

Artikel

In Vitro Free Radical Scavenging Activity of *Lagerstroemia speciosa* PERS leaves on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

Aktivitas Peredaman Radikal Bebas dari Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* PERS) terhadap 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

Gina Anna Rezqiyana¹, Laode Rijai^{1,2*}

¹ Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, 75119 Kalimantan Timur, Indonesia.

² Laboratorium Riset dan Pengembangan Kefarmasian "FARMAKA TROPIS", Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, 75119 Kalimantan Timur, Indonesia.

* Correspondence: najwankhanrijai@yahoo.co.id (Laode Rijai)

Citation: Rezqiyana, G.A., Rijai, L. *In vitro* free radical scavenging activity of *Lagerstroemia speciosa* PERS leaves on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J Pharm Nat Sci* 2024, 1(1), 25-34.

Editor: Baso Didik Hikmawan

Received: 3 Maret 2024

Revised: 15 Maret 2024

Accepted: 1 April 2024

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution NonCommercial ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

ISSN: 3047-5457

Abstract

This study aims to determine the yields and free radical scavenging activity based on IC₅₀ value of the extract and the fraction of *Lagerstroemia speciosa* Pers leaves. The leaves of *L. speciosa* were macerated using 96% methanol and then fractionated using different kinds of solvent based on its polarity including n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol. The result showed that the yield of methanol extract obtained from *L. speciosa* leaves was 5.45% of dried samples obtained, the fraction of n-hexane 19.12%, the fraction of ethyl acetate 4.7%, and the fraction of n-butanol 1.93%. Testing of antioxidant activity is performed with the 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl (DPPH) by spectrophotometry UV-Visible. Absorbance measurement was conducted with spectrophotometry at the wave length of 516 nm. Data was analyzed with linear regression to obtain value of IC₅₀. The result of research showed that the extract and fractions of *L. speciosa* leaves have activity as an antioxidant with the IC₅₀ value of methanolic extract *L. speciosa* leaves was 12.5 ppm, n-hexane fraction was 18.75 ppm, ethyl acetate fraction was 21.87 ppm, n-butanol was 8.37 ppm.

Keywords: Antioxidant activity; Free Radical Scavenging Activity; *Lagerstroemia speciosa* Pers; 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

Abstrak

Penelitian berjudul "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers) dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rendemen, aktivitas antioksidan, dan nilai IC₅₀ ekstrak dan fraksi daun bungur. Daun bungur telah diekstraksi menggunakan pelarut metanol dan difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Hasil menunjukkan bahwa rendemen yang diperoleh dari ekstrak kasar metanol daun bungur adalah 5,45% dari bobot sampel kering, fraksi n-heksana

19,12%, fraksi etil asetat 4,7%, dan fraksi n-butanol 1,93%. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH menggunakan spektrotometer *UV-Visible*. Pengukuran absorbansi diperoleh dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm. Data dianalisis dengan regresi linier sehingga diperoleh nilai IC_{50} . Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun bungur memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} dari ekstrak kasar metanol daun bungur yaitu 12,5 ppm, fraksi n-heksana 18,75 ppm, fraksi etil asetat 21,87 ppm, dan fraksi nbutanol 8,37 ppm.

Kata Kunci: antiinflamasi; dosis efektif; *in vivo*; *Paederia scandens* L.

1. PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab penyakit degeneratif dan penuaan kulit. Radikal bebas merupakan produk samping tubuh manusia dan menyebabkan kerusakan pada sel-sel dan jaringan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas sehingga tidak merusak sel dan mengganggu fungsinya.

Radikal bebas adalah molekul atau bagian molekul yang tidak utuh lagi karena sebagian telah pecah atau melepaskan diri. Bagian yang pecah atau melepaskan diri ini melekat pada molekul lain dan merusak atau mengubah struktur atau fungsi molekul yang bersangkutan. Oksigen yang sangat reaktif, dan oksidasi dari protein, lemak, dan hidrat arang, akan menghasilkan radikal bebas ini. Senyawa kimia yang sangat merusak ini terus-menerus menyerang protein, karbohidrat, lemak, dan DNA tubuh, menyebabkan kerusakan yang serius kecuali jika diketahui pada tahap awal [1].

