

Analisis Potensi Antioksidan Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba* Span.) sebagai Agen Anti Penuaan Dini

Rizqa Salsabila Firdausia*, Kholif Sholehah Indra Kurniasih, Agnes Diani, Rita Rusmeilina

Prodi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Jl. Brawijaya Jl. Ringroad Barat, Gamping Kidul, Ambarketawang, Kec. Gamping, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55294

*Penulis korespondensi: rizqasalsabilaf@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v11.n1.43034>

Abstrak: Penuaan merupakan suatu proses alamiah yang dapat dipengaruhi oleh radikal bebas. Adanya radikal bebas dapat dicegah oleh agen antioksidan. Salah satu tanaman hias yang diketahui mengandung fenolik dan flavonoid serta aktivitas antioksidan yaitu daun kayu bulan (*Pisonia alba* S). Berdasarkan penelusuran pustaka, belum terdapat penelitian yang membandingkan aktivitas antioksidan daun kayu bulan dengan metode DPPH, FRAP dan ABTS. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui potensi daun kayu bulan sebagai agen anti penuaan dini melalui analisis kemampuan antioksidan dengan metode DPPH, FRAP dan ABTS. Penelitian dilakukan dengan mengekstraksi daun kayu bulan dengan metode maserasi. Ekstrak kental yang diperoleh diuji antioksidan dengan metode DPPH, FRAP, dan ABTS dengan pembandingan kuersetin dan vitamin C. Berdasarkan hasil uji dengan metode DPPH, FRAP dan ABTS didapatkan aktivitas antioksidan tertinggi hingga terendah secara berurutan yaitu kuersetin, vitamin C dan ekstrak etanol daun kayu bulan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kayu bulan termasuk ke dalam kategori antioksidan sedang yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} terhadap DPPH $248,524 \pm 9,819$, FRAP value $7,408 \pm 0,277$, dan IC_{50} terhadap ABTS $173,972 \pm 7,817$. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kayu bulan (*Pisonia alba* S) memiliki aktivitas antioksidan dengan kemampuan sedang dengan uji DPPH, FRAP dan ABTS. Artinya, daun kayu bulan memiliki potensi untuk diteliti lebih lanjut sebagai suatu agen anti penuaan dini.

Kata kunci: aging, antioksidan, kayu bulan, kolbanda, *Pisonia alba*

Abstract: Aging is a natural process that can be influenced free radicals factor. It can be prevented by antioxidants. One of plants known had antioxidant activity is kayu bulan leaves (*Pisonia alba* S). Based on the study, there has been no further research comparing the antioxidant activity of kayu bulan leaves on the DPPH, FRAP and ABTS methods. The aim of this research is knowing the potential of kayu bulan leaves as an anti-aging agent through the analysis of antioxidant capabilities using the DPPH, FRAP and ABTS methods. The research was conducted by extracting kayu bulan leaves by maceration method. Viscous extract was tested for antioxidants using three methods with comparisons of quercetin and vitamin C. Based on the test results showed that the ethanolic extract of kayu bulan leaves was included in the moderate antioxidant category as indicated by the IC_{50} value againsts DPPH $248,524 \pm 9,819$, FRAP value $7,408 \pm 0,277$, and IC_{50} against ABTS $173,972 \pm 7,817$. It can be concluded that the ethanolic extract of kayu bulan leaves has antioxidant activity based on DPPH, FRAP and ABTS methods. It shows that kayu bulan leaves have the potential to be further investigated as an anti-aging agent.

Keywords: aging, antioksidan, kayu bulan, kolbanda, *Pisonia alba*

PENDAHULUAN

Penuaan merupakan suatu proses alamiah yang terjadi pada manusia seiring bertambahnya umur, namun kecepatan terjadinya penuaan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. *Reactive oxygen species* (ROS) merupakan salah satu faktor yang berperan dalam percepatan penuaan. ROS dihasilkan oleh sel endogen maupun eksogen seperti paparan sinar UV berlebihan. ROS merupakan suatu radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif ketika

terjadi ketidakseimbangan antara ROS dengan antioksidan yang ada dalam tubuh. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan salah satunya pada jaringan kulit yang menyebabkan terjadinya keriput sebagai salah satu wujud terjadinya penuaan kulit (Rinnerthaler *et al.* 2015). Pada kondisi kulit normal, kulit menghasilkan enzim seperti elastase yang berperan dalam menjaga elastisitas kulit. Enzim elastase merupakan enzim yang mampu mendegradasi elastin, dimana elastin ini berada di

bawah jaringan ikat kulit. Keberadaan enzim elastase mampu menghidrolisis komponen protein yang ada di bawah jaringan ikat termasuk kolagen dan elastin. Dalam kondisi stress oksidatif, ROS akan terpicu dan dapat meningkatkan produksi enzim elastase untuk mendegradasi elastin secara berlebihan akibatnya terjadilah penuaan (Jiratchayamaethasakul *et al.* 2020).

