

## FENOL, FLAVONOID, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK KULIT BATANG PULAI (*Alstonia scholaris* R.Br)

(*Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Alstonia scholaris R.Br Stem Bark Extract*)

Zuraida<sup>1</sup>, Sulistiyan<sup>2</sup>, Dondin Sajuthi<sup>3</sup>, & Irma Herawati Suparto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Bogor 16680

<sup>2</sup>Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Bogor 16680

<sup>3</sup>Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Bogor 16680

E-mail: zuraidaus21@gmail.com

Diterima 7 Juli 2017, Direvisi 24 Agustus 2017, Disetujui 20 September 2017

### ABSTRACT

*Alstonia scholaris* R.Br belongs to family Apocynaceae, is one of medicinal forest plant as traditional medicine to treat fever, malaria, cough with phlegm, diarrhea, diabetes, cholesterol-lowering, intestinal worms, acute rheumatism, ulcers, and hypertension. One of the causes of heart disease, atherosclerosis, and cancer is oxidative stress. The stress can be cured or reduced by taking antioxidant. Flavonoid, a phenol compound class, is one of the secondary plant metabolites that function as antioxidant. This paper determines total levels of phenol, flavonoid, and antioxidant activity of *Alstonia* stem bark extract (*Alstonia scholaris* R. Br). Quantitative determination of total phenolics with the folin-ciocalteu method expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of extract, total flavonoids content by AlCl<sub>3</sub> method expressed as Quercetin equivalen (QE), and in vitro antioxidant activities with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method expressed in terms of IC<sub>50</sub> (inhibition concentration). Results show that extraction of three replicates in maceration with 96% ethanol yielded 4.19 % filtrate. The total phenolic content was 51.50 mg GAE/g extract, while the total flavonoid content was 0.35 mg QE/g extract. IC<sub>50</sub> value of antioxidant activity assay of stem bark extract was 211.54 µg/mL.

**Keywords:** *Alstonia scholaris*, antioxidant, phenol, flavonoid, medicinal forest plant, folin-ciocalteu method, AlCl<sub>3</sub> method, DPPH method

### ABSTRAK

Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br), family Apocynaceae adalah salah satu tumbuhan hutan yang berfungsi sebagai obat tradisional untuk mengobati demam, malaria, batuk berdahak, diare, kencing manis, penurun kolesterol, cacingan, rematik akut, borok, dan hipertensi. Salah satu penyebab penyakit jantung, aterosklerosis, dan kanker adalah stres oksidatif. Stres ini dapat disembuhkan atau dikurangi dengan menggunakan antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa fenol dan termasuk salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan yang berfungsi sebagai antioksidan. Tulisan ini mempelajari kandungan total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang pulai. Penentuan kuantitatif total fenol dengan metode folin-ciocalteu dinyatakan sebagai gallic acid equivalent (GAE) per gram ekstrak, kadar flavonoid total dengan metode AlCl<sub>3</sub> dinyatakan sebagai Quercetin equivalen (QE), dan aktivitas antioksidan *in vitro* dengan DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yang dinyatakan dalam istilah IC<sub>50</sub> (inhibition concentration). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi tiga ulangan dalam maserasi dengan etanol 96% menghasilkan 4,19% filtrat. Kandungan fenol total adalah 51,50 mg GAE/g ekstrak, sedangkan kandungan flavonoid total adalah 0,35 mg QE/g ekstrak. Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari hasil pengujian antioksidan ekstrak kulit batang adalah 211,54 µg/mL.

Kata kunci: *Alstonia scholaris*, antioksidan, fenol, flavonoid, metode folin-ciocalteu, metode AlCl<sub>3</sub>, metode DPPH

## I. PENDAHULUAN

Perubahan pola hidup dalam masyarakat dapat menimbulkan penyakit degeneratif. Salah satu penyakit degeneratif yang banyak menimbulkan kematian adalah penyakit kardiovaskular yang berhubungan dengan jantung dan pembuluh darah. Kematian akibat penyakit kardiovaskular lebih dari 80% di negara berkembang termasuk negara di Asia (*World Health Organization* (WHO) 2011). Kematian karena penyakit jantung koroner berhubungan erat dengan konsentrasi total kolesterol darah dan asupan lemak yang berlebihan dalam jangka waktu yang lama dan ditunjang beberapa faktor yang lain yang dapat menyebabkan aterosklerosis sebagai penyebab jantung koroner.

