

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode DPPH

Wilson Kanggaran^{1,2*}, Razoki^{1,2*}, Roy Indrianto Bangar Siagian^{1,2}, Hariyadi Dharmawan Syahputra^{1,2}

¹Program Studi Sarjana Farmasi Klinis, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia

²PUI *Phytodegenerative and Lifestyle Medicine*

Alamat: Jl. Sampul No. 3, Sei Putih Bar., Kec. Medan Petisah, Kota Medan, Sumatera Utara 20118

Korespondensi penulis: razoki@unprimdn.ac.id

ABSTRACT

Bay leaf (Syzygium polyanthum (Wight) Walp.) is known to contain phenolic and flavonoid compounds with potential as natural antioxidants. This study aims to evaluate the antioxidant activity of ethanol extract of bay leaves using the DPPH method and to identify the bioactive compounds through phytochemical screening and simplicia characterization. Extraction was conducted using maceration with 80% ethanol as the solvent. Characterization result showed that the bay leaf simplicial met the standards of the Farmakope Herbal Indonesia. Phytochemical screening revealed positive results for alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and phenols. The antioxidant activity test showed that the ethanol extract of bay leaves had an IC₅₀ value of 15,45 ppm, which falls into the very strong antioxidant category. These findings reinforce the potential of bay leaf as a natural antioxidant source that can be further developed in pharmaceutical and health applications.

Keywords: Bay leaf, DPPH, antioxidant, phenol, IC₅₀.

ABSTRAK

Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dikenal mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam menggunakan metode DPPH serta mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif melalui skrining fitokimia dan karakterisasi simplisia. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa simplisia memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia. Skrining fitokimia menunjukkan hasil positif terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki nilai IC₅₀ sebesar 15,45 ppm, yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat. Hasil ini memperkuat potensi daun salam sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi dan Kesehatan.

Kata kunci: Daun salam, DPPH, antioksidan, fenol, IC₅₀.

This work is licensed under Creative Commons Attribution License 4.0 CC-BY International license



PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi pengembangan industri dalam bidang obat-obatan herbal seperti jamu, Obat Herbal Terstandar (OHT), dan fitofarmaka dikarenakan terdapatnya jutaan varietas tanaman obat yang berbeda-beda. Potensi ini dapat menjadi nilai tambah yang besar bagi industri obat di Indonesia, jauh lebih besar dibandingkan dengan negara-negara lain. Indonesia dinyatakan sebagai negara eksportir obat herbal terbesar di dunia, hal ini tidak mengherankan bagi negara dengan 30.000 lebih jenis tumbuhan dan kekayaan sumber daya laut. Namun masih terdapat sekitar 9.600 spesies tumbuhan dan hewan yang diketahui mempunyai khasiat obat tetapi belum optimal dimanfaatkan sebagai tanaman obat (Siregar & Razoki, 2024).

Tumbuhan herbal lainnya yang dapat digunakan sebagai penyedap makanan, sumber antioksidan tinggi, dan mudah didapatkan, dapat berupa daun salam. Radikal bebas dapat terjadi karena hilangnya elektron yang ada pada molekul, yang disebabkan oleh terjadinya pemisahan homolitik terhadap suatu ikatan kovalen sehingga menghasilkan radikal bebas dengan elektron tidak berpasangan sehingga molekul radikal tersebut mudah bereaksi dan berusaha mengambil elektron dari molekul dan sel lain, yang mana merupakan penyebab terjadinya kerusakan sel, mengurangi kemampuan adaptasi sel, dan dapat menyebabkan kematian sel. Untuk mencegah terjadinya radikal bebas didalam tubuh, maka tubuh memerlukan antioksidan yang cukup kuat (Kurniasih *et al.*, 2019; Ain Thomas *et al.*, 2024).

Antioksidan merupakan senyawa berkhasiat yang pada umumnya dimiliki semua manusia didalam tubuhnya masing-masing. Senyawa ini berfungsi menghambat radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil. Senyawa antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan memberikan satu atom hidrogen terhadap radikal bebas sehingga metabolisme tubuh menjadi lebih stabil dan dapat mencegah serta melakukan penyembuhan secara cepat terhadap kerusakan sel (Sharen Salikode *et al.*, 2024).

