

Pengujian Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Gadung (*Mangifera indica* L. var. gadung) dan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) (*Antioxidant Activity Assay of Methanolic Extract of Gadung Mango Leaves (Mangifera indica* L. var. gadung) and *Ethanollic Extract of Pandan Leaves (Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Combination)

Dewi Kusumaningrum Pamungkas, Yuni Retnaningtyas, dan Lestyo Wulandari
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jln. Kalimantan No. 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: dewi.kpamungkas@gmail.com

Abstract

The content of polyphenolic compounds in mango and fragrant pandan leaves has been showed an antioxidant activity and commonly used as traditional treatment of some diseases. The aim of this research was to determine the activity of antioxidant of the gadung mango leaves and fragrant pandan leaves extract combination. The activity of antioxidant was investigated by DPPH method (IC₅₀) with vitamin C as positive control. The results showed that the sample had lower antioxidant activities than vitamin C. The IC₅₀ value of vitamin C was 2.613±0.021 µg/ml, followed by methanolic extract of gadung mango leaves, ratio 1:1 of gadung mango leaves extract and pandan leaves extract combination, and ethanolic extract of fragrant pandan leaves with IC₅₀ value of 3.263±0.009; 13.392±0.157; 39.700±1.003 µg/ml, respectively. Methanolic extract of gadung mango leaves and ethanolic of fragrant pandan leaves combination didn't have higher antioxidant activities compared to the antioxidant activities of the singular methanolic extract of gadung mango leaves itself.

Keywords: antioxidant activity, gadung mango, fragrant pandan

Abstrak

Kandungan senyawa polifenol dalam daun mangga dan daun pandan wangi telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan biasa digunakan sebagai pengobatan tradisional beberapa penyakit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun mangga gadung dan daun pandan wangi. Metode peredaman radikal bebas DPPH digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan (IC₅₀) dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan sampel lebih rendah dari vitamin C. Nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 2,613±0,021 µg/ml, kemudian diikuti oleh ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal, kombinasi 1:1 dan ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 3,263±0,009; 13,392±0,157; 39,700±1,003 µg/ml. Kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi tidak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga gadung tunggal.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, mangga gadung, pandan wangi

Pendahuluan

Tubuh manusia dilengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan yang dapat membatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas yang disebut sebagai antioksidan [1]. Namun, pertahanan dari dalam tubuh ini seringkali masih kurang akibat pengaruh lingkungan dan diet yang buruk [2].

Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa antioksidan seperti vitamin C, E, A, karoten, asam-asam fenol [3], polifenol dan flavonoid [4]. Senyawa fenolik dan polifenol yang terkandung dalam tumbuhan memiliki banyak efek biologis [5] termasuk aktivitas antioksidan [6].

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan salah satu tanaman asli dari Asia Tenggara, dan telah tersebar luas di daerah tropis dan subtropis di dunia [7]. Selain buah, bagian lainnya juga memiliki peranan penting, seperti bagian daunnya. Di India, daun mangga muda digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk mengobati diabetes [8]. Selain mangga, tumbuhan lain yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Senyawa polifenol dalam daun pandan wangi memiliki aktivitas antioksidan yang potensial sehingga dapat mengurangi resiko penyakit jantung, kanker [9], dan diabetes [10]. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Chiabchalard & Nooron [10], diketahui bahwa ekstrak daun pandan mampu menurunkan kadar gula darah 10 subjek manusia sehat (*postprandial*) secara signifikan.

Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak daun mangga gadung dan daun pandan wangi. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah bentuk kombinasi akan meningkatkan efektivitasnya dalam menangkali radikal bebas jika dibandingkan dengan aktivitas dalam bentuk tunggalnya.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan adalah DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Sigma-Aldrich), vitamin C *pharmaceutical grade* (99,8%), metanol (teknis), etanol 96%, daun mangga gadung di daerah

Kalisat, dan daun pandan wangi diperoleh di daerah Curahnongko yang diambil secara acak pada bulan Maret dan telah dideterminasi oleh Fakultas MIPA Universitas Jember.

Alat

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer Hitachi U-1800, seperangkat alat gelas, maserator, cawan penguap, neraca digital, *rotary evaporator*, *blender*, spatula, mikropipet, *ball filler*, *stopwatch*, *ultrasonic cleaner*, vial, kuvet.