*National Heart Lung and Blood Institute* (NHLBI, 2012) aterosklerosis adalah suatu keadaan dimana pembuluh darah akan kurang elastisitasnya, penumpukan lemak pada lumen pembuluh, dan terjadi penyempitan pada lumen, sehingga darah yang akan menuju jantung tidak dapat bersirkulasi secara lancar, dan berpotensi terjadinya penyakit jantung koroner. Mekanisme aterosklerosis salah satunya dipicu oleh stres oksidatif dari *reactive oxygen species* (ROS). Kelebihan produksi ROS merupakan faktor penting dalam inflamasi yang akan menyebabkan gangguan pada peredaran darah dan perubahan pada dinding pembuluh arteri. ROS menyebabkan perubahan dinding pembuluh arteri melalui proliferasi sel otot polos dan akan meningkatkan inflamasi. Perkembangan respon inflamasi akan semakin meningkatkan produksi ROS oleh fagositosis. Hal tersebut merupakan tahap awal terjadinya aterosklerosis (Panth, Paudel, & Parajuli, 2016).

Tahap awal aterosklerosis ini dapat dicegah menggunakan senyawa antioksidan atau suatu zat yang dapat melindungi molekul target dari serangan ROS. Tubuh sesungguhnya menghasilkan senyawa antioksidan endogen seperti SOD (*Superoxide Dismutase*), Gpx (*Glutation peroxidase*), dan catalase yang berperan menjaga fungsi endotel pembuluh darah dari serangan radikal bebas. Namun tubuh manusia mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah terbatas, sehingga dalam keadaan stres oksidatif, dimana kemampuan tubuh untuk menangkal radikal bebas lebih kecil dibandingkan jumlah radikal bebas yang ada, tubuh akan membutuhkan asupan

antioksidan dari luar (antioksidan eksogen). Antioksidan eksogen dapat berasal dari alami maupun sintetik. Antioksidan sintetik dilaporkan memiliki efek samping bersifat hepatotoksik dan karsinogenesis. Kekhawatiran efek samping dari antioksidan sintetik ini menyebabkan pemanfaatan antioksidan alami menjadi salah satu alternatif yang sangat dibutuhkan karena lebih efektif dan kurang toksik (Zeng, Deng, Lv, & Peng, 2014).

Tanaman obat merupakan sumber antioksidan eksogen yang bersifat alami. Antioksidan alami yang terkandung pada tanaman yaitu senyawa polifenol, karotenoid, dan vitamin. Antioksidan ini memiliki berbagai efek farmakologis seperti antiinflamasi, antikanker, antibakteri, dan antivirus (Saxena, Saxena, & Pradhan, 2012; Xu et al., 2017). Salah satu tanaman di Indonesia yang dimanfaatkan masyarakat secara tradisional sebagai obat adalah batang pulai (*Alstonia scholaris* R. Br.). Bagian tanaman yang sering digunakan adalah daun, kulit batang, dan bunga. Tanaman pulai di Indonesia telah dimanfaatkan masyarakat secara tradisional untuk pengobatan demam, malaria, batuk berdahak, diare, kencing manis, penurun kolesterol, cacingan, rematik akut, borok, hipertensi. Tanaman pulai diketahui mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, sehingga diharapkan dapat melindungi sel terhadap oksidasi lipid (Banjarnahor & Artanti, 2014; Brunetti, Ferdinando, Fini, Pollastri, & Tattini, 2013).

Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Banjarnahor & Artanti, 2014; Treml & Smejkal, 2016). Uji fitokimia terhadap ekstrak daun *Alstonia scholaris* mengandung alkaloid, tanin, saponin, triterpenoids, dan flavonoid. Selain itu, pengujian aktivitas antioksidan dengan ekstrak etanol *Alstonia scholaris* dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), terbukti mempunyai aktivitas antioksidan secara *in vitro* (Antony et al., 2011; Arulmozhi, Mazumder, Ashok, & Narayanan, 2007).