Selain kegunaannya sebagai bumbu dapur, daun salam juga sering dimanfaatkan sebagai obat herbal dalam kepentingan pengobatan dan penunjang kesehatan. Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) memiliki kandungan steroid, saponin, alkaloid, glikosida, flavonoid, dan tanin. Daun ini juga mengandung selenium, vitamin A, vitamin E bersama dengan flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan antifungi. Potensi antioksidan alami dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun salam tersebut, membuktikan bahwa daun salam berkhasiat dalam menurunkan kolesterol, diabetes, dan hipertensi (Tambunan *et al.*, 2024).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Faustina *et al.*, 2023, mereka menguji antioksidan ekstrak daun salam dengan metode ABTS, DPPH dan FRAP. Hasilnya menunjukkan IC_{50} ekstrak daun salam 46,416 $\mu\text{g/mL}$ dengan metode ABTS, 168,4 $\mu\text{g/mL}$ dengan metode DPPH, dan 13,197 $\mu\text{g/mL}$ dengan metode FRAP. Hasil ini menunjukkan bahwa daun salam mengandung antioksidan yang kuat.

Metode DPPH adalah salah satu metode yang digunakan untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan. Dalam metode ini, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*) adalah DPPH yang lebih stabil yang dihasilkan dari reaksi DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dengan atom hidrogen dari senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Perubahan warna dari ungu ke kuning dan peningkatan intensitas warna adalah tanda reaksi pengujian dari metode tersebut (Samosir *et al.*, 2024).

Penelitian uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak etanol daun salam juga telah dilakukan dengan variasi konsentrasi pelarut (etanol absolut, etanol 30%, etanol 50%, etanol 70% dan akuadest) dan didapati bahwa hasil IC_{50} pada semua rentang konsentrasi tersebut termasuk kedalam kategori antioksidan sangat kuat ($<50 \mu\text{g/mL}$) (Rohaeti *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian-penelitian sebelumnya, daun salam terbukti memiliki kekuatan antioksidan yang termasuk kedalam kategori sangat kuat dan kategori kuat. Sayangnya, pada penelitian-penelitian tersebut belum diberlakukan ekstraksi daun salam dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Guna melengkapi hal tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Peralatan dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, labu Erlenmeyer, cawan penguap, oven, *Waterbath*, *Magnetic stirrer*, *Rotary evaporator*, Spektrofotometer UV-VIS, tanur, *micro pipette*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bagian daun dari tanaman salam, akuadest, etanol absolut, etanol 96%, etanol 70%, metanol absolut, n-heksan, etil asetat, H_2SO_4 , eter, pereaksi *Lieberman-Burchard*, pereaksi *Dragendroft*, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Boucahrdat*, silika gel GF₂₅₄, kertas saring, perkamen, FeCl_3 3%, FeCl_3 5%, NaOH 1N, logam Mg, HCL 2N, DPPH, Kuersetin.

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Uji determinasi terhadap sampel daun salam yang digunakan dalam penelitian ini, dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Herbarium Medanese (MEDA), Universitas Sumatera Utara, Medan. Tujuan dari pengujian determinasi terhadap sampel daun salam ini didasari pada kebenaran terhadap sampel yang digunakan dalam penelitian serta menghindari kemungkinan adanya bahan tanaman lain yang tercampur dengan sampel. Adapun hasil yang didapat pada pengujian determinasi adalah bahwa dapat dipastikan sampel daun salam yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam yang termasuk kedalam familia *Myrtaceae* dan juga termasuk kedalam spesies *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. dengan No. 2472/MEDA/2024.

Penyiapan Simplisia

Dilakukan sortasi basah terlebih dahulu terhadap simplisia daun salam untuk menyingkirkan kotoran dan bahan asing yang dapat menempel pada daun. Setelah itu dilanjutkan dengan melakukan pencucian menggunakan air mengalir agar simplisia dapat terpisah dari tanah ataupun pengotor lainnya yang mungkin menempel pada simplisia. Pada tahap selanjutnya, dikeringkan di lemari pengering dan dilakukan sortasi kering. Tahap terakhir dilakukan penggilingan terhadap simplisia kering sehingga didapat serbuk kering simplisia.

Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Pembuatan ekstrak etanol dari daun salam dimulai dengan maserasi simplisia dengan pelarut etanol 80% sebanyak 3 L terhadap 0,3 Kg sampel selama 3×24 jam, dengan pengadukan 2 kali sehari agar sampel daun

dapat terekstraksi dengan sempurna. Tahap selanjutnya adalah melakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan ekstrak encer etanol daun salam. Residu yang tertinggal pada proses penyaringan, dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 80% sebanyak 1,5L selama 3×24 jam. Tahap ini disebut sebagai remaserasi. Setelah penyaringan maserasi dan remaserasi selesai, hasilnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan tujuan untuk menguapkan etanol yang terkandung didalam maserat. Selanjutnya dilakukan penguapan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C untuk menghasilkan ekstrak etanol dari daun salam. Penyimpanan dilakukan pada toples kaca coklat didalam lemari penyimpanan hingga dilakukan pengujian selanjutnya (Tambunan *et al.* 2024).

Uji Karakterisasi

a. Kadar air

Dimasukkan 10 gr serbuk simplisia kering ke dalam cawan porselin yang sudah ditimbang. Selanjutnya, pengeringan ulang dilakukan selama lima jam menggunakan oven pada suhu 105°C. Kemudian, didinginkan menggunakan desikator dan kemudian ditimbang lagi untuk mengetahui persenitas air dalam serbuk simplisia kering (Putri & Andini, 2020).

b. Kadar abu total

Dilakukan penimbangan terhadap simplisia yang kemudian dimasukkan kedalam kurs porselin yang sudah dipanaskan dan ditimbang terlebih dahulu. Kemudian dimasukkan kedalam tanur dan dipanaskan pada suhu 500-600°C sampai hanya tersisa abu (berwarna putih). Kemudian abu tersebut dipijarkan, didinginkan dan ditimbang, dan dibuat perhitungan kadar abu total pada sampel. Tahap selanjutnya dari penelitian ini adalah menguji kadar abu tidak larut asam dengan menggunakan residu dari uji kadar abu total (Putri & Andini, 2020).

c. Kadar abu tidak larut asam

Dari pengujian kadar abu total sebelumnya, abu dikumpulkan dalam bentuk residu dan dididihkan dengan 25 mL HCl 1N selama 5 menit. Beberapa bagian yang tidak larut dalam asam kemudian dikumpulkan dan disaring dengan kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas dan dipijarkan hingga beratnya tetap (Putri & Andini, 2020).

d. Kadar senyawa larut dalam air

Dilakukan penimbangan sebanyak 5 gr terhadap serbuk simplisia dan dilakukan maserasi selama 24 jam dengan menggunakan air-kloroform P (2,5 mL kloroform dalam 1L akuadest) dalam labu tertutup selama 24 jam dengan pengocokan secara berkala pada 6 jam pertama dan kemudian disaring setelah didiamkan selama 18 jam. Tahap selanjutnya dilanjutkan dengan melakukan penguapan terhadap 20 mL filtrat yang telah disaring kedalam cawan porselin dengan menggunakan *yang* diatur pada suhu 105 °C. Penguapan dilakukan hingga filtrat terlihat kering dan didapat bobot tetap pada penimbangan berulang, dan dilanjutkan dengan perhitungan kadar senyawa larut air dalam satuan persen (Putri & Andini, 2020).

e. Kadar senyawa larut dalam etanol

Dilakukan penimbangan seberat 5 gr terhadap serbuk simplisia kering untuk dimaserasi dengan pelarut 100 mL etanol didalam labu tertutup selama 24 jam dengan pengocokan secara berkala pada 6 jam pertama yang kemudian disaring setelah didiamkan selama 18 jam. Selanjutnya dilakukan penguapan terhadap 20 mL filtrat yang telah disaring kedalam cawan porselin pada suhu 105°C dengan menggunakan *waterbath*. Penguapan dilakukan hingga filtrat terlihat kering/kental, menunjukkan angka bobot tetap pada penimbangan berulang dan dilanjutkan dengan perhitungan kadar senyawa larut etanol dalam satuan persen (Putri & Andini, 2020).

