

**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol Herba Puguntano (*Picria fel-terrae* Lour.) dengan Metode DPPH**Ushbah Safira<sup>1</sup>, Vivi Asfianti<sup>2</sup>, Samran<sup>3</sup><sup>2,3</sup> Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam-Indonesia<sup>1</sup> Universitas Sari Mutiara Indonesia[ushbahsafira@gmail.com](mailto:ushbahsafira@gmail.com); [\\*yarahaqim@gmail.com](mailto:*yarahaqim@gmail.com); [samranamatrejo@gmail.com](mailto:samranamatrejo@gmail.com)

Received: 27 Maret 2025; Revised: 22 April 2025; Accepted: 30 April 2025

DOI: <https://doi.org/10.52622/jisk.v7i1.05>**Abstract**

**Background:** Antioxidants are compounds that play a role in inhibiting or reducing oxidative damage caused by free radicals. **Objective:** This study aimed to evaluate the characteristics of simplicia, phytochemical constituents, reflux extraction process, and antioxidant activity of puguntano herb extract using the DPPH method with UV-Vis spectrophotometry. **Methods:** Simplicia characterization included macroscopic examination, moisture content, water-soluble extractive value, ethanol-soluble extractive value, and total ash content. Phytochemical screening was performed using thin-layer chromatography to detect alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, glycosides, and steroids/triterpenoids. Puguntano herb was extracted by reflux using n-hexane, ethyl acetate, and methanol as solvents, followed by concentration with a rotary evaporator to obtain thick extracts. Antioxidant activity was assessed using the DPPH method after 60 minutes of incubation at a wavelength of 516 nm. **Results:** The simplicia characterization showed a moisture content of 7.23%, water-soluble extractive value of 38.6%, ethanol-soluble extractive value of 5%, and total ash content of 10.71%. Phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, saponins, tannins, glycosides, and steroids/triterpenoids. **Conclusion:** The IC<sub>50</sub> values of the n-hexane, ethyl acetate, methanol extracts, and quercetin were 216.8478, 30.6781, 21.3478, and 4.973 µg/mL, respectively.

**Keywords:** Antioxidant activity, puguntano herb, DPPH.**PENDAHULUAN**

Radikal bebas dapat terbentuk akibat pertambahan usia, pola hidup tidak sehat, konsumsi makanan instan, serta paparan lingkungan tercemar. Senyawa ini bersifat sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga dapat merusak struktur dan fungsi sel, memicu mutasi, serta meningkatkan risiko penyakit degeneratif seperti jantung koroner, rematik, aterosklerosis, Parkinson, hingga kanker [1]–[3]. Tubuh memiliki sistem antioksidan alami, tetapi jumlah radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan stres oksidatif dan memicu berbagai gangguan Kesehatan [4].

Antioksidan berperan menstabilkan radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidatif. Salah satu sumber antioksidan alami adalah senyawa flavonoid yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antivirus, serta antitumor [1]. Aktivitas antioksidan umumnya diuji dengan metode DPPH karena sederhana, cepat, dan efektif dalam mengukur kemampuan suatu sampel menangkap radikal bebas [5]. Nilai IC<sub>50</sub> digunakan sebagai parameter kekuatan antioksidan, yaitu konsentrasi sampel yang mampu meredam 50% radikal DPPH [6].

Puguntano (*Picria fel-terrae* Lour.) merupakan tanaman obat yang digunakan secara tradisional untuk mengatasi kolik, demam, gangguan kulit, asam urat, rematik, diabetes, serta meningkatkan daya tahan tubuh [7]. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa fraksi etil asetat herba puguntano memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 166,90 ± 0,10 µg/mL [8], sedangkan ekstrak etil asetat daun puguntano menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 115,038 ppm [8]. Berdasarkan hal tersebut, penelitian

ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol herba puguntano menggunakan metode DPPH dengan ekstraksi refluks dan analisis spektrofotometri UV-Vis.

