

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar dan Terpurifikasi Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Krisna Kharisma Pertiwi^{1*}, Dwi Wahyuni¹, Rosa Juwita Hesturini¹

¹Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Jl. Wahid Hasyim 65, Kediri, Jawa Timur

Email Correspondent*: krisna.pertiwi@iik.ac.id

Abstract

Bay leaves (Syzygium polyanthum) are one of Indonesia's biological resources that have long been utilized, particularly as a cooking spice and in traditional therapy. Current use by the public is still largely based on empirical evidence, and scientific validation is still needed to support its application. The aim of this study was to determine the antioxidant capacity of both crude and purified bay leaf extracts. Extraction was carried out using the maceration method with 96% ethanol as the solvent. Purification of the extract was performed using a liquid-liquid extraction method with a solvent ratio of ethanol to n-hexane = 1:1. Phytochemical screening was conducted on both the crude and purified extracts. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH method. Free radical scavenging was measured by UV-Vis spectrophotometry at the maximum wavelength. The results of phytochemical screening indicated that both crude and purified extracts contained alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins. The maximum absorbance wavelength was found at $\lambda = 514$ nm. The antioxidant activity (IC_{50}) of the crude and purified bay leaf extracts was 15.120 ± 0.039 ppm and 13.293 ± 0.039 ppm, respectively. These results indicate that bay leaves possess strong antioxidant potential.

Keywords: Bay Leaf, Antioxidant, Purified, DPPH

Abstrak

Daun salam merupakan salah satu kekayaan hayati Indonesia yang sudah banyak dimanfaatkan, khususnya adalah bumbu masakan dan terapi tradisional. Pemanfaatan oleh masyarakat saat ini masih berdasarkan bukti empiris, masih diperlukan dukungan sains terkait dengan penggunaannya. **Tujuan** penelitian ini adalah untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi daun salam. **Metode** ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut ethanol 96%. Purifikasi ekstrak dilakukan dengan metode cair-cair menggunakan pelarut ethanol : n-Heksana = 1:1. Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak kasar dan juga ekstrak terpurifikasi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan DPPH. Peredaman radikal bebas diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Sebagai pembanding digunakan vitamin C. **Hasil** skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan juga ekstrak terpurifikasi mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Panjang gelombang maksimum didapatkan pada $\lambda=514$ nm. Aktivitas antioksidan ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi daun salam secara berurutan menunjukkan IC_{50} mencapai 15.120 ± 0.039 ppm dan 13.293 ± 0.039 . Hasil ini menunjukkan bahwa potensi antioksidan daun salam tergolong kuat.

Kata Kunci: Daun, Salam, Antioksidan, Terpurifikasi, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara megabiodiversitas yang kaya akan tanaman obat tradisional yang telah digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat (Nuraeni et al., 2022). Salah satu tanaman yang memiliki potensi besar adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*), yang umumnya dimanfaatkan

sebagai bumbu masakan serta dalam pengobatan tradisional. Daun ini diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, tanin, dan alkaloid, yang berperan penting dalam memberikan efek farmakologis, termasuk sebagai antioksidan alami. Penggunaan daun salam oleh masyarakat sebagai pengobatan

tradisional meliputi antihipertensi, antikolesterol, antidiabetes dan antidiare (Shukla et al., 2023).

Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang dapat merusak sel dan jaringan tubuh melalui proses oksidatif. Akumulasi radikal bebas dalam tubuh telah dikaitkan dengan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, dan penuaan dini. Upaya mengatasi efek buruk dari radikal bebas, dibutuhkan antioksidan, baik yang bersumber dari dalam tubuh (endogen) atau luar tubuh (eksogen) (Gulcin & Alwasel, 2023). Antioksidan diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidatif tersebut. Antioksidan sintesis seperti *Butylated Hydroxytoluene (BHT)*, *Butylated Hydroxyanisole (BHA)* dan *tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)* sering digunakan dalam industri farmasi dan pangan, namun sering memberikan efek samping potensial apabila digunakan dalam jangka waktu panjang, diantaranya adalah gangguan hati, ginjal dan system saraf, risiko karsinogenik, gangguan endokrin dan munculnya reaksi alergi (Esazadeh et al., 2024)(Muflihah et al., 2021). Oleh karena itu, pencarian sumber antioksidan alami dari tanaman lokal seperti daun salam menjadi penting untuk dikembangkan sebagai alternatif bahan aktif dalam industri farmasi, pangan, dan kosmetik.

Salah satu sumber antioksidan eksogen yang penting adalah senyawa bioaktif dari tumbuhan, khususnya golongan fenolik dan flavonoid. Kedua golongan senyawa tersebut merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam tumbuhan dan dikenal memiliki antioksidan yang tinggi aktivitas antioksidan senyawa ini dikaitkan dengan kemampuannya untuk mendonorkan elektron atau atom hydrogen sehingga dapat menetralkan radikal bebas (Muflihah et al., 2021). Oleh karena itu, penetapan kadar total fenolik dan flavonoid dalam suatu tanaman menjadi penting sebagai indikator potensi

aktivitas antioksidan dari bahan tanaman tersebut.