Uji Skrining Fitokimia

a. Uji alkaloid

Dilakukan penimbangan seberat 0,1 gr terhadap ekstrak kental etanol daun salam dan diencerkan dengan 5 mL pelarut etanol absolut kedalam tabung reaksi. Senyawa alkaloid dinyatakan positif apabila terbentuk endapan putih berwarna kuning setelah dilakukan penambahan reagen *Mayer* beberapa tetes. Dikatakan positif senyawa alkaloid, apabila menghasilkan reaksi yang berubah menjadi warna menjadi merah atau jingga setelah dilakukan penambahan pereaksi *Dragendroft* beberapa tetes. Perubahan warna membentuk endapan hitam berwarna merah kecoklatan dinyatakan sebagai positif senyawa alkaloid setelah dilakukan penambahan pereaksi *Bouchardat* (Nazirah *et al.*, 2023).

b. Uji Flavonoid

Dilakukan penimbangan seberat 0,1 gr terhadap ekstrak kental etanol daun salam dan diencerkan dengan 5 mL pelarut etanol absolut kedalam tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan penambahan 0,1 gr

logam Mg dan dilihat reaksi warna berubah. Dalam reaksi yang mengubah warna menjadi kuning jingga, senyawa flavonoid dinyatakan positif (Nazirah *et al.*, 2023).

c. Uji saponin

Ekstrak kental etanol daun salam seberat 0,1 gr ditimbang dan dicampur dengan 5 mL *aquadest* panas kedalam tabung reaksi, kemudian didinginkan. Selanjutnya dilakukan pengocokan hingga terlihat munculnya buih, kemudian dibiarkan selama 2 menit. Dilanjutkan dengan penambahan 2 tetes HCl 2N kedalam sampel dan dilakukan Kembali pengocokan hingga terbentuk buih 10 menit. Senyawa saponin dinyatakan positif apabila terjadi reaksi pembentukan buih dengan ukuran 1-10 cm (Wilapangga & Sari, 2018).

d. Uji tanin

Dilakukan penimbangan seberat 0,1 gr terhadap ekstrak kental etanol daun salam dan diencerkan dengan 5 mL pelarut etanol absolut kedalam tabung reaksi. Selanjutnya perhatikan perubahan warna setelah penetesan 1% FeCl₃. Senyawa tanin dinyatakan positif dalam reaksi yang mengubah warna menjadi biru tua atau hitam (Tambunan *et al.* 2024).

e. Uji fenol

Dilakukan penimbangan seberat 0,1 gr ekstrak kental etanol daun salam dan diencerkan dengan 5 mL pelarut etanol absolut kedalam tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan penetesan FeCl₃ 5% beberapa tetes kemudian perhatikan reaksi perubahan warna yang terjadi. Senyawa fenol dinyatakan positif apabila warnanya berubah menjadi hitam kebiruan atau hijau (Nurhajanah *et al.*, 2020).

f. Uji terpenoid

Dilakukan penambahan pereaksi *Liebermann-Burchard* sebanyak 1 mL kedalam 2 mL sampel ekstrak yang telah diencerkan kemudian perhatikan perubahan warna. Reaksi yang mengubah warna menjadi ungu menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dinyatakan positif (Wilapangga & Sari 2018).

g. Uji steroid

Dilakukan penambahan pereaksi *Liebermann-Burchard* sebanyak 1 mL kedalam 2 mL sampel ekstrak yang telah diencerkan kemudian lihat perubahan warna yang terjadi. Sebuah reaksi yang mengubah warna menjadi hijau atau biru menunjukkan bahwa senyawa steroid dinyatakan positif (Wilapangga & Sari 2018).

h. Uji kuinon

Dilakukan penambahan beberapa tetes NaOH 1N terhadap 3 mL larutan ekstrak sampel kedalam tabung reaksi dan diperhatikan perubahan warna. Dinyatakan positif senyawa kuinon apabila terjadi reaksi yang mengubah warna menjadi merah (Nurhajanah *et al.*, 2020).