Senyawa antioksidan mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat [2]. Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas [3]. Antioksidan dapat membantu melindungi tubuh manusia melawan

kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif *ROS* dan radikal bebas lainnya [4].

Bagi masyarakat Indonesia, menggunakan obat tradisional untuk kesembuhan penyakit sangat diminati. Sebab bahan baku yang tersedia dan proses mengolahnya yang mudah. Masyarakat Babulu Darat memiliki beragam tumbuhan obat yang sejak dulu digunakan secara turun temurun, salah satunya adalah tumbuhan bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers).

Tumbuhan bungur (*L. speciosa*) memiliki bunga berwarna ungu atau merah jambu yang merupakan famili *lythraceae*. Daun bungur oleh masyarakat di Babulu Darat digunakan sebagai tumbuhan obat untuk menyembuhkan diabetes mellitus.

Daun bungur (*L. speciosa*) mengandung metabolit sekunder seperti saponin, tanin, dan flavonoid yang memiliki efek sebagai antioksidan. Flavonoid sebagai antioksidan bekerja dengan cara menginduksi aktivitas nitrit oksida *synthase* [5]. Dengan berperannya komponen flavonoid tersebut maka tidak akan terjadi kerusakan sel secara berlebihan. Sedangkan senyawa polifenol dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksi, sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein, dan DNA dalam sel [6].

Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan tahun ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas juga sebagai anti radikal bebas [5,6]. Berdasarkan informasi tersebut penulis ingin mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun bungur (*L. speciosa*).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai rendemen dan aktivitas peredaman radikal bebas dari ekstrak daun bungur (*L. speciosa*) terhadap indikator kimia radikal bebas *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) yang diukur menggunakan spektrofotometer.

2. BAHAN, ALAT, DAN PROSEDUR PENELITIAN

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah metanol sebagai pelarut, n-heksana, etil asetat, n-butanol merupakan bahan untuk fraksinasi, padatan DPPH sebagai radikal bebas dalam pengujian antioksidan, vitamin C sebagai antioksidan pembanding (kontrol positif), kertas label, kertas saring untuk memisahkan filtrat dari residu dan aluminium foil untuk membungkus alat yang digunakan pada pengujian antioksidan.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat maserasi berupa toples kaca untuk wadah perendaman simplisia, *rotary evaporator* untuk memekatkan ekstrak hasil maserasi dan fraksinasi, wadah kaca (mangkok) untuk tempat menampung ekstrak/fraksi, timbangan ohaus untuk menimbang simplisia dan ekstrak, timbangan digital untuk menimbang bahan-bahan yang digunakan (padatan DPPH, vitamin C, ekstrak), *waterbath* untuk menguapkan ekstrak, desikator untuk tempat menyimpan ekstrak agar tidak mudah ditumbuhi jamur dan kelembapannya dapat terjaga, *magnetic stirrer* dan labu erlenmeyer alat untuk melakukan proses fraksinasi padat-cair, spektrofotometer *UV-Vis* alat untuk mengukur/membaca serapan (absorbansi) sampel, mikropipet untuk mengambil cairan dalam ukuran mikroliter, *vortex* untuk membantu larutan menjadi homogen, batang pengaduk untuk mengaduk dalam proses maserasi, spatula besi untuk mengambil ekstrak dan bahan, tabung reaksi bertutup untuk tempat ekstrak dan DPPH direaksikan, corong kaca untuk memudahkan dalam penuangan suatu larutan, labu ukur untuk wadah larutan dengan volume tertentu, labu ukur coklat untuk wadah larutan DPPH, gelas

ukur untuk mengukur volume cairan tertentu, gelas kimia untuk wadah pencampuran bahan, pipet tetes untuk mengambil atau memindahkan pelarut maupun larutan, kaca arloji untuk wadah bahan yang digunakan, cawan porselin untuk wadah bahan yang digunakan.

2.3. Prosedur

2.3.1. Penyiapan Sampel

Sampel berupa daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers) sebanyak 2500 gram, kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir, selanjutnya dikeringkan di udara terbuka dalam ruangan, sehingga tidak terkena sinar matahari langsung. Simplisia kering yang diperoleh selanjutnya dirajang dengan menggunakan gunting dan diperoleh simplisia kering 1025 gram.