Penelitian daun salam sebelumnya umumnya menggunakan ekstrak kasar yang merupakan hasil ekstraksi langsung tanpa proses pemurnian lebih lanjut. Ekstrak kasar masih mengandung campuran berbagai senyawa metabolit sekunder, baik yang aktif secara farmakologis ataupun senyawa pengotor yang tidak berkontribusi terhadap aktivitas farmakologis. Sedangkan ekstrak terpurifikasi diperoleh melalui proses pemisahan fraksi tertentu dari ekstrak kasar yang bertujuan untuk memperkaya senyawa aktif dan menghilangkan senyawa non aktif atau pengganggu (Younes et al., 2021). Oleh karena itu penting untuk mengevaluasi apakah proses pemurnian dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Meskipun pemanfaatan daun salam sudah meluas secara empiris, studi ilmiah mengenai kandungan senyawa aktif seperti kemampuan antioksidannya masih terbatas. Penelitian ini dilakukan untuk memberikan dasar ilmiah mengenai potensi farmakologis daun salam melalui pengujian aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH pada ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi pijakan awal untuk pengembangan daun salam sebagai bahan baku fitofarmaka atau suplemen antioksidan alami.

METODE

Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata. Sampel yang digunakan adalah ekstrak kasar dan terpurifikasi daun salam.

Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut ethanol 96% dengan perbandingan 1:10. Penguapan dilakukan pada suhu 50°C. Ekstrak kental

yang didapatkan selanjutnya dipurifikasi dengan metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut n-heksana : ethanol 96% = 1:1. Proses purifikasi diulangi hingga fraksi n-heksana menjadi bening. Fraksi ethanol yang didapatkan kemudian diuapkan dan didapatkan ekstrak terpurifikasi dan dihitung nilai rendemennya.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak kasar, fraksi n-heksana dan juga ekstrak terpurifikasi. Skrining dilakukan pada uji alkaloid dengan reagen mayer dan wagner, uji flavonoid dengan HCl dan serbuk Mg, uji saponin dengan pengocokan, sedangkan uji tanin dilakukan dengan FeCl₃.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan pada larutan DPPH 60 ppm. Sebanyak 2 mL larutan DPPH ditambahkan dengan 2 mL ethanol 96% kemudian dikocok hingga homogen lalu serapannya diukur pada rentang λ 400-800 nm. Larutan uji untuk ekstrak kasar maupun ekstrak terpurifikasi dibuat pada seri konsentrasi 10, 12, 14, 16, 18 ppm. Masing-masing larutan uji dipipet 2 mL kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 60 ppm. Inkubasi dilakukan selama 30 menit kemudian pengukuran absorbansi dilakukan pada lamda maksimal. Aktivitas antioksidan ekstrak ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan perhitungan berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier :

$$y = a + bx$$

Ketentuan :

y = persen inhibisi

x = konsentrasi

a = intersep

b = slope

Larutan pembanding dibuat dengan menimbang 5 mg vitamin C kemudian dilarutkan dengan ethanol p.a hingga mencapai 50 mL. Larutan baku seri Vitamin C dibuat dengan pengenceran pada konsentrasi 2,4,6,8,10 ppm. Larutan vitamin C dipipet 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 2 mL larutan DPPH dikocok hingga homogen kemudian diinkubasi 30 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal.

Analisa Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji Anova untuk menentukan apakah terdapat perbedaan nilai rata-rata secara signifikan antara hasil IC₅₀ ekstrak kasar, ekstrak terpurifikasi dan pembanding vitamin C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun salam dihasilkan ekstrak kasar dengan rendemen 17,38% dan ekstrak terpurifikasi dengan rendemen sebesar 6.69%. Proses purifikasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair. Proses ditujukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya, sehingga senyawa bioaktif terpisah dari pengotornya yang bersifat nonpolar, diantaranya adalah klorofil, wax, trigleserida dan sterol. Senyawa-senyawa tersebut tidak memiliki kontribusi terhadap bioaktivitas, namun justru dapat menghambat aktivitas biologis (Karlina et al., 2023).

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder yang sama, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin sesuai dengan tabel 1. Kandungan senyawa ini penting karena berkontribusi terhadap aktivitas biologis, termasuk aktivitas antioksidan. Kandungan flavonoid dan tanin memiliki peran utama dalam aktivitas antioksidan karena mampu mendonorkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Mziouid et al., 2022).

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH menunjukkan absorbansi 0.693 pada $\lambda=514$ nm. perhitungan persen inhibisi ekstrak kasar pada tabel 2.