Uji Kualitatif Senyawa Fenol

Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dilakukan dalam pengujian ini untuk mengidentifikasi senyawa fenolik didalam sampel. Asam galat digunakan sebagai standar pembanding dalam pengujian ini. Dilakukan penimbangan seberat 150 mg terhadap ekstrak kental yang kemudian diencerkan dengan 10 mL pelarut metanol. Larutan ditotolkan pada plat KLT yang terbuat dari silika gel GF₂₅₄ ukuran 8 × 2 cm yang sudah diberi jarak 1 cm dalam bentuk garis pada sisi atas dan bawah plat. Fase gerak yang digunakan dalam pengujian ini adalah (n-heksan:etil asetat) dengan perbandingan pelarut (7:3). Dilakukan penjenjuran terlebih dahulu menggunakan kertas saring terhadap fase gerak didalam chamber dengan tujuan menjaga stabilitas dari eluen tersebut dan dibiarkan selama 15-30 menit sebelum dimasukkan plat KLT. Setelah lempeng plat KLT terelusi sempurna (mencapai garis batas atas plat), pengangkatan dilakukan. Bercak kemudian diamati menggunakan lampu UV pada 254 nm dan 366 nm, dan penyemprotan dilakukan menggunakan penampak bercak universal (H₂SO₄). Perubahan warna yang kuat ke hijau, merah, ungu, biru, atau hitam menunjukkan adanya aktivitas fenol (Kurnia *et al.*, 2020).

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam Dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, digunakan kuersetin sebagai pembanding. Pengujian metode ini mengacu pada riset (Molyneux, 2004) dengan sedikit modifikasi. Konsentrasi DPPH yang digunakan yaitu 50 µg/mL. Untuk membuat kurva kalibrasi kuersetin, disiapkan larutan dengan konsentrasi 0,5 µg/mL hingga 3 µg/mL, berasal dari larutan stok 10 µg/mL. Setiap konsentrasi kuersetin dicampurkan dengan larutan DPPH 1:1.

Ekstrak daun salam dipreparasi dengan menimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Dari larutan ini kemudian dibuat variasi konsentrasi ekstrak 40 µg/mL hingga 100 µg/mL. Untuk kontrol, dibuat variasi dengan rentang

konsentrasi 40-100 µg/mL. Masing-masing 0,5 mL sampel dengan konsentrasi berbeda, dicampurkan dengan 0,5 mL larutan DPPH (variasi kontrol) kemudian diinkubasi dalam vial coklat selama 30 menit.

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung persen inhibisi, yang kemudian diplot terhadap konsentrasi sampel. Rumus perhitungan yang digunakan dalam uji ini adalah:

$$\% \text{ Inhibisi} = [(Ac - A) / Ac] \times 100$$

dan

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan:

Ac : nilai absorbansi kontrol

A : nilai absorbansi sampel

a : nilai intersep dari persamaan regresi linier

b : nilai kemiringan (slope) dari persamaan regresi linier

Garis regresi linier diperoleh dengan persamaan $y = bx + a$, dimana y adalah % Inhibisi dan x adalah konsentrasi. Nilai IC_{50} ditentukan dari nilai x saat $y = 50$, dan digunakan untuk menggambarkan potensi aktivitas antioksidan (Cahyaningsih *et al.*, 2019; Esati *et al.*, 2022).

ANALISIS DATA

Data hasil evaluasi dan skrining fitokimia dianalisis dan disajikan dalam tabel, kemudian dijelaskan. Selanjutnya, persentase peningkatan aktivitas antioksidan atau IC_{50} dalam menangkap radikal bebas dihitung menggunakan persamaan regresi linier. Persen peredaman yang diperoleh dianalisis dengan Microsoft Excel untuk mendapatkan persamaan regresi linier, di mana y adalah persen peredaman dan x adalah konsentrasi (ppm), sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$. Nilai IC_{50} dihitung dengan menetapkan $y = 50$, yang menunjukkan konsentrasi sampel yang menghambat 50% absorbansi DPPH. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi

Tabel I. Hasil Karakterisasi

Parameter	Kadar (%)	Pustaka
Kadar air	6,7	Tidak lebih dari 10%
Kadar abu total	1,89	Tidak lebih dari 2,5%
Kadar abu tidak larut asam	1,55	Tidak lebih dari 1,8%
Kadar sari larut air	39,4	Tidak kurang dari 14,8%
Kadar sari larut etanol	34,7	Tidak kurang dari 19,9%

Hasil uji karakterisasi pada tabel I terhadap simplisia kering daun salam menunjukkan bahwa simplisia tersebut memenuhi persyaratan sesuai standar Farmakope Herbal Indonesia, dimana kadar air 6,7% (<10%), kadar abu total 1,89% (<2,5%), kadar abu tidak larut asam 1,55% (<1,8%), kadar sari larut air 39,4% (>14,9%), dan kadar sari larut etanol 34,7 % (>19,9%) sehingga layak digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan ekstrak etanol kental (Kementrian Kesehatan RI, 2017).