Ekstraksi

Daun mangga gadung dan pandan wangi dicuci dengan air mengalir dan didiamkan selama semalam, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan. Simplisia yang sudah kering dihaluskan. Serbuk daun mangga gadung dan pandan wangi masing-masing ditimbang sejumlah 100 g, kemudian dimaserasi menggunakan metanol untuk daun mangga gadung [11] dan etanol 96% untuk daun pandan wangi [12] sebanyak dua kali. Maserat yang diperoleh dipekatkan. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan rendemen. Ekstrak ini disimpan dalam lemari pendingin untuk pengujian selanjutnya.

Pengujian antioksidan

Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan cara menurut Amin *et al.* [13] dan Marinova & Batchvarov [14].

a. Pembuatan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 2 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi konsentrasi 0,1 mM.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM dipipet 1,2 ml, ditambahkan 0,3 ml metanol dan diamkan selama 30 menit. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengukur serapan DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm.

c. Pembuatan larutan standar vitamin C

Serbuk vitamin C ditimbang sebanyak 25 mg dan 40 mg, dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 25 ml dan 10 ml, dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas, kemudian encerkan hingga diperoleh

konsentrasi akhir 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml, dan 30 µg/ml.

- d. Pembuatan larutan uji
Ditimbang sejumlah tertentu ekstrak, dilarutkan dengan metanol hingga diperoleh rentang larutan uji ekstrak metanol daun mangga gadung sebesar 3, 6, 9, 14, 22, dan 29 µg/ml; larutan uji kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dan ekstrak etanol daun pandan wangi (1:1) sebesar 6, 18, 24, 36, 60, dan 90 µg/ml; dan larutan uji ekstrak etanol daun pandan wangi manis sebesar 30, 60, 90, 120, 180, dan 240 µg/ml.
- e. Penentuan waktu inkubasi
Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan memipet 1,2 ml larutan DPPH 0,1 mM ditambahkan 0,3 ml larutan uji, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH tiap 5 menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 100.
- f. Penentuan aktivitas antioksidan
Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 0,3 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dan larutan vitamin C ditambahkan 1,2 ml DPPH 0,1 mM. Larutan uji dan larutan vitamin C didiamkan selama waktu inkubasi yang diperoleh, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum DPPH.
- g. Perhitungan Nilai IC₅₀
Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase peredaman terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan. Peredaman DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Peredaman DPPH} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan persentase peredaman dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi (µg/ml) dan y adalah peredaman DPPH (%). Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penetapan aktivitas antioksidan dibandingkan antara masing-masing sampel dan vitamin C. Selanjutnya dilakukan uji statistik aktivitas antioksidan menggunakan *one way anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc* (LSD). Perbedaan dianggap bermakna apabila *p-value* ≤ 0,01 dengan tingkat kepercayaan sebesar 99%.

Hasil Penelitian

Ekstraksi

Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung dan dinyatakan dalam nilai persen rendemen. Hasil persen rendemen ekstrak metanol daun mangga gadung lebih besar dibanding ekstrak etanol daun pandan wangi, yaitu 20,95% dari berat kering simplisia.

Pengujian antioksidan

Berdasarkan hasil pengujian antioksidan tiap sampel, berdasarkan nilai rata-rata IC₅₀ yang diperoleh diketahui bahwa nilai IC₅₀ terendah yaitu vitamin C dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,613 µg/ml, diikuti ekstrak metanol daun mangga gadung tunggal sebesar 3,263 µg/ml, perbandingan kombinasi 1:1 ekstrak metanol mangga gadung dan ekstrak daun pandan wangi sebesar 13,392 µg/ml dan ekstrak etanol daun pandan wangi tunggal sebesar 39,700 µg/ml. Hasil pengujian antioksidan untuk tiap sampel dan standar disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan IC₅₀ tiap sampel dan standar

Sampel	IC ₅₀ (µg/ml)
Vitamin C	2,613±0,021 ^a
Ekstrak daun mangga gadung tunggal	3,263±0,009 ^b
Ekstrak daun pandan wangi tunggal	39,700±1,003 ^c
Kombinasi M:P perbandingan 1 : 1	13,392±0,157 ^d

Keterangan : M = Ekstrak daun mangga gadung; P = Ekstrak daun pandan wangi. Data disajikan rata-rata±SD, notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna antar sampel (*p*<0,01)

Pembahasan

Dari hasil ekstraksi diketahui bahwa persen rendemen ekstrak metanol daun mangga gadung lebih besar dibanding ekstrak etanol daun pandan wangi. Perbedaan ini bisa disebabkan oleh karena faktor perbedaan jenis tanaman dan jumlah kandungan senyawa yang dapat larut dalam pelarut pengekstrak yang digunakan untuk masing-masing tanaman.