Aktivitas antioksidan dari komponen fenol dan flavonoid dengan cara mereduksi radikal bebas

tergantung pada jumlah gugus hidroksi pada struktur molekulernya. Adanya keterkaitan antara struktur senyawa flavonoid dan fenol dengan aktivitasnya sebagai antioksidan sebagai dasar dilakukannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan mengetahui kontribusi linear kandungan total fenol, total flavonoid, dan potensi aktivitas antioksidan kulit batang pulai.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia kulit batang pulai berukuran 80 mesh yang diperoleh dari CIFOR (*Center International Forest Research*), Bogor. Bahan utama lain yang digunakan yaitu kuersetin, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), dan asam galat. Bahan lain yang digunakan yaitu etanol, asam asetat glasial 5%,  $\text{AlCl}_3$  2%, HCl 25%, heksametiltetramin (HMT) 0,5%, aseton, etil asetat, pereaksi folin Ciocalteu, dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Alat utama yang digunakan yaitu neraca analitik Scale AND GR-200 series, HITACHI UV/VIS Spektrofotometer U2800 BRUKER, dan EPOCH *Microplate Spectrophotometer*. Alat-alat pendukung yang digunakan yaitu alat-alat gelas, pendingin tegak, *micropipet* Thermo Scientific 10  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , dan 1000  $\mu\text{l}$ , *microplate* Falcon, dan sonikator BRANSON B1510.

### B. Metode Penelitian

#### 1. Sampel dan preparasi ekstrak (Swastiratu, 2015)

Kulit batang pulai dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C hingga mencapai kadar air <10% dan digiling dengan *hammermill* hingga berbentuk serbuk simplisia ukuran 80 mesh. Simplisia kulit batang pulai diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96% (1:10). Maserasi dilakukan selama 72 jam, dan disaring sehingga diperoleh filtratnya. Filtrat dipekatkan dengan evaporator pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol kulit batang pulai. Penggunaan suhu 50°C pada evaporator juga dilakukan oleh Lusiana, (2015) dan Madiha, Rukayadi, & Norhayati (2017).

#### 2. Analisis Total Fenol (Purnama, 2015)

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 25 mL etanol 96%. Dua ml larutan tersebut dimasukkan ke tabung reaksi lalu ditambahkan 5 ml aquabidest, dan 0,5 ml pereaksi Folin-Ciocalteu 50% lalu dikocok dengan vorteks. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit lalu ditambahkan 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%, diaduk, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Absorban larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 725 nm. Standar yang digunakan yaitu asam galat dengan berbagai konsentrasi (10; 30; 50; dan 70  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

Penetapan kadar fenol menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenol. Senyawa fenol mereduksi fosfomolibdat fosfatungstat membentuk molibdenum berwarna biru (Huang, Ou, & Prior, 2005).

#### 3. Analisis total flavonoid (Purnama, 2015)

Sebanyak 0,2 g ekstrak, 1 ml heksametiltetraamin (HMT) 0,5%, 20 ml aseton, dan 2 ml HCl 25% dimasukkan ke labu Erlenmeyer 250 ml. Campuran tersebut dihidrolisis dengan cara direfluks pada suhu 100°C selama 30 menit. Filtrat hasil hidrolisis disaring dengan kertas saring ke labu takar 100 ml lalu ditambahkan aseton sampai tera. Sebanyak 20 ml larutan filtrat, 20 ml air, 15 ml etil asetat dimasukkan ke corong pisah. Cairan yang berada di lapisan atas dimasukkan ke labu takar 50 ml. Pengerjaan dilakukan sebanyak 3 kali dengan pelarut yang sama ke corong pisah. Sebanyak 10 ml dari labu takar tersebut dimasukkan ke labu takar 25 ml lalu ditambahkan 1 ml  $\text{AlCl}_3$  2% dan asam asetat glasial 5% sampai tera. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorban larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm. Standar yang digunakan yaitu kuersetin dengan berbagai konsentrasi (0,1; 0,5; 1; 3; 5; dan 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

Metode kolorimetri digunakan pada pengukuran total flavonoid yang didasarkan pada pembentukan reaksi kompleks antara flavonoid dengan alumunium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ). Larutan  $\text{AlCl}_3$  akan membentuk kompleks yang stabil dengan gugus keto C4 dan gugus hidroksil dari C3 atau C5 pada flavon dan flavonol (Umar, 2008).

4. Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Aranda, Lopez, Arroyo, Garza, & Torres, 2011).

Ekstrak kasar kulit batang pulai dilarutkan dalam etanol 96% dengan konsentrasi 400, 200, 100, 50, dan 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Sebanyak 100  $\mu\text{l}$  dari masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam well pada *microplate*, lalu ditambahkan 100  $\mu\text{l}$  DPPH 125  $\mu\text{M}$ . Sebanyak 200  $\mu\text{l}$  etanol dimasukkan ke dalam sumur sebagai blanko. Kuersetin digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 5; 1,5; 1,25; 0,63 dan 0,31  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang dalam keadaan gelap selama 30 menit. Serapan diukur dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Rendemen Ekstrak

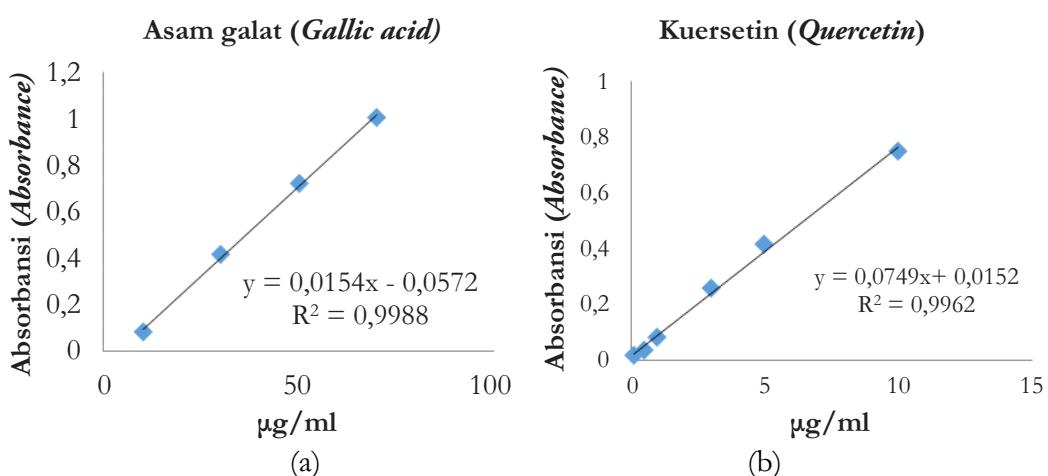
Rendemen yang dihasilkan dari ekstrak kulit batang pulai dengan pelarut etanol 96% yaitu  $4,19\% \pm 0,004$ . Rendemen tersebut menunjukkan komponen aktif yang berhasil terekstraksi. Ekstraksi bertujuan memisahkan komponen aktif seperti metabolit sekunder dari suatu tanaman menggunakan pelarut tertentu. Nilai rendemen yang diperoleh pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan penelitian Swastiratu (2015) sebesar 4,33%. Hasil rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain varietas tanaman, umur tanaman, proses pemeliharaan tanaman,

faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman, juga proses panen, serta proses pengolahan tanaman tersebut (Ayunda, 2014).

Pemilihan metode maserasi pada ekstraksi karena mudah dilakukan dan dapat melindungi senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Etanol digunakan sebagai pelarut ekstraksi karena etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar dengan indeks kepolaran sebesar 5,2 sehingga mampu mengekstraksi senyawa dengan kepolaran yang lebih beragam (Torres, Velasquez, & Brito-Arias, 2011). Menurut Dai & Mumper (2010), etanol merupakan pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa polifenol dan pelarut yang aman untuk obat-obatan. Selain itu, etanol juga memiliki kemampuan yang baik dalam menembus dinding sel sehingga lebih mudah dalam mengekstraksi metabolit sekunder (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, & Kaur, 2011).