Skrining Fitokimia

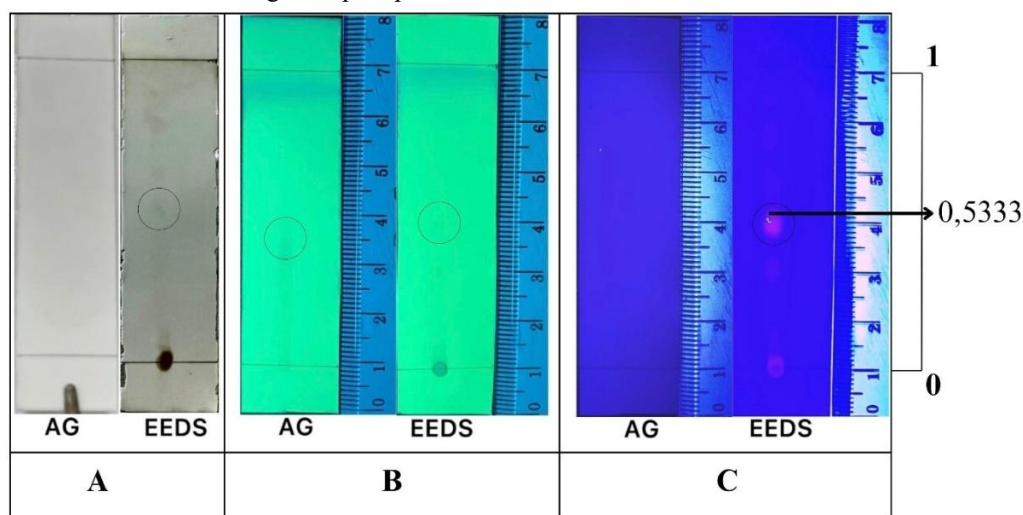
Tabel II. Hasil Skrining Fitokimia

No	Golongan	Hasil	Pustaka
1	Alkaloid 1 Alkaloid 2 Alkaloid 3	P. Mayer (-) Tidak ada endapan P. Dragendroft (+) Ada endapan P. Bouchardat (+) Merah Kecoklatan	(+) Endapan putih (+) Endapan Merah (+) Merah Kecoklatan
2	Flavonoid	(+) Merah	(+) Merah, kuning, jingga
3	Saponin	(+) Berbuih >1cm	(+) Buih setinggi 1-10 cm
4	Tanin	(+) Biru kehitaman	(+) Hijau/Biru kehitaman
5	Fenol	(+) Hitam	(+) Hitam
6	Steroid	(-) Tidak ada perubahan warna	(+) Ungu ke biru/hijau
7	Terpenoid	(-) Tidak ada perubahan warna	(+) Ungu
8	Kuinon	(-) Tidak ada perubahan warna	(+) Orange kemerahan

Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun salam menunjukkan hasil negatif terhadap steroid, terpenoid dan kuinon namun positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan khususnya senyawa fenol.

Uji Senyawa Fenol

Gambar I. Hasil kromatografi lapis tipis.



Hal uji skrining fitokimia sebelumnya diperkuat dengan hasil uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada gambar yang menunjukkan adanya bercak-bercak hasil penyemprotan H_2SO_4 yang sesuai dengan karakteristik senyawa fenol yaitu berwarna hitam, mengindikasikan bahwa ekstrak positif mengandung senyawa fenolik. Konfirmasi ini menjadi dasar untuk selanjutnya dilakukan penetapan kadar total fenol (KTF) terhadap ekstrak etanol daun salam (Dewi Kurnia *et al.*, 2020).

Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Tabel III. Hasil Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH

No	Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi	Persamaan	IC ₅₀
			Sampel	Kontrol			
1	Kuersetin	0,5	0,482	0,497	3,018108652	$y = 6,9888x + 2,6911$ $R^2 = 0,991$	6,76924508
		1	0,462		7,042253521		
		1,5	0,437		12,07243461		
		2	0,408		17,90744467		
		3	0,368		25,95573441		
		4	0,337		32,19315895		
		6	0,258		48,08853119		
		8	0,191		61,5694165		
		10	0,139		72,03219316		
		12	0,087		82,49496982		
2	EEDS	40	0,17	0,415	59,03614458	$y = 0,3675x + 44,322$ $R^2 = 0,9911$	15,4503401
		50	0,184	0,497	62,9778672		
		60	0,181	0,522	65,3256705		
		70	0,182	0,627	70,97288676		