2.3.2. Proses Ekstraksi

Sampel kering yang digunakan untuk ekstraksi sebesar 284 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam dengan pelarut metanol sebanyak 4 liter selama 4-6 hari sampai diperoleh larutan ekstrak metanol. Disaring pelarut hasil ekstraksi dan ditampung. Kemudian sisa sampel direndam dengan pelarut metanol, diulangi prosedur hingga sisa pelarut hasil ekstraksi bening. Dilakukan penguapan pelarut metanol dari larutan ekstrak metanol sampel dengan menggunakan *rotary evaporator*, dilanjutkan dengan penyimpanan dalam desikator untuk menjaga kelembapan ekstrak sehingga tidak mudah ditumbuhi jamur dan didapatkan berat konstan ekstrak metanol daun bungur sebanyak 15,5 gram.

2.3.3. Proses Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-padat. Fraksinasi ini akan dibuat fraksi n-heksana, etil asetat dan n-butanol. Ekstrak metanol sebanyak 10 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Selanjutnya, ekstrak ditambahkan pelarut n-heksana dan diaduk dengan pengaduk magnet (*magnetic stirrer*). Hasil pengadukan disaring dan filtrat ditampung pada wadah untuk diuapkan sedangkan residu dilarutkan kembali dengan pelarut n-heksana sampai pengadukan menghasilkan warna bening.

Setelah didapatkan warna bening, maka residu ditambahkan dengan pelarut etil asetat. Hasil pengadukan disaring dan filtrat ditampung pada wadah untuk diuapkan sedangkan residu dilarutkan kembali dengan pelarut etil asetat sampai pengadukan menghasilkan warna bening. Setelah didapatkan warna bening, maka residu ditambahkan dengan pelarut n-butanol. Hasil pengadukan disaring dan filtrat ditampung pada wadah untuk diuapkan sedangkan residu dilarutkan kembali dengan pelarut nbutanol sampai pengadukan menghasilkan warna bening.

Untuk menyatakan hasil rendemen ekstrak daun bungur, data yang diperoleh dari persentase kadar dimana jumlah berat sampel hasil proses dibagi dengan berat sampel awal.

2.3.4. Pengujian Aktivitas Peredaman Radikan Bebas

1. Penyiapan Larutan DPPH

Kristal DPPH ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol di dalam labu ukur gelap atau labu ukur coklat sehingga didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,005 % atau 50 ppm. Larutan disimpan pada tempat tertutup rapat dan terlindung dari cahaya untuk segera digunakan.

2. Penentuan Seri Konsentrasi Uji

Tahap pertama adalah pembuatan larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm (10 mg ekstrak dilarutkan dengan metanol hingga 100 mL). Selanjutnya adalah pembuatan lima seri konsentrasi yang dibuat dari larutan stok. Masing-masing konsentrasi dibuat 3 replikasi dan satu sebagai kontrol negatif menggunakan pelarut metanol (tanpa penambahan sampel).

3. Pembuatan Konsentrasi Vitamin C (Kontrol Positif)

Vitamin C dibuat dalam konsentrasi 10 ppm dengan menimbang sebanyak 1 mg selanjutnya dilarutkan dengan metanol sampai volumenya 100 mL menggunakan labu ukur coklat. Selanjutnya dibuat larutan stok vitamin C dengan konsentrasi berturut-turut 2; 4; 6; 8 dan 10 ppm masing-masing konsentrasi dibuat 3 replikasi.

4. Penentuan Pajang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 2 mL larutan DPPH 50 ppm dipipet dan ditambahkan dengan 2 mL metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan larutan diukur dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 510–520 nm untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum.