Adanya pengaruh yang besar dari ROS terhadap penuaan dapat mendorong kita untuk menggunakan agen antioksidan eksternal demi mencegahnya penuaan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan ekstrak bahan alam yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Salah satu tanaman yang kaya akan antioksidan yang masih belum banyak diteliti dan dikembangkan adalah daun dari tanaman kayu bulan atau disebut juga kolbunda (*Pisonia alba S*). Kayu bulan merupakan salah satu jenis tanaman hias yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan adanya kandungan fenolik dan flavonoid yang terkandung di dalamnya (Vishnupriya & Ahmed 2017), namun demikian kemanfaatannya dalam bidang kesehatan belum banyak diketahui, terutama aktivitas antioksidannya. Maka hal ini menjadi suatu hal yang menarik untuk dikembangkan bahwa kayu bulan tidaklah hanya bisa berfungsi sebagai tanaman hias saja namun memiliki kemanfaatan lebih bagi kesehatan salah satunya sebagai antioksidan. Berdasarkan hal tersebut maka daun kayu bulan dapat dianalisis kandungan antioksidannya dengan membandingkan beberapa metode yaitu DPPH, FRAP, dan ABTS. Masing-masing metode ini dapat menggambarkan kemampuan suatu senyawa dari antioksidan dengan mekanisme yang berbeda-beda. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antioksidan dari daun kayu bulan dengan mekanisme yang berbeda-beda. Hal ini dapat menjadi langkah awal untuk mengembangkan daun kayu bulan agar memiliki kebermanfaatan yang lebih.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Daun kayu bulan yang berwarna hijau terang diambil dari dusun Nyemengan, Kasihan dengan ciri daun berwarna hijau kekuningan. Adapun reagen yang digunakan dalam analisa antioksidan antara lain DPPH (Sigma-Aldrich), ABTS (Sigma-Aldrich), potassium persulfate (Merck), TPTZ (Sigma), FeCl_3 (Merck), reagen Dragendorff, reagen Wagner, reagen Meyer. Adapun peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan gelas, spektrofotometer UV-Vis (Genesys- Thermo Scientific), neraca analitik (Ohaus), oven (Memmert).

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistemika Tumbuhan, Universitas Gadjah Mada

Yogyakarta dengan nomor 0106/S.Tb./VI/2022 dan dinyatakan bahwa sampel merupakan *Pisonia alba S*.

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Daun kayu bulan dicuci dengan air mengalir kemudian disortasi basah kemudian ditiriskan dan dikeringkan pada suhu 40°C hingga kering. Simplisia daun kayu bulan kering kemudian diblender dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Sebanyak 356,30 gram serbuk daun kayu bulan yang telah dipreparasi direndam dengan etanol 70% sebanyak 3,56 liter (1:10) di dalam bejana maserasi. Bejana ditutup dan didiamkan selama tiga hari. Selama proses perendaman, dilakukan beberapa kali pengadukan untuk meningkatkan efektifitas difusi senyawa untuk terlarut ke dalam cairan penyari. Setelah tiga hari campuran disaring dan dihasilkan menghasilkan maserat pertama. Maserat dimasukkan kembali ke dalam bejana dan dilakukan remaserasi 3 kali. Ekstrak cair kemudian diuapkan di atas penangas dengan suhu terkontrol hingga menghasilkan ekstrak kental dengan kadar air kurang dari 10%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak untuk mengetahui beberapa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid dan tanin. Skrining dilakukan dengan uji tabung dengan mereaksikan sampel ekstrak dengan reagen sesuai dengan prosedur skrining masing-masing senyawa dan didapatkan hasil berupa perubahan warna khas yang mencirikan apakah ekstrak yang dimiliki mengandung senyawa tersebut secara kualitatif.