	80	0,18	0,688	73,8372093	
	90	0,181	0,791	77,11757269	
	100	0,009	-	-	

Berdasarkan data hasil uji DPPH pada tabel III dapat dilihat bahwa ekstrak daun salam menunjukkan aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar 15,45 ppm yang termasuk kedalam kategori sangat kuat dengan nilai $R^2 = 0,9911$ dan regresi linier $Y = 0,3675x + 44,322$ sebagai persamaan yang menggambarkan hubungan konsentrasi dan persentase penangkapan radikal bebas. Sementara itu kuersetin yang digunakan sebagai pembanding, juga menunjukkan kategori sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 6,769 ppm dengan nilai $R^2 = 0,991$ dan regresi linier $Y = 6,9888x + 2,6911$. Meskipun termasuk kedalam kategori yang sama, terdapat perbedaan dalam kadar antioksidan yang terkandung didalamnya. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh jumlah dan kemampuan masing-masing senyawa yang memberikan elektron kepada DPPH (Nazirah *et al.*, 2023).

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasari pada prinsip perubahan warna ungu menjadi kuning sebagai penanda adanya reaksi yang diberikan sampel terhadap radikal bebas DPPH. Reaksi tersebut dapat disebabkan oleh senyawa antioksidan yang terdapat pada sampel dimana molekul senyawa antioksidan pada sampel dapat melepaskan atom hidrogen dan berinteraksi dengan DPPH membentuk ikatan elektron. Senyawa *difenil pikrilhidrazin* dan perubahan warna menjadi kuning merupakan hasil dari interaksi tersebut. Interaksi yang terjadi dapat diukur melalui nilai absorbansi yang juga dipegaruhi oleh konsentrasi sampel dan DPPH sejalan dengan pengaruh pada peningkatan terhadap nilai % Inhibisi sampel ekstrak (Abdulkadir *et al.*, 2021).

Seperti yang ditunjukkan dalam hasil yang ditampilkan pada tabel III, terdapat korelasi antara konsentrasi yang tercatat dan absorbansi yang tercatat. Semakin tinggi konsentrasi yang direaksikan dengan DPPH, semakin rendah nilai absorbansi yang terbaca, yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang lebih tinggi, perubahan warna menjadi lebih jernih dan kuning. Kehadiran dan kekuatan antioksidan yang terkandung didalam sampel uji memberikan pengaruh besar karena peran senyawa antioksidan sebagai penyumbang elektron terhadap radikal bebas DPPH. Perhitungan terhadap jumlah elektron yang ditransfer oleh sampel terhadap radikal DPPH dapat dilakukan dengan pengukuran menggunakan Spektrofotometer UV-VIS (Molyneux, 2004).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rohaeti *et al.*, 2021, didapat nilai IC_{50} pada pengujian DPPH dengan variasi pelarut (etanol absolut, etanol 30%, 50%, 70% dan akuadest) secara berturut yaitu $(6.75 \pm 0.35; 8.92 \pm 0.51; 7.59 \pm 0.16; 6.19 \pm 0.78; 21.13 \pm 4.38)$ ppm. Sampel dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, diantara 50 – 100 $\mu\text{g/mL}$, diantara 101-150 $\mu\text{g/mL}$, dan $> 200 \mu\text{g/mL}$ secara berturut diklasifikasikan kedalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, kuat, sedang dan lemah. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat didasari pada nilai IC_{50} pengujian DPPH sebesar 13,75 $\mu\text{g/mL}$ yang lebih rendah dari 50 $\mu\text{g/mL}$ (Widyawaty *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam mengandung senyawa fenol dan mengandung antioksidan yang termasuk kedalam kategori sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 15,45 ppm Standar kuersetin yang digunakan sebagai pembanding terhadap sampel daun salam menunjukkan nilai IC_{50} yang lebih kuat dibandingkan sampel EEDS dengan nilai IC_{50} sebesar 6,769 ppm namun kedua sampel uji tersebut sama-sama termasuk kedalam kategori sangat kuat sebagai antioksidan.

