Tulungagung
- Soni, N., Mehta, S., Satpathy, G., & Gupta, R. K. (2014). Estimation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of dried fig (*Ficus carica*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2).
- Umayah, E. U., & Amrun, M. (2007). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus Undatus* (Haw.) Britt. & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(1), 83-90.