5. Uji Peredaman Radikal Bebas

Larutan ekstrak uji sebanyak 2 mL dicampurkan 2 mL larutan DPPH. Campuran larutan ini dihomogenkan dengan menggunakan vorteks dan dibiarkan di tempat gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Kemudian larutan diukur absorbansinya terhadap blanko (terdiri dari larutan DPPH tanpa penambahan sampel). Kemudian persen (%) peredaman radikal bebas DPPH dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Aktivitas} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Sementara itu, untuk menentukan nilai IC_{50} dihitung menggunakan regresi linear terhadap beberapa konsentrasi yang berbeda.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Penentuan Nilai Rendemen

Penentuan rendemen ekstrak daun bungur dimaksudkan untuk memudahkan penelitian selanjutnya yang ingin menggunakan daun bungur sebagai subjek penelitian, dimana peneliti akan lebih mudah untuk menentukan jumlah sampel yang digunakan untuk mendapatkan sejumlah tertentu ekstrak daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers) yang diperlukan dalam penelitian, sehingga penelitian berjalan lebih efisien.

Rendemen dianalisis dengan menghitung persentase ekstrak dan fraksi dengan cara membandingkan bobot hasil proses (ekstrak dan fraksi) dengan bobot awal (sampel segar, sampel kering dan ekstrak metanol yang difraksinasi). Ekstrak metanol yang digunakan untuk fraksinasi dikonservasi terlebih dahulu terhadap bobot ekstrak metanol. Perhitungan rendemen ini bertujuan untuk mengetahui persentase bobot ekstrak dan fraksi yang dihasilkan terhadap bobot awal sampel. Berikut merupakan tabel tabulasi data perhitungan

rendemen dari ekstrak dan fraksi daun bungur (disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Bungur

No	Sampel	Rendemen Ekstrak methanol terhadap		
		Sampel Segar	Sampel Kering	Ekstrak Etanol
1	Ekstrak Metanol	2,21	5,4	-
2	Fraksi n-heksana	1,54	3,76	19,29
3	Fraksi etil asetat	0,37	0,92	4,74
5	Fraksi n-butanol	0,15	0,37	1,94

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 1, diperoleh rendemen tertinggi dari ekstrak daun bungur adalah fraksi n-heksana, hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun bungur diduga memiliki kandungan senyawa nonpolar yang lebih banyak daripada senyawa polarnya.

3.2. Aktivitas Peredaman Radikal Bebas

Uji aktivitas peredaman radikal bebas ekstrak dan fraksi daun bungur dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan indikator kimia DPPH. Aktivitas peredaman radikal bebas adalah kemampuan yang dimiliki oleh suatu senyawa dalam ekstrak daun dalam meredam radikal DPPH dengan parameter IC_{50} . Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai nilai IC_{50} yang rendah.

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, peka dan memerlukan sedikit sampel uji. Campuran reaksi berupa larutan sampel dengan DPPH yang dilarutkan dalam metanol didiamkan selama 30 menit didalam ruangan gelap atau minim cahaya agar DPPH dapat tereduksi oleh sampel daun bungur. Hal ini bertujuan agar tidak terjadi peristiwa oksidasi oleh cahaya yang dikhawatirkan dapat mempengaruhi hasil pengujian. Pada pengukuran absorbansi dari larutan sampel diukur pada panjang gelombang optimum.

Pada metode ini, DPPH bertindak sebagai senyawa radikal yang mengandung atom nitrogen dengan menghasilkan larutan yang berwarna ungu. Prinsip dari metode ini adalah DPPH yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan akan bereaksi dengan

senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel daun bungur, dengan cara senyawa antioksidan menyumbangkan elektronnya untuk DPPH, sehingga terbentuk senyawa yang stabil.

Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, intensitas warna larutan DPPH akan berkurang dari ungu gelap menjadi kuning. Reaksi ini menyebabkan menurunnya konsentrasi DPPH yang tidak berikatan dengan senyawa antioksidan, sehingga absorbansi DPPH akan menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi senyawa antioksidan yang diberikan. Hal ini dikarenakan absorbansi yang terbaca pada alat spektrofotometer adalah absorbansi DPPH yang tersisa atau yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan pada sampel. Dengan semakin turunnya absorbansi DPPH, maka menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa karena semakin banyak DPPH yang bereaksi dengan senyawa tersebut.