Analisis Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji dilakukan terhadap seri konsentrasi vitamin C yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm; seri konsentrasi kuersetin yaitu 1, 3, 5, 7, dan 9 ppm; dan seri konsentrasi daun kayu bulan 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm. Analisis antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan mereaksikan sejumlah 1 mL sampel dari masing-masing konsentrasi dengan 2 mL reagen DPPH 0,1 mM, kemudian divortex. Campuran didiamkan selama operating time 25 menit dalam suhu ruang dan terhindar dari cahaya. Campuran dibaca pada panjang gelombang maksimal 516 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

Analisis Antioksidan dengan Metode FRAP

Analisis antioksidan dengan metode FRAP dilakukan dengan menggunakan kurva baku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Dibuat kurva baku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm dengan cara memipet 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mL dari $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ induk dengan konsentrasi 1000 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL dan dicukupkan hingga batas. Sejumlah 0,1 mL dari masing-masing konsentrasi kemudian ditambahkan 1,5 mL reagen FRAP dan didiamkan selama 20 menit

kemudian absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 595 nm.

Analisis antioksidan dengan metode FRAP dilakukan terhadap sampel vitamin C, kuersetin dan ekstrak daun kayu bulan. Masing-masing sampel dipreparasi terlebih dahulu dengan membuat 10 ppm vitamin C, 10 ppm kuersetin dan 250 ppm ekstrak daun kayu bulan agar memasuki rentang kurva baku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Sampel yang telah dipersiapkan diambil sebanyak 0,1 mL kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL reagen FRAP, divortex, dan didiamkan selama 20 menit. Campuran dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

Analisis Antioksidan dengan Metode ABTS

Analisis antioksidan dengan reagen ABTS diawali dengan pembuatan reagen ABTS dengan cara ditimbang serbuk ABTS sejumlah 19,2 mg lalu dilarutkan hingga 5 mL dengan pelarut metanol, kemudian ditimbang serbuk kalium persulfat 3,24 mg dilarutkan hingga 5 mL dengan akuades. Campurkan kedua larutan tersebut, kemudian inkubasi selama 12-16 jam sebelum digunakan. Larutan ABTS yang telah diinkubasi diencerkan dengan metanol hingga diperoleh absorbansi $0,70 \pm 0,02$ pada 734 nm.

Uji dilakukan terhadap seri konsentrasi vitamin C dan kuersetin yaitu 0,5; 1; 1,5; 2; dan 2,5 ppm dan seri konsentrasi daun kayu bulan 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm. Dilakukan pencampuran sampel sebanyak 1 mL dari masing-masing konsentrasi dengan 2 mL reagen ABTS, kemudian divortex. Campuran diinkubasi selama operating time 12 menit kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 734 nm.

Analisa Data Antioksidan

Data aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan ABTS dinyatakan dalam IC_{50} . Untuk mendapatkan nilai inhibition concentration 50 (IC_{50}), terlebih dahulu dihitung persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel dengan rumus:

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

Nilai IC_{50} ditentukan dengan persamaan regresi linier antara konsentrasi terhadap % inhibisi. Nilai IC_{50} dihitung untuk menentukan berapa konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk memiliki 50% kapasitas penghambatan.

Data aktivitas antioksidan dengan metode FRAP ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier konsentrasi terhadap absorbansi dari standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ untuk menentukan konsentrasi sampel. Setelah konsentrasi sampel didapatkan, kemudian dihitung nilai FRAP value dari masing-masing sampel dengan rumus:

$$\text{FRAP value} = \frac{c \times V \times FP}{\text{bobot sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

C : konsentrasi sampel atau nilai x (mmol/L)

V: volume cuplikan yang digunakan (mL)

Fp : faktor pengenceran

Berat sampel : berat sampel yang digunakan (g)