Berdasarkan nilai rata-rata IC₅₀ yang ditunjukkan pada Tabel 1, diketahui bahwa nilai IC₅₀ yang didapat menunjukkan bahwa ketiga sampel memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dibandingkan vitamin C. Namun, ketiga sampel tersebut masih tergolong antioksidan yang sangat aktif seperti vitamin C karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml. Suatu senyawa dikatakan antioksidan sangat aktif apabila nilai IC₅₀ < 50 µg/ml, aktif untuk nilai IC₅₀ di antara 50-100 µg/ml, sedang apabila nilai IC₅₀ antara 100-150 µg/ml, dan lemah apabila nilai IC₅₀ antara 151-200 µg/ml.

Berdasarkan perolehan nilai IC₅₀ diketahui bahwa dari semua sampel, ekstrak tunggal daun mangga gadung memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar. Hal ini dikarenakan ekstrak metanol daun mangga gadung mengandung senyawa mangiferin yang merupakan senyawa flavonoid utama pada genus *Mangifera*. Selain mangiferin, tanaman mangga juga mengandung senyawa kimia antosianin, dimana kandungan antosianin ini dapat ditemukan pada batang, kulit buah, dan daun mangga. Seperti yang telah diketahui kedua senyawa tersebut merupakan golongan senyawa fenolik yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung dengan ekstrak etanol daun pandan wangi dengan perbandingan 1:1 memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah jika dibandingkan aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga gadung tunggal.

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat dilakukan penentuan aktivitas antioksidan spesies mangga yang lain dan kombinasinya dengan daun pandan wangi dalam berbagai konsentrasi untuk mendapatkan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling optimal.

Daftar Pustaka

- [1] Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82: 47-95.
- [2] Miharja L. Peran glutation sebagai antioksidan dalam tubuh. *MKI.* 2005; 55(1): 42-43.
- [3] Prakash A. Antioxidant activity. *MLAPG.* 2001; 19(2): 1-6.
- [4] Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *BPB.* 2001; 24(10): 1202-1205.
- [5] Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Zevallos LC, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *JFCA.* 2006; 19: 669-675.
- [6] Ling LT, Planisamy UD. Review: potential antioxidants from tropical plants. In: Valdez B, editor. *Food industrial processes-methods.* Kuala Lumpur: In Tech, 1999. p.64-72.
- [7] Mukherjee SK, Litz RE. Introduction: botany and importance. In: Litz RE, editor. *The mango botany, production and uses, 2nd ed.* Wallingford: CBI International; 2009. p. 1-18.
- [8] Sarmah PC, Hazarika R. Evaluation of hypoglycemic effect of mangifera leaf. *IJABPT.* 2012; 3: 98-102.
- [9] Osawa T. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological systems. In: *Postharvest Biochemistry of Plant Food-Materials in the Tropics, I.* Uritani, V. V. Garcia, and E. M. Mendoza, Eds. Japan: Japan Scientific Societies Press; 1994. p. 241-251.
- [10] Chiabchalard A, Nooron N. Antihyperglycemic effects of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf extract. *PM.* 2014; 11(41).
- [11] Agustiniingsih, Wildan A, Mindaningsih. Optimasi cairan penyari pada pembuatan ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) secara maserasi terhadap kadar fenolik dan flavonoid total. *Momentum.* 2010; 6(2): 36-41.
- [12] Jutiviboonsuk A, Sardsaengjun C. Mangiferin in leaves of three thai mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *IJPS.* 2010; 6(3): 122-129.
- [13] Amin MN, Dewan SMR, Noor W, Shahid-Ud-Daula AFM. Characterization of chemical groups and determination of total phenolic content and in-vitro antioxidant activities of ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves growing in Bangladesh. *EJEB.* 2013; 3: 449-454.
- [14] Marinova G, Batchvarov V. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *BJAS.* 2011; 17: 11-24.