## METODE PENELITIAN

### Penyiapan sampel dan ekstraksi

Sebanyak 13,7 kg herba puguntano dikumpulkan, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, dipotong, lalu dikeringkan dalam lemari pengering hingga diperoleh 1,7 kg simplisia kering. Sebagian sampel dilakukan identifikasi di laboratorium Medanese Universitas Sumatera Utara. Simplisia disimpan dalam kantong plastik kedap udara dan terlindung dari sinar matahari. Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, kadar air, kadar abu total, kadar sari larut etanol, dan kadar sari larut air [9], [10]. Sebanyak 450 g serbuk simplisia herba puguntano diekstraksi secara bertingkat menggunakan metode refluks dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Setiap tahap ekstraksi dilakukan selama 4–5 jam, kemudian disaring untuk memperoleh filtrat dari masing-masing pelarut. Ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental [11].

### Pengujian antioksidan

Larutan DPPH 500 µg/mL dibuat dengan melarutkan 0,005 g DPPH dalam 25 mL metanol menggunakan labu ukur. Larutan stok sampel 500 µg/mL dibuat dari masing-masing ekstrak herba puguntano hasil fraksinasi n-heksan, etil asetat, dan metanol dengan menimbang 5 mg ekstrak, kemudian dilarutkan dalam metanol, dihomogenkan, dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Larutan perbandingan kuersetin 500 µg/mL disiapkan dengan cara yang sama, yaitu melarutkan 5 mg kuersetin dalam metanol hingga volume akhir 10 mL.

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 1 mL DPPH dan metanol hingga volume 5 mL, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 60 menit. Larutan sampel dibuat dalam empat seri konsentrasi: ekstrak n-heksan 200, 100, 50, dan 25 µg/mL; ekstrak etil asetat serta metanol masing-masing 50, 25, 12,5, dan 6,25 µg/mL. Larutan kuersetin dibuat pada konsentrasi 10, 5, 2,5, dan 1,25 µg/mL. Setiap larutan ditambahkan 1 mL DPPH, dicukupkan volumenya hingga 5 mL dengan metanol, dihomogenkan, dan diinkubasi selama 60 menit sebelum pengukuran. Pengujian dilakukan tiga kali pengulangan. Data absorbansi digunakan untuk menghitung persen inhibisi dan nilai  $IC_{50}$  melalui persamaan regresi linier. Aktivitas antioksidan dikategorikan sangat kuat jika  $IC_{50} < 50$  µg/mL, kuat pada 50–100 µg/mL, sedang pada 101–200 µg/mL, dan lemah atau tidak aktif jika  $IC_{50} > 200$  µg/mL [5], [12].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Herba pugun tanah (*Picria fel-terrae* Lour.) termasuk dalam suku Linderniaceae. Pemeriksaan karakteristik makroskopik dilakukan untuk memastikan identitas simplisia. Berdasarkan hasil Pemeriksaan karakteristik simplisia herba puguntano (*Picria fel-terrae* Lour.) dilakukan untuk memastikan identitas dan mutu bahan. Secara makroskopik, simplisia memiliki daun berwarna hijau muda hingga hijau tua, berbentuk bulat telur, tepi beringgit, ukuran  $\pm 6 \times 4$  cm, permukaan kasar, berkerut, dan berbulu. Batang berwarna coklat muda hingga coklat tua, berukuran  $\pm 20$ –30 cm, bercabang tunggal, tidak berbau saat diremas, dan berasa pahit. Hasil karakterisasi simplisia meliputi kadar air 7,23%, kadar sari larut air 38,6%, kadar sari larut etanol 5%, dan kadar abu total 10,71%. Kadar air tersebut memenuhi persyaratan umum simplisia, yaitu tidak lebih dari 10% [9]. Kadar sari larut air dan etanol menggambarkan jumlah senyawa polar maupun semipolar yang dapat tersari, sedangkan kadar abu total mencerminkan kandungan mineral serta residu anorganik yang tersisa setelah proses