#### B. Total Fenol dan Total Flavonoid

Analisis ini bertujuan menentukan kadar total fenol dan total flavonoid dalam ekstrak yang diperoleh dari persamaan kurva standar. Konsentrasi asam galat terhadap data absorban menghasilkan persamaan garis kurva standar  $y = 0,0154x - 0,0572$  dengan nilai  $R^2 = 0,9988$  (Gambar 1). Dari persamaan tersebut diperoleh kadar total fenol sebesar 51,50 mg GAE/g ekstrak. Sementara kadar total flavonoid sebesar 0,35 mg QE/g ekstrak diperoleh dari persamaan kurva standar kuersetin  $y = 0,0749x + 0,0152$  dengan nilai  $R^2 = 0,9962$  (Gambar 1). Kadar total



**Gambar 1. Kurva standar a) asam galat, b) kuersetin**  
**Figure 1. Standard curve of a) gallic acid, b) quercetin**

fenol yang diperoleh lebih besar dari pada kadar total flavonoidnya karena flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenol. Ekstrak kulit batang pulai memiliki kadar total fenol dan total flavonoid yang tidak berbeda jauh dengan ekstrak daun pulai dari penelitian (Purnama, 2015) yaitu 57,24 mg GAE/g ekstrak dan 1,72 mg QE/g ekstrak.

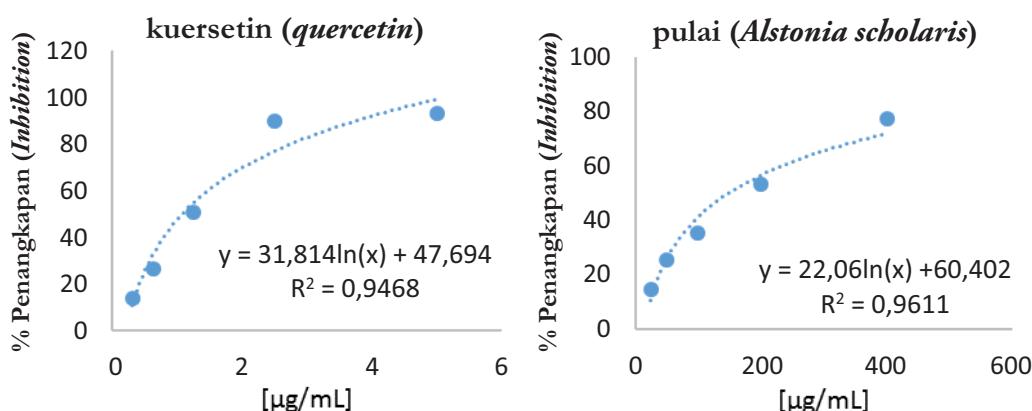
Penelitian Ramachandra, Ashajyothi, dan Rai (2012) menyatakan kadar total fenol dan flavonoid ekstrak metanol kulit batang pulai berturut-turut 46,11 mg GAE/g ekstrak dan 20,16 mg QE/g ekstrak. Dhruti, Bhavika, & Meonis (2016) juga membuktikan kadar total fenol dan flavonoid pada ekstrak air masing-masing 46,87 mg GAE/g ekstrak dan 37,51 mg QE/g ekstrak, sedangkan ekstrak metanolnya memiliki kadar masing-masing 49 mg GAE/g ekstrak dan 26,38 mg QE/g ekstrak. Kadar total fenol pada penelitian ini lebih tinggi daripada penelitian Ramachandra et al. (2012) dan Dhruti et al. (2016), namun kadar total flavonoidnya lebih rendah. Perbedaan kadar total fenol dan total flavonoid disebabkan perbedaan tempat tumbuh tanaman yaitu Indonesia pada penelitian ini, dan India pada penelitian Ramachandra et al., (2012) dan Dhruti et al. (2016). Menurut Borges et al. (2013), faktor lingkungan seperti komposisi tanah, suhu, curah hujan, dan radiasi ultraviolet dapat mempengaruhi konsentrasi komponen fenol termasuk flavonoid. Selain itu, pelarut merupakan faktor penting dalam mengekstraksi komponen fenolik dan flavonoid. Flavonoid

terdistribusi secara luas pada jaringan tanaman dalam bentuk glikosida yang bersifat polar (Khoddami, Wilkes, & Roberts, 2013). Oleh karena itu, metanol dan air yang bersifat lebih polar mampu mengekstraksi komponen flavonoid lebih baik dari pada etanol yang merupakan pelarut ekstraksi pada penelitian ini.