Spektrofotometer merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengukur nilai absorbansi suatu sampel. Mekanisme kerja spektrofotometer dalam pengujian antioksidan adalah ketika sinar masuk ke kuvet yang berisi sampel, maka sebagian sinar tersebut akan diserap, dan digunakan untuk mengeksitasi elektron (transisi elektron dari tingkat energi rendah ke tingkat berenergi tinggi) yang terdapat dalam sampel. Gugus kromofor yang terdapat di dalam sampel akan menyerap sinar dan jumlah sinar yang diserap dinyatakan sebagai absorbansi dan akan terbaca oleh detektor dari alat tersebut.

Pada pengujian aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer, pengukuran dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang maksimum. Pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum dari larutan kontrol DPPH yang terdiri dari 2 mL larutan DPPH dan 2 mL pelarut metanol. Absorbansi larutan kontrol DPPH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 510–520 nm.

Larutan kontrol DPPH yang digunakan dengan konsentrasi 0,005% (50 ppm), sehingga diperoleh nilai absorbansi yang stabil antara 0,5–0,7A. Pada pengujian ini digunakan pelarut metanol teknis dan radikal bebas DPPH yang digunakan bukan bahan yang baru, maka tidak menutup kemungkinan bila digunakan larutan DPPH 0,004% (40 ppm) diperoleh nilai absorbansinya yang rendah. Larutan DPPH sebagai radikal bebas akan baik digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan bila memiliki nilai absorbansi antara 0,5–0,7 A.

Selanjutnya dilakukan pengukuran pada tiap konsentrasi dari tiap ekstrak dan zat kontrol pembanding, yaitu vitamin C. Berdasarkan nilai absorbansi larutan vitamin C, diperoleh nilai persen aktivitas antioksidan atau aktivitas peredaman radikal bebas. Nilai persen aktivitas antioksidan tersebut diperoleh dengan cara

membandingkan selisih absorbansi kontrol DPPH dan absorbansi sampel uji dengan absorbansi kontrol DPPH dikalikan 100%.

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan suatu senyawa adalah nilai konsentrasi penghambatan (*Inhibisi concentration*) atau disebut dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ adalah suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal bebas. Senyawa atau zat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 200 ppm (200 µg/mL) [8]. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL [9,10]. Nilai IC₅₀ ekstrak didapatkan dengan cara membuat persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak (ppm) pada sumbu x dan persen aktivitas antioksidan ekstrak pada sumbu y.

3.2.1. Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Metanol daun Bungur

Pada pengujian aktivitas antioksidan daun bungur variasi konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Adapun hasil dari peredaman radikal DPPH oleh ekstrak metanol daun bungur dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Absorbansi dan Persen Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Bungur

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	%Peredaman Radikal Bebas	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
5	0,518	20,67		
10	0,359	45,02		
15	0,251	61,56	$y = 3,353x + 8,097$	12,5
20	0,160	75,49	$r = 0,991$	
25	0,070	89,28		

Berdasarkan pengujian diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun bungur 12,5 ppm. Nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun bungur menunjukkan bahwa aktivitasnya adalah aktif sebagai antioksidan. Dari persamaan yang diperoleh diketahui bahwa koefisien regresinya adalah 3,353 yang menyatakan bahwa setiap penambahan konsentrasi 1 µg/mL atau 1 ppm ekstrak metanol daun bungur akan meningkatkan persentase perendaman DPPH sebesar 3,353%. Nilai positif pada koefisien regresi

menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak metanol daun bungur tersebut akan meningkatkan aktivitas antioksidannya. Nilai koefisien korelasi (r) adalah sebesar 0,991 atau mendekati satu. Koefisien korelasi ini menunjukkan hubungan antara variabel bebas yakni konsentrasi dengan variabel terikat yaitu aktivitas antioksidan. Semakin besar konsentrasi maka aktivitas antioksidan suatu ekstrak akan semakin tinggi. Nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun bungur adalah 12,5 ppm menunjukkan

bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat sebagai antioksidan yang kuat (kurang dari 50 µg/mL).

3.2.2. Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Fraksi N-heksana daun Bungur

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak fraksi n-heksana menggunakan variasi konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Hasil peredaman oleh radikal DPPH terhadap fraksi n-heksana dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan pengujian diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak fraksi n-heksana adalah 18,7 ppm.