REFERENSI

- Abdulkadir, W. S., Hasan, H., & Alamsyah, A. (2021). SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN JANTUNG PISANG GOROHO (*Musa acuminata* L.) DENGAN METODE 1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(3), 136–141. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i3.11371>
- Cahyaningsih, E., Sandhi K, P. E., & Santoso, P. (2019). SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1), 51–57.
- Esati, N. K., Jawa La, E. O., & Lestari, G. A. D. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.) dengan Metode DPPH dan FRAP serta Pengaplikasiannya sebagai Zat Aktif dalam Losion. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(4), 363–369. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i4.1129>
- Fakriah, Kurniasih, E., Adriana, & Rusydi. (2019). SOSIALISASI BAHAYA RADIKAL BEBAS DAN FUNGSI ANTIOKSIDAN ALAMI BAGI KESEHATAN. *Jurnal Vokasi*, 3(1), 1–7.

- Faustina, M., Herlianto, J., Hendrawan, S., & Ferdinal, F. (2023). Uji Fitokimia dan Kapasitas Total Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(4), 5012–5018.
- Kementrian Kesehatan RI. (2017). *FARMAKOPE HERBAL INDONESIA EDISI II* (2nd ed.). Kementrian Kesehatan RI.
- Kurnia, D., Rosliana, E., Juanda, D., & Nurochman, Z. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Total Fenol Total dari Mikroalga Laut *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Kimia Riset*, 5(1), 14–21.
- Molyneux, P. (2004). *The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. 211–219.
- Nazirah, Nasution, M. A., Ridwanto, & Nasution, H. M. (2023). Phytochemical screening and antioxidant activity test of methanol extract salam leaves *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) from Gampong Bunot Pidie Jaya using the DPPH method. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1(1), 104–116.
- Nurhajanah, M., Agussalim, L., Iman, S. Z., & Hajiriah, T. L. (2020). Analisis Kandungan Antiseptik Daun Kopasanda (*Choromolaena odorata*) sebagai Dasar Pembuatan Gel pada Luka. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 284–293.
- Putri, C. F., & Andini. (2020). Standardisasi Simplisia Kulit Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.) Varietas Gadung. *Akademi Farmasi Putra Indonesia Minang*.
- Rohaeti, E., Karunina, F., & Rafi, M. (2021). FTIR-based fingerprinting and chemometrics for rapid investigation of antioxidant activity from *Syzygium polyanthum* extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(1), 128–136. <https://doi.org/10.22146/ijc.54577>
- Salikode, J. S., Yudistira, A., & Hariyanto, Y. A. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Aaptos aaptos* yang Diperoleh dari Pantai Selatan Kabupaten Minahasa. *PHARMACON*, 13(1), 431–437. <https://doi.org/10.35799/pha.13.2024.49266>
- Samosir, S. R., Auliafendri, N., Iva, M., & Naibaho, D. (2024). Uji Efektivitas Antioksidan dari Kombinasi Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* (bertoni) bertoni) dan Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 7(2), 105–113. <https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI>
- Siregar, A. Z., & Razoki. (2024). *Jamu: Warisan Budaya Indonesia*. DEEPUBLISH.
- Tambunan, P. M., Nadia, S., & Siregar, F. A. Z. (2024a). Skrining dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *FORTE JOURNAL*, 4(1), 66–72. <https://www.ojs.unhaj.ac.id/index.php/fj>
- Tambunan, P. M., Nadia, S., & Siregar, F. A. Z. (2024b). Skrining dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *FORTE JOURNAL*, 4(1), 66–72. <https://www.ojs.unhaj.ac.id/index.php/fj>
- Thomas, N. A., Pakaya, M. Sy., Paneo, M. A., Latif, M. S., & Basri, R. F. (2024). Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Masker Gel Peel-Off Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Teknologi Sediaan Dan Kosmetika*, 1(1), 1–0.
- Widyawaty, L. E., Nyoman Ehrich Lister, I., & Lie, S. (2021). Antioxidant Activity, Total Phenol, and Total Flavonoid of *Syzygium polyanthum*. *InHeNce 2021 - 2021 IEEE International Conference on Health, Instrumentation and Measurement, and Natural Sciences*. <https://doi.org/10.1109/InHeNce52833.2021.9537187>
- Wilapangga, A., & Sari, L. P. (2018). Analisis Fitokimia dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *IJOBB*, 2(1), 19–24.