### C. Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kasar kulit batang pulai pada pengujian antioksidan dilarutkan dalam etanol 96% dengan konsentrasi 400; 200; 100; 50; dan 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Analisis ini bertujuan menentukan nilai persen penangkapan atau *inhibition concentration* ( $\text{IC}_{50}$ ) ekstrak terhadap radikal DPPH.  $\text{IC}_{50}$  merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas DPPH (Molyneux, 2004). Gambar 2 menunjukkan kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak terhadap persen penangkapan. Berdasarkan kurva tersebut diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  dari ekstrak kulit batang pulai sebesar 211,54  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , sedangkan kuersetin sebagai kontrol positifnya memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  1,08  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Nilai  $\text{IC}_{50}$  berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidannya. Semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$ nya, maka aktivitas antioksidannya semakin kuat. Hal ini menunjukkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan 196 kali lebih kuat dari pada ekstrak kulit batang pulai.

Nilai  $\text{IC}_{50}$  yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dari pada penelitian Ramachandra et al. (2012) yang menyebutkan bahwa ekstrak



Gambar 2. Kurva konsentrasi ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) terhadap persen penangkapan dari a) kuersetin, b) pulai

Figure 2. Concentration curve ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) on inhibition percentage of a) quercetin, b) pulai

metanol kulit batang pulai mampu menghambat 50% DPPH pada konsentrasi 600 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat. Namun, nilai IC<sub>50</sub> dari penelitian ini lebih tinggi dari pada penelitian (Purnama, 2015) yang menguji ekstrak etanol 96% daun pulai sebesar 55,49 µg/ml. Hal tersebut mengindikasikan bahwa daun pulai memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dari pada kulit batangnya. Adapun total flavonoid dan total fenol dari ekstrak etanol daun pulai masing-masing 57,24 mg GAE/g ekstrak dan 1,72 mg QE/g ekstrak (Purnama, 2015).

Perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh dipengaruhi oleh kadar total fenol dan total flavonoidnya. Senyawa fenol dan flavonoid memiliki kontribusi linier terhadap aktivitas antioksidan, sehingga semakin tinggi kadarnya maka semakin baik pula antioksidannya (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh, 2011). Kadar total fenolik yang tinggi pada ekstrak kulit batang pulai diduga memiliki peran penting sebagai antioksidan. Selain flavonoid, komponen fenolik lainnya seperti tanin diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Amarowicz, 2007; Saxena, Saxena, Nema, Singh, & Gupta, 2013). Selain itu, metabolit sekunder lain pada kulit batang pulai seperti alkaloid dan terpenoid yang dilaporkan oleh Antony et al. (2011) juga berkontribusi sebagai antioksidan. Hal ini dinyatakan oleh Al-Jaber, Awaad, dan Moses (2011) bahwa komponen fenolik (flavonoid dan tanin), alkaloid, terpenoid, dan komponen sulfur organik berperan sebagai antioksidan alami.

Aktivitas antioksidan tidak selalu dikorelasikan dengan kadar fenol maupun flavonoid. Hal ini dapat disebabkan adanya beberapa faktor seperti perbedaan komponen aktif pada tanaman, efek sinergis ataupun efek antagonis antara komponen aktif yang terkandung, kondisi penelitian, dan metode yang digunakan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan pada tanaman (El Gengaihi, Ella, Emad, Shalaby, & Doha, 2014).

Metode DPPH dipilih pada pengujian aktivitas antioksidan ini karena memiliki prosedur yang mudah dan cepat untuk mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal dari antioksidan non-enzimatik. Radikal DPPH merupakan radikal yang stabil dan memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Prinsip pengujiannya yaitu adanya transfer elektron dan transfer atom hidrogen antara antioksidan dengan radikal DPPH, sehingga DPPH (Difenil Pikril Hidrazil) akan tereduksi menjadi DPPH-H (difenil pikril hidrazin) dan terjadi perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Iqbal, Salim, & Lim, 2015; Liang & Kitts, 2014).

Kandungan fenol kulit batang pulai ( $51,50 \pm 5,07$  mg GAE/g ekstrak) pada penelitian ini termasuk sedang, sedangkan kandungan flavonoidnya ( $0,35 \pm 0,05$  mg QE/g ekstrak) tergolong sedikit apabila dibandingkan dengan beberapa penelitian yang lain dengan sampel uji bagian kulit batang. Berikut adalah Tabel 1 yang merangkum hasil penelitian kandungan fenol dan flavonoid dari kulit batang beberapa tanaman sebagai perbandingannya.