Analisis Statistika

Data analisis antioksidan masing-masing ditunjukkan sebagai nilai rata-rata \pm Limit of Error (LE). Data hasil pengujian dianalisa dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui distribusi data. Homogenitas uji juga diuji dengan menggunakan uji Levene's. Dikarenakan data tidak homogen, maka uji dilanjutkan dengan non-parametrik tes menggunakan uji Kruskal-Wallis pada taraf kepercayaan 95%. Untuk mengetahui sampel yang memiliki perbedaan signifikan maka dilakukan uji *post hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada awal tahap penelitian, sampel dilakukan determinasi dahulu sehingga dapat dipastikan bahwa sampel yang diteliti adalah *Pisonia alba* Span atau biasa dikenal dengan daun kayu bulan. Selanjutnya dilakukan preparasi dengan mencuci dan mengeringkan sampel pada suhu 40°C , hal ini dikarenakan pada suhu tinggi senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan seperti fenolik dan flavonoid dapat rusak (Antony & Farid 2022). Sampel yang telah siap kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi merupakan metode yang dipilih dikarenakan metode ini menjadi salah satu alternatif untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan seperti senyawa fenolik dan flavonoid. Dalam maserasi terjadi proses difusi pelarut ke dalam dinding sel sampel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif yang memiliki sifat mirip dengan pelarut akan terlarut. Hal ini menyebabkan terjadinya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dan luar sel sehingga zat aktif akan terdesak keluar sel (Abubakar & Haque 2020). Sampel yang telah diekstraksi kemudian diuapkan hingga menjadi ekstrak kental. Berdasarkan evaluasi diperoleh rendemen ekstrak sebesar 25,821%.

Hasil Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak untuk mengetahui adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid dan tanin. Hasil uji tercantum pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji, diperoleh bahwa ekstrak etanol daun kayu bulan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid dan juga tanin, namun tidak mengandung saponin.

Analisis Antioksidan dengan Metode DPPH

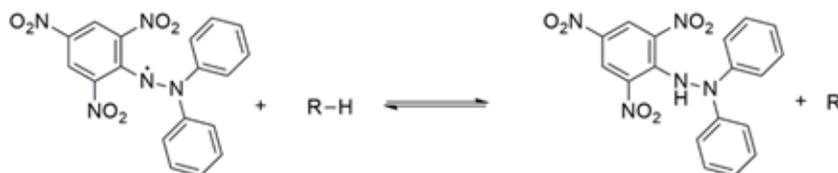
Reagen α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl atau biasa disebut dengan reagen DPPH merupakan suatu

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun kayu bulan

No	Golongan	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	+	Terbentuk endapan coklat-jingga
2	Flavonoid	+	Terbentuk warna orange kecoklatan
3	Saponin	-	Busa yang terbentuk tidak mencapai 1 cm
4	Terpenoid dan steroid	+	Terbentuk warna hijau
5	Tanin	+	Terbentuk warna hijau kebiruan

Tabel 2. Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH

Sampel Uji	Rata-rata nilai IC ₅₀ ± LE
Vitamin C	5,739 ± 0,007
Kuersetin	2,549 ± 0,050
Ekstrak etanol daun kayu bulan	248,524 ± 9,819



Gambar 1. Reaksi antioksidan terhadap radikal DPPH

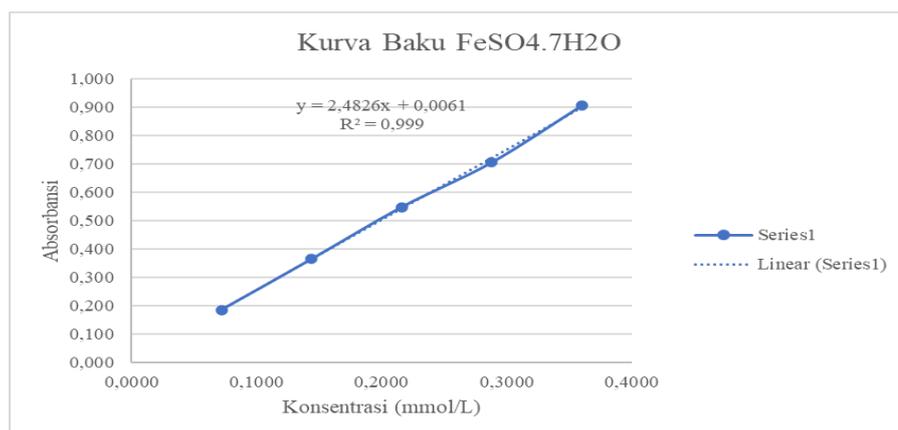
radikal yang bersifat stabil dan berwarna ungu. DPPH akan berubah menjadi warna kuning apabila bereaksi dengan suatu antioksidan. Intensitas warna berkaitan dengan kapasitas suatu antioksidan dalam menangkap radikal bebas DPPH. Pada penelitian ini dilakukan uji antioksidan dengan reagen DPPH pada vitamin C, kuersetin dan sampel ekstrak etanol daun kayu bulan. Pengujian dilakukan dengan metode kolorimetri dimana terjadi reaksi antara sampel dengan reagen DPPH, dimana absorbansi campurannya dibaca dengan alat spektrofotometer. Hasil absorbansi kemudian dihitung dalam persen penangkapan radikal bebas dan hasil akhir uji dinyatakan dalam nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel uji. Tingginya nilai IC₅₀ akan berbanding terbalik dengan kapasitas penangkapan radikal bebas. Semakin tinggi IC₅₀ maka semakin kecil kemampuan sampel dalam menangkalkan radikal bebas (Kedare & Singh 2011). Hasil uji dari ketiga sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat bahwa aktivitas penangkalkan radikal bebas DPPH terbaik ditunjukkan oleh kuersetin, sedangkan terendah ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun kayu bulan. Berdasarkan analisa statistika, terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kuersetin dengan ekstrak etanol daun kayu bulan. Apabila dikategorikan berdasarkan kemampuan dalam penangkalkan radikal