Tabel 3. Nilai Absorbansi dan Persen Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Fraksi n-Heksana Daun Bungur

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	%Peredaman Radikal Bebas	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
5	0,367	36,39		
10	0,270	53,20		
30	0,196	66,03	$y = 1,173x + 28,055$	18,7
40	0,127	77,99	$r = 0,983$	
50	0,100	82,66		

Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas peredaman radikal bebas ekstrak fraksi n-heksana daun bungur adalah aktif. Dari persamaan yang diperoleh diketahui bahwa koefisien regresinya adalah 1,17 yang menyatakan bahwa setiap penambahan konsentrasi 1 µg/mL atau 1 ppm ekstrak fraksi n-heksana daun bungur akan meningkatkan persentase peredaman DPPH sebesar 1,17%. Nilai positif pada koefisien regresi menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak fraksi n-heksana akan meningkatkan persentase aktivitas peredaman radikal bebas ekstrak fraksi nheksana. Nilai koefisien korelasi (r) adalah sebesar 0,983 atau mendekati satu. Koefisien korelasi ini menunjukkan hubungan antara

variabel bebas yakni konsentrasi dengan variabel terikat yaitu aktivitas peredaman radikal bebas.

3.2.3. Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Fraksi N-heksana daun Bungur

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak fraksi etil asetat menggunakan variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun bungur untuk memperoleh nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan pengujian diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak fraksi etil asetat adalah 21,8 ppm.

Tabel 4. Nilai Absorbansi dan Persen Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Fraksi Etil Asetat Daun Bungur

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	%Peredaman Radikal Bebas	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
5	0,474	22,03		
10	0,442	27,30		
15	0,379	37,66	$y = 1,763x + 11,505$	21,8
20	0,328	46,05	$r = 0,994$	
25	0,263	56,74		

Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak fraksi etil asetat daun bungur adalah aktif. Dari persamaan yang diperoleh diketahui bahwa koefisien regresinya adalah 1,76 yang menyatakan bahwa setiap penambahan konsentrasi 1 µg/mL atau 1 ppm akan meningkatkan persentase peredaman DPPH sebesar 1,76%. Nilai positif pada koefisien regresi menunjukkan

bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak fraksi etil asetat akan meningkatkan persentase aktivitas antioksidan ekstrak fraksi etil asetat. Nilai koefisien korelasi (r) adalah sebesar 0,994 atau mendekati satu. Koefisien korelasi ini menunjukkan hubungan antara variabel bebas yakni konsentrasi dengan variabel terikat yaitu aktivitas antioksidan.

3.2.4 Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Fraksi N-butanol daun Bungur

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak fraksi n-butanol menggunakan variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Hasil uji aktivitas

antioksidan fraksi n-butanol daun bungur untuk memperoleh nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 5. Berdasarkan hasil pengujian diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak fraksi n-butanol adalah 8,37 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan fraksi n-butanol daun bungur adalah aktif.

Tabel 5. Nilai Absorbansi dan Persen Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Fraksi n-Butanol Daun Bungur

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	%Peredaman Radikal Bebas	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
5	0,377	38,70	y = 2,761x + 26,877 r = 0,981	8,37
10	0,293	52,35		
15	0,162	73,66		
20	0,088	85,70		
25	0,055	91,05		

Dari persamaan yang diperoleh diketahui bahwa koefisien regresinya adalah 2,76 yang menyatakan bahwa setiap penambahan konsentrasi 1 µg/mL atau 1 ppm ekstrak fraksi n-butanol akan meningkatkan persentase perendaman DPPH sebesar 2,76%. Nilai positif pada koefisien regresi menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak fraksi n-butanol akan meningkatkan persentase aktivitas antioksidannya. Nilai koefisien korelasi (r) adalah sebesar 0,981 atau mendekati satu. Koefisien korelasi ini menunjukkan hubungan antara variabel bebas yakni konsentrasi dengan variabel terikat yaitu aktivitas antioksidan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun bungur maka akan semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Nilai IC₅₀ ekstrak fraksi n-butanol adalah 8,37 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak fraksi n-butanol daun bungur memiliki sifat sebagai antioksidan yang kuat karena nilai IC₅₀ ekstrak berada kurang dari 50 µg/mL (50 ppm). Jadi, ekstrak fraksi n-butanol daun bungur memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada ekstrak metanol, fraksi n-heksana maupun fraksi etil asetat daun bungur. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol memiliki potensi yang tinggi (baik) sebagai antioksidan.