**Tabel 1. Rangkuman hasil penelitian kandungan fenol dan flavonoid kulit batang pohon**  
**Table 1. Summary of the results on studies of phenol & flavonoids content of tree bark extract**

Ekstrak Kulit Batang (Bark Extract)	Total Fenol (Phenol Total, mg GAE/g)	Total Flavonoid (Flavonoids Total, mg QE/g)
<i>Terminalia catappa</i> <sup>1</sup>	$71,41 \pm 2,05$	$83,03 \pm 1,76$
<i>Goniothalamus velutinus</i> <sup>2</sup>	$68,33 \pm 2,61$	$42,84 \pm 2,38$
<i>Moringa oleifera</i> <sup>3</sup>	$44,03 \pm 0,92$	$28,33 \pm 1,55$
<i>Oroxylum indicum</i> <sup>4</sup>	$15,5 \pm 0,04$	$2,075$
<i>Acacia ataxacantha</i> <sup>5</sup>	$3,65 \pm 0,93$	$2,46 \pm 0,36$

Keterangan (remarks): 1) Rajesh, Potty, dan Sreelekshmy (2016), 2) Iqbal et al. (2015), 3) Abdulkadir, Zawawi, & Jahan (2015), 4) Samatha, Shyamsundarachary, Srinivas, dan Swamy (2012), 5) Amoussa, Sanni, & Lagnika (2015)

## IV. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Ekstrak kulit batang pulai memiliki kadar fenol sedang yaitu 51,5 mg GAE/g ekstrak, sedangkan kadar flavonoidnya sedikit yaitu 0,35 mg QE/g ekstrak. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kulit batang pulai dengan metode DPPH sebesar 211,54 µg/ml.

### B. Saran

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan analisis senyawa fitokimia dan kadar total tanin serta identifikasi senyawa pada ekstrak kulit batang pulai sehingga diketahui senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Selain itu, penelitian ini bisa dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya tentang mekanisme kerja terhadap hambatan oksidasi LDL dan akumulasi kolesterol pada makrofag secara *in vitro*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Dimas Andrianto, M.Si. atas sarannya dalam persiapan penulisan manuskrip penelitian ini. Terima kasih juga kepada Siti Khodijah, S.Si. sebagai asisten di laboratorium.

## DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization (WHO). (2011). *World health statistic*. Geneva (CH): WHO Pr.
- Abdulkadir, A., Zawawi, D., & Jahan, M. (2015). DPPH antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of different part of Drumstic tree (*Moringa oleifera* Lam.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(4), 1423-1428.
- Al-Jaber, N., Awaad, A., & Moses, J. (2011). Review on some antioxidant plants growing in Arab world. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15, 293-307. doi: 10.1016/j.jscs.2011.07.004.
- Amarowicz, R. (2007). Tannins: The new natural antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 549-551. doi: 10.1002/ejlt.200700145.
- Amoussa, A., Sanni, A., & Lagnika, L. (2015). Antioxidant activity and total phenolic, flavonoid and flavonol contents of the bark extracts of *Acacia ataxacantha*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(2), 172-178.
- Antony, M., Menon, D., James, J., Dev, L., Arun, K., & Thankamani, V. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Alstonia scholaris*. *Pharmacognosy Journal*, 3(26), 13-18. doi: 10.5530/pj.2011.26.3
- Aranda, R., Lopez, L., Arroyo, J., Garza, B., & Torres, N. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1-7. doi: 10.1093/ecam/nep127.
- Arulmozhi, S., Mazumder, P. M., Ashok, P., & Narayanan, L. S. (2007). In vitro antioxidant and free radical scavenging activity of *Alstonia scholaris* Linn. R. Br. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 6, 191-196.
- Ayunda, R. (2014). *Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun serai (*Cymbopogon citratus*) dan potensinya sebagai pencegah oksidasi lipid* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Banjarnahor, S., & Artanti, N. (2014). Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 239-244. doi:10.13181/mji.v23i4.1015
- Borges, L., Alves, S., Sampaio, B., Conceicao, E., Bara, M., & Paula, J. (2013). Environmental factors affecting the concentration of phenolic compounds in *Myrcia tomentosa* leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(2), 230-238. doi:10.1590/S0102-695X2013005000019.
- Brunetti, C., Ferdinando, M., Fini, A., Pollastri, S., & Tattini, M. (2013). Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: Relative significance in plants and humans. *International Journal of Molecular Sciences* 14(2), 3540-3555. doi: 10.3390/ijms14023540.

- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352. doi: 10.3390/molecules-15107313.
- Dhruti, M., Bhavika, P., & Meonis, P. (2016). Studies on phytochemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia scholaris*. *International Journal of Life Science*, 4(4), 529-538.
- El Gengaihi, S., Ella, F., Emad, M., Shalaby, E., & Doha, H. (2014). Food processing & technology antioxidant activity of phenolic compounds from different grape wastes. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(2), 1-5. doi: 10.4172/2157-7110.1000296.
- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703. doi: 10.5897/JMPR11.363
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Iqbal, E., Salim, K. A., & Lim, L. B. L. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University - Science*, 27(3), 224-232. doi: 10.1016/j.jksus.2015.02.003.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules* 18(2), 2328-2375. doi: 10.3390/molecules18022328.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19, 19180-19208.
- Lusiana. (2015). Potensi antioksidasi ekstrak etanol jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Gradien*, 11(1), 1066-1069.
- Madiha, I., Rukayadi, Y., & Norhayati, H. (2017). Effects of extraction conditions on yield , total phenolic contents and antibacterial activity of methanolic *Cinnamomum zeylanicum* Blume leaves extract. *International Food Research Journal*, 24(2), 779-786.
- Molyneux, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Education and Technology*, 26, 211-219.
- National Heart Lung and Blood Institute, (NHLBI). (2012). *Morbidity and mortality: 2012 Chart book on cardiovascular, lung, and blood disease*. US. Department of Health and Human Services.
- Panth, N., Paudel, K., & Parajuli, K. (2016). Reactive oxygen species: A key Hallmark of cardiovascular disease. *Advances in Medicine*, 1-12. doi: 10.1155/2016/9152732
- Purnama, R. (2015). *Aktivitas antioksidan, kandungan total fenol, dan flavonoid lima tanaman hutan yang berpotensi sebagai obat alami*. (Skripsi Sarjana). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rajesh, B., Potty, V., & Sreelekshmy, S. (2016). Study of total phenol, flavonoids, tannin contents and phytochemical screening of various crude extracts of *Terminalia catappa* leaf, stem bark and fruit. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture*, 2(6), 291-296.
- Ramachandra, Y. L., Ashajyothi, C., & Rai, S. P. (2012). Antioxidant activity of *Alstonia scholaris* extracts containing flavonoid and phenolic compounds. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(SUPPL.3), 424-426.
- Samatha, T., Shyamsundarachary, R., Srinivas, P., & Swamy, N. (2012). Quantification of total phenolic and total flavonoid contents in extracts of *Oroxylum indicum* L. Kurz. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4), 177-179.
- Saxena, M., Saxena, J., & Pradhan, A. (2012). Flavonoids and phenolic acids as

- antioxidants in plants and human health. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 16(2), 130-134.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. (2013). Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 168-182. doi: 10.1007/978-1-4614-3912-7\_4.
- Swastiratu, C. (2015). *Inhibisi ekstrak pulai (*Alstonia scholaris*) terhadap aktivitas siklooksigenase-2 secara in vitro* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction - A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
- Torres, L., Velasquez, A., & Brito-Arias, M. (2011). Ca-alginate spheres behavior in presence of some solvents and water-solvent mixtures. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2(1), 8-12. doi: 10.4236/abb.2011.21002
- Treml, J., & Smejkal, K. (2016). Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 720-738. doi: 10.1111/1541-4337.12204.
- Umar, F. (2008). *Optimisasi ekstraksi flavonoid total daun jati belanda* (Skripsi Sarjana). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Xu, D., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ... Li, H. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(96), 1-32. doi: 10.3390/ijms18010096
- Zeng, Y., Deng, M., Lv, Z., & Peng, Y. (2014). Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. *SpringerPlus*, 3, 315. doi: 10.1186/2193-1801-3-315.