bebas DPPH, vitamin C dan kuersetin masuk ke dalam kategori antioksidan sangat kuat, sedangkan ekstrak etanol daun kayu bulan termasuk ke dalam kategori antioksidan sedang/medium (Kusumawati et al., 2021). Berdasarkan hasil tersebut dapat diperkirakan bahwa masing-masing sampel vitamin C, kuersetin dan ekstrak etanol daun kayu bulan memiliki atom hidrogen yang dapat didonorkan kepada molekul DPPH yang sifatnya radikal menjadi non radikal (Kedare & Singh 2011).

Analisis Antioksidan dengan metode FRAP

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) merupakan suatu metode untuk menentukan kemampuan antioksidan dari suatu sampel berdasarkan prinsip reduksi dari Fe³⁺-TPTZ menjadi Fe²⁺-TPTZ yang membentuk kompleks berwarna biru dalam suasana asam oleh suatu reduktan dari sampel (Sadeer et al. 2020). Uji FRAP dilakukan dengan mencampurkan sampel uji dengan reagen FRAP sehingga terbentuk suatu kompleks berwarna biru yang sebanding dengan besarnya konsentrasi (Munteanu & Apetrei 2021). Dalam metode FRAP, sampel dibandingkan dengan kurva baku dari standar yang digunakan yaitu FeSO₄.7H₂O. Hasil kurva kalibrasi dari FeSO₄.7H₂O dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva baku FeSO₄.7H₂O

Tabel 3. Nilai FRAP *value* sampel

Sampel Uji	Rata-rata nilai FRAP <i>value</i> ± LE
Vitamin C	224,684 ± 12,499
Kuersetin	370,230 ± 6,114
Ekstrak etanol daun kayu bulan	7,408 ± 0,277

Tabel 4. Hasil uji antioksidan dengan metode ABTS

Sampel Uji	Rata-rata nilai IC ₅₀ ± LE
Vitamin C	3,086 ± 0,131
Kuersetin	1,145 ± 0,118
Ekstrak etanol daun kayu bulan	173,972 ± 7,817

Berdasarkan hasil kurva baku didapatkan persamaan regresi linier yang kemudian digunakan untuk menghitung kadar dari sampel. Hasil kadar dari sampel yang diperoleh kemudian dikonversikan menjadi suatu satuan FRAP *value*. Hasil FRAP *value* dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3, kuersetin memiliki FRAP *value* tertinggi, disusul oleh vitamin C, dan ekstrak etanol daun kayu bulan memiliki FRAP *value* terendah dan berbeda signifikan dengan kuersetin ($p < 0,05$). Hasil ini sejalan dengan metode DPPH. Kuersetin memiliki kemampuan reduksi terhadap Fe tertinggi dibandingkan dengan vitamin C dan sampel ekstrak.