3.3. Potensi Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Ekstrak daun Bungur dan Vitamin C

Vitamin C pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Vitamin C ini merupakan salah satu vitamin yang larut air yang dibutuhkan oleh tubuh. Vitamin

C berperan sebagai zat antioksidan yang dapat mencegah efek negatif dari radikal bebas. Zat ini pula bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron yang dimilikinya. Vitamin C merupakan zat antioksidan yang baik, sehingga sering digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian antioksidan [11,12].

Vitamin C yang digunakan pada penelitian ini dibuat dalam beberapa konsentrasi dari larutan stok 10 ppm, yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Berdasarkan hasil pengujian antioksidan diperoleh nilai IC₅₀ vitamin C adalah sebesar 4,46 ppm. Daripengujian ini diketahui ekstrak daun bungur dan vitamin C sama-sama memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan berpotensi sebagai antioksidan.

Tabel 6. Nilai IC₅₀ Ekstrak dan Fraksi daun Bungur

Sampel Uji	IC ₅₀ (ppM)
Ekstrak Metanol	12,5
Ekstrak fraksi n-heskana	18,75
Ekstrak fraksi etil asetat	21,87
Ekstrak fraksi n-butanol	8,37
Vitamin C	4,46

Berdasarkan Tabel 6, ekstrak fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi diantara ekstrak/fraksi daun bungur yang lain, karena nilai IC₅₀ ekstrak fraksi n-butanol paling rendah dibandingkan dengan nilai IC₅₀ ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan

fraksi n-heksana. Dimana semakin rendah IC_{50} suatu ekstrak maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Hal ini diperkirakan karena telah terjadi pengelompokkan senyawa antioksidan di dalam ekstrak fraksi tersebut, sehingga aktivitasnya menjadi lebih tinggi dari ekstrak yang lain.

Dari hasil pengujian diketahui fraksi n-butanol memiliki potensi yang baik sebagai antioksidan bila dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C. Sehingga dilakukan analisis data menggunakan uji T, untuk aktivitas antioksidan fraksi nbutanol dan vitamin C.

Dari data nilai aktivitas antioksidan fraksi n-butanol dan vitamin C, dilakukan analisis data menggunakan uji T. Sehingga diperoleh nilai F-hitung 1,244 dan Ftabel 6,39. Dengan taraf signifikansi 5% diperoleh Ftabel= 6,39 dan taraf 1% diperoleh F-tabel= 15,98. Karena Fhitung lebih kecil dari F-tabel, artinya data homogen. Selain data tersebut, diperoleh nilai T-hitung = 0,028 dan T-tabel = 2,776 karena nilai Thitung lebih kecil dari nilai T-tabel artinya data ini tidak berbeda nyata.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh kesimpulan diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Rendemen daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers) yang diperoleh dari ekstrak metanol terhadap sampel kering sebesar 5,4%, ekstrak methanol terhadap sampel segar sebesar 2,21%, fraksi n-heksana terhadap sampel kering sebesar 3,76%, fraksi n-heksana terhadap sampel segar sebesar 1,54%, fraksi n-heksana terhadap ekstrak metanol sebesar 19,29%, fraksi etil asetat terhadap sampel kering sebesar 0,92%, fraksi etil asetat terhadap sampel segar sebesar 0,37%, fraksi etil asetat terhadap ekstrak metanol sebesar 4,74%, fraksi n-butanol terhadap sampel kering sebesar 0,37%, fraksi nbutanol terhadap sampel segar sebesar 0,15%, fraksi n-butanol terhadap ekstrak metanol sebesar 1,94%.
2. Ekstrak dan fraksi daun bungur memiliki aktivitas yang baik sebagai antioksidan (peredaman radikal bebas).
3. Aktivitas antioksidan daun bungur dengan parameter IC_{50} terhadap DPPH pada ekstrak metanol,

ekstrak fraksi n-heksana, etil asetat, dan n-butanol adalah 12,5 ppm, 18,75 ppm, 21,87 ppm, dan 8,37 ppm.