Tabel 1. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Salam

Uji Firokimia	Hasil Uji		Metode/ Reagen
	Ekstrak Kasar	Ekstrak Terpurifikasi	
Alkaloid	+	+	Wagner
Flavonoid	+	+	HClp + serbuk Mg
Tanin	+	+	Dikocok + 2 tetes HCl 2 N
Saponin	+	+	FeCl ₃ 1%

Tabel 2. Perhitungan Persen Inhibisi Ekstrak Kasar Daun Salam

Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)		
	I	II	III
10	27,370	30,275	31,957
12	36,697	38,073	38,685
14	44,343	46,789	46,636
16	51,376	53,058	54,740
18	59,480	62,080	62,538

Tabel 3. Perhitungan Persen Inhibisi Ekstrak Terpurifikasi Daun Salam

Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)		
	I	II	III
10	40,824	40,691	41,356
12	45,745	46,011	46,144
14	51,596	51,729	51,995
16	59,574	59,973	59,973
18	65,16	65,559	65,957

Perhitungan IC₅₀ ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi daun salam ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata IC₅₀ Ekstrak Kasar dan Ekstrak Terpurifikasi Daun Salam

Replikasi	IC ₅₀	
	Ekstrak Kasar	Ekstrak Terpurifikasi

I	15.558 ppm	13.724 ppm
II	15.004 ppm	13.123 ppm
III	14.799 ppm	13.031 ppm
Rata-rata	15.120 ± 0.393	13.293 ± 0.307

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa daun salam merupakan sumber antioksidan alami. Baik ekstrak kasar maupun ekstrak terpurifikasi, memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Duan et al., 2021). Hal ini menunjukkan bahwa daun salam merupakan kandidat yang kuat untuk dikembangkan untuk produk suplemen kesehatan, kosmetika atau fitofarmasi. Selain itu antioksidan juga berperan dalam mencegah penyakit degeneratif yang dalam mekanismenya melibatkan stres oksidatif.

Pembandingan yang digunakan adalah vitamin C sebagai kontrol positif (Zia & Alibas, 2021). Harga IC₅₀ vitamin C ditunjukkan pada tabel 5. Dibandingkan dengan kontrol positif, ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi menunjukkan aktivitas antioksidan yang kompetitif walaupun lebih rendah. Hal ini dimungkinkan karena vitamin C merupakan senyawa tunggal yang murni memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi masih mengandung berbagai senyawa campuran (Duan et al., 2021).

Tabel 5. Perhitungan IC₅₀ Vitamin C

IC ₅₀		Rata-rata ± SD
Replikasi I	5,945 ppm	5,913 ± 0,028
Replikasi II	5,893 ppm	
Replikasi III	5,901 ppm	

KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi daun salam berturut-turut adalah 15.120 ± 0.393 dan 13.293 ± 0.307. Keduanya termasuk pada aktivitas antioksidan yang kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Duan, S.-C., Kwon, S.-J., & Eom, S.-H. (2021). Effect of Thermal Processing on Color, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Leaves and Seeds. *Antioxidants*, 10(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/antiox10081207>
- Esazadeh, K., Ezzati Nazhad Dolatabadi, J., Andishmand, H., Mohammadzadeh-Aghdash, H., Mahmoudpour, M., Naemi Kermanshahi, M., & Roosta, Y. (2024). Cytotoxic and genotoxic effects of tert-butylhydroquinone, butylated hydroxyanisole and propyl gallate as synthetic food antioxidants. *Food Science & Nutrition*, 12(10), 7004–7016.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Karlina, N., Kunaedi, A., Ahidin, D., Jannah, U., & Zahiyah, Y. (2023). Antioxidant Activity Test of African Leaves Purification Extract (*Vernonia Amygdalina* Del) With Dpph Method. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 1–10.
- Muflihah, Y. M., Gollavelli, G., & Ling, Y.-C. (2021). Correlation Study of Antioxidant Activity with Phenolic and Flavonoid Compounds in 12 Indonesian Indigenous Herbs. *Antioxidants*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/antiox10101530>
- Mziouid, A., Chebli, B., Berrabah, M., Chebli, H., Heimeur, N., Bounimi, S., & Mayad, E. H. (2022). Phytochemical screening and antioxidant activity of four Moroccan aromatic plant methanolic extracts and essential oils. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 8(2), Article 2. <https://doi.org/10.48347/IMIST.PRSM/ajmap-v8i2.27129>
- Nuraeni, S., Supangkat, B., & Iskandar, J. (2022). Kajian Etnobotani Tanaman Rempah sebagai Bumbu, Obat dan Kias. *Umbara*, 7(1), 27–38. <https://doi.org/10.24198/umbara.v7i2.39395>
- Shukla, R., Jain, N., Rai, G., Pandey, V., Mourya, P., & Pal, B. (2023). Unlocking the potential of bay leaf: Exploring its role as a nutraceutical carrier through ethnomedicinal and pharmacological insights. 3.
- Younes, K. M., Romeilah, R. M., El-Beltagi, H. S., Moll, H. E., Rajendrasozhan, S., El-Shemy, H. A., & Shalaby, E. A. (2021). In-vitro evaluation of antioxidant and antiradical potential of successive extracts, semi-purified fractions and biosynthesized silver nanoparticles of *Rumex vesicarius*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(1), 12293–12293. <https://doi.org/10.15835/nbha491123>
- Zia, M. P., & Alibas, I. (2021). Influence of the drying methods on color, vitamin C, anthocyanin, phenolic compounds, antioxidant activity, and *in vitro* bioaccessibility of blueberry fruits. *Food Bioscience*, 42, 101179. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101179>