Analisis Antioksidan dengan Metode ABTS

Metode peredaman radikal bebas 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) merupakan suatu metode berdasarkan penghilangan warna kation ABTS oleh suatu senyawa antioksidan. ABTS memiliki karakteristik berwarna hijau yang

akan berubah menjadi tidak berwarna karena adanya peredaman radikal bebas oleh antioksidan. Hasil uji dari peredaman radikal ABTS dinyatakan dalam nilai IC₅₀. Hasil uji ABTS tercantum pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil tercantum pada Tabel 4, terdapat urutan yang sejalan pada metode DPPH ataupun FRAP, dimana aktivitas peredaman radikal bebas tertinggi sampai terendah dimiliki oleh kuersetin, vitamin C dan ekstrak etanol daun kayu bulan. Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh, dapat diperoleh bahwa vitamin C dan kuersetin termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, sedangkan ekstrak etanol daun kayu bulan tergolong dalam antioksidan sedang/medium (Kusumawati *et al.* 2021). Hal ini menunjukkan bahwa vitamin dan kuersetin sebagai kontrol menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, sedangkan ekstrak etanol daun kayu bulan memiliki kemampuan peredaman radikal bebas meskipun potensi yang diberikan masih tergolong sedang. Hal ini dapat dikarenakan banyaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kayu bulan, tidak hanya spesifik

berfungsi sebagai antioksidan saja, sedangkan vitamin C dan kuersetin merupakan senyawa murni.

Perbandingan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH, FRAP dan ABTS

Berdasarkan ketiga metode yang telah ditentukan, diperoleh hasil yang sejalan antara metode DPPH, FRAP, dan ABTS. Ketiga metode menunjukkan bahwa diantara sampel vitamin C, kuersetin dan ekstrak etanol daun kayu bulan yang memiliki aktivitas dari tinggi hingga rendah antara lain kuersetin, vitamin C dan ekstrak etanol. Kuersetin merupakan senyawa golongan flavonoid yang banyak terkandung dalam sampel tanaman ataupun buah. Kuersetin telah terbukti secara *in vitro* maupun *in vivo* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, sehingga kuersetin sering dijadikan marker atau standard dalam analisis antioksidan dalam tanaman (Xu *et al.* 2019). Aktivitas antioksidan kuersetin utamanya dapat melalui beberapa mekanisme diantaranya dapat mempengaruhi pada glutathione (GSH), aktivitas enzimatis, jalur transduksi sinyal, dan spesies oksigen reaktif (ROS) yang disebabkan oleh faktor lingkungan dan toksikologi. Kuersetin menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan menjaga keseimbangan oksidatif. Hal inilah yang menyebabkan mengapa pada penelitian ini aktivitas antioksidan kuersetin sangat tinggi.

Urutan kedua aktivitas antioksidan tertinggi adalah vitamin C. Vitamin C umumnya digunakan sebagai standar pembandingan dalam uji antioksidan dikarenakan vitamin C terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Vitamin C merupakan suatu antioksidan sekunder yang mampu menangkalkan radikal bebas dengan mendonorkan hidrogen. Hal ini dikarenakan vitamin C memiliki gugus hidroksi bebas yang berperan dalam penangkapan radikal bebas (Kusumawati, 2020). Dalam tubuh, vitamin C mampu menangkalkan radikal bebas dengan menghambat terjadinya peroksidasi lipid dan netralisasi radikal hidroperoksil (Akbari *et al.* 2016)

Ekstrak etanol daun kayu bulan menempati urutan ketiga apabila dibandingkan dengan kuersetin dan vitamin C. Hal ini dikarenakan sampel yang diuji berupa ekstrak kasar yang mengandung berbagai macam senyawa yang larut dalam etanol sehingga tidak spesifik berfungsi sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil uji pada ketiga metode antioksidan, diperoleh bahwa ekstrak etanol daun kayu bulan memiliki aktivitas antioksidan yang masuk ke dalam kategori sedang. Hal ini dapat dikaitkan dengan analisa kualitatif yang telah dilakukan bahwa di dalam ekstrak tersebut terkandung senyawa yang dapat berperan dalam antioksidan, seperti flavonoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Matheos dkk. (2014) bahwa daun kayu bulan memiliki kandungan fenolik tinggi yang berperan dalam aktivitas antioksidan. Molekul fenolik dan flavonoid merupakan komponen antioksidan penting yang bertanggung jawab untuk menonaktifkan radikal

bebas berdasarkan kemampuannya untuk mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Keduanya juga memiliki karakteristik struktural yang ideal untuk penangkapan radikal bebas (Aryal *et al.* 2019). Kemampuan antioksidan dari daun kayu bulan didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Tamizhazhagan *et al.* (2017) bahwa daun kayu bulan memiliki kemampuan dalam penangkalkan radikal bebas serta penangkalkan nitrit oksida.