4. Ekstrak dan fraksi daun bungur yang memberikan aktivitas terbaik sebagai antioksidan melalui uji peredaman radikal DPPH adalah fraksi n-butanol. Fraksi n-butanol daun bungur memiliki potensi yang tinggi sebagai peredaman radikal bebas.

KONTRIBUSI PENULIS: Konseptualisasi, Gita Anna Rezqiyana dan Laode Rijai.; metodologi, Gita Anna Rezqiyana; analisis formal, Laode Rijai; investigasi, Laode Rijai; sumber daya, Gita Anna Rezqiyana; kurasi data, Laode Rijai; penulisan—persiapan draf asli, Gita Anna Rezqiyana.; menulis—meninjau dan mengedit, Laode Rijai; visualisasi, Gita Anna Rezqiyana; pengawasan, Laode Rijai; administrasi proyek, Laode Rijai; perolehan pendanaan, Gita Anna Rezqiyana.

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

REFERENSI

1. Handayani, S., Kurniawati, I., Rasyif, F.A. Uji Aktivitas antioksidan ekstrak daun karet kebo (*Ficus elastica*) dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenica Journal of Pharmacy)* 2020, 6(1), 141-150.
2. Sari, I.P., Hidayati, A.R., Muliawati, H. Perbandingan Aktivitas antioksidan infusa simplisia segar dan simplisia kering daun Buni (*Antidesma bunium* L. Spreng) dengan metode DPPH. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2023, 5(5), 605-614. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.1792>
3. Asjur, A.V., Santi, E., Musdar, T.A., Saputro, S., Rahman, R.A. Formulasi dan uji aktivitas antioksidan sediaan Face Mist ekstrak etanol kulit apel hijau (*Pyrus malus* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2023, 5(3), 297-305. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i3.1750>
4. Sies, H., Jones, D.P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular cell Biology* 2020, 21(7), 363-383.
5. Asih, I.A.R., Setiawan, I.M. Senyawa golongan flavonoid pada ekstrak n-butanol kulit batang Bungur

- (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)* 2008, 2(2), 12-16.
6. Rochman, J., Siswoyo, T.A., Ratnadewi, A.I. Antioxidant activity study and α -glucosidase inhibitor phenolic leaf extract Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) from Meru National Park Kediri. *Jurnal Ilmu Dasar* 2017, 17(1), 39-46.
 7. Wahid, A., Latu, S. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Klabet (*Ficus superba* Miq.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal of Pharmacy UMUS* 2023, 4(2), 23-30.
 8. Rosmalena, Widyastuti, P.A., Yazid, F., Ambarwati, N.S.S., Ahmad, I. Phytochemicals and antioxidant activity evaluation of *Origanum vulgare* (L.) stem bark extracts. *Pharmacog J* 2021, 13(4), 965-970. DOI: 10.5530/pj.2021.13.124
 9. Ahmad, I., Sulistiarini, R., Ahmad, I. Antioxidant activity of some selected East Borneo plants, *Int J Public Health Sci* 2015, 4(1), 58-62.
 10. Rosmalena, Putri N.A., Yazid, F., Ambarwati, N.S.S., Omar, H., Ahmad, I. Phytochemical, *in vitro* radical scavenging and *in vivo* oxidative stress analysis of peppermint (*Mentha piperita* L.). *J Adv Pharm Technol Res* 2022, 13(2), 133-137. DOI: 10.4103/japtr.japtr_16_22
 11. Wolosiak, R., Druzynska, B., Derewiaka, D., Piecyk, M., Majewska, E., Ciecierska, M., Worobiej, E., Pakosz, P. Verification of Conditions for Determination of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays – A practical approach. *Molecules* 2021, 27(1), 50. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>
 12. Singh S., Gupta, A., Verma, S. In vitro antioxidant activities of two medicinal plants on the basis DPPH free radical scavenging activity. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 2021, 4807-4811.