Potensi

Penuaan dini salah satunya dapat dikarenakan radikal bebas yang dapat mempengaruhi elastisitas kulit (Czekalla *et al.* 2017). Radikal bebas penyebab terjadinya penuaan dapat dihambat dengan adanya antioksidan. Berdasarkan hasil analisis antioksidan yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa daun kayu bulan memiliki potensi sedang untuk dikembangkan menjadi agen anti penuaan dini. Untuk meningkatkan kemampuan daun kayu bulan sebagai agen anti-aging dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan fraksinasi untuk memperoleh senyawa yang lebih spesifik

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kayu bulan (*Pisonia alba S*) memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan uji dengan metode DPPH, FRAP dan ABTS dengan nilai secara berurutan nilai IC_{50} terhadap DPPH $248,524 \pm 9,819$, FRAP value $7,408 \pm 0,277$, dan IC_{50} terhadap ABTS $173,972 \pm 7,817$. Hal ini menunjukkan bahwa daun kayu bulan memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi suatu agen anti penuaan dini,

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami berikan kepada Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta yang telah memberikan pendanaan penelitian dengan skema penelitian internal terapan dengan nomor kontrak SPK/001/PPPMFKES/IV/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. R. & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. **12**(1):1.
- Akbari, A., Jelodar., G., Nazifi, S. & Sajedianfard, J. (2016). An overview of the characteristics and function of vitamin c in various tissues: relying on its antioxidant function. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*.
- Antony, A., & Farid, M. (2022). Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences*. **12**(4): 2107.
- Aryal, S., Baniya, M.K., Danekhu, B., Kunwar, P., Gurung R. & Koirala, N. (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant

- potential of wild vegetables from western nepal. *Plants*. **8(4)**: 96.
- Czekalla, C., Schönborn, K., Döge, N., Jung, S., Darwin, M.E., Lademann, J. & Meinke, M.C. (2017). Impact of body site, age, and gender on the collagen/elastin index by noninvasive in vivo vertical two-photon microscopy. *Skin Pharmacology and Physiology*. **30(5)**: 260–267.
- Jiratchayamaethasakul, C., Ding, Y., Hwang O., Im, S., Jang, Y., Myung, S., Lee, J.M., Kim, H., Ko, S. & Lee, S. (2020). In vitro screening of elastase, collagenase, hyaluronidase, and tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of 22 halophyte plant extracts for novel cosmeceuticals. *Fisheries and Aquatic Sciences*. **23(1)**: 1–9.
- Kedare, S.B. & Singh, R.P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. **48(4)**: 412–422
- Kusumawati, A.H., Farhamzah, F., Alkandahri, M.Y., Sadino, A., Agustina, L.S. & Apriana, S.D. (2021). Antioxidant activity and sun protection factor of black glutinous rice (*Oryza sativa* var. glutinosa). *Tropical Journal of Natural Product Research*. **5(11)**: 1958–1961.
- Kusumawati, N. & Haryoto, H. (2020). Antioxidant activity of extract and fraction from boesenbergia pandurata rhizome by FRAP method. *International Summit on Science Technology and Humanity*. 630-634.
- Malaysia Biodiversity Information System. (2022) Native Plants-Pisonia alba. Available at: <https://www.mybis.gov.my/sp/8975> (Accessed: 16 February 2022).
- Matheos, H., Runtuwene, M.R.J & Sudewi, S. (2014) Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kayu bulan (pisonia alba), farmakon. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. **3(3)**: 235-246.
- Munteanu, I.G. & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. *International Journal of Molecular Sciences*. **22(7)**: 3380.
- Rinnerthaler, M., Bischof J., Streubeul, M.K., Trost A. & Richter, K. (2015). Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*. **5(2)**, 545–589.
- Sadeer, N.B. Montesano, D., Albrizio S., Zengin, G. & Mahomoodaly, M.F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety-chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*. **9(8)**: 709.
- Tamizhazhagan, V., Pugazhendy, K., Sakthidasan, V. & Jayanthi, C. (2017). Antioxidant properties of *Pisonia alba* plant leaf extract. *International Journal of Zoology and Applied Biosciences*, **2(6)**:311-314.
- Vishnupriya, C. & Ahmed, F. (2017). Potency of two commonly available plants pisonia alba and mukia maderaspatana in the health industry. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. **6(1)**: 721–732.
- Xu, D., Hu, M., Wang, Y. & Cui, Y. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*. **24(6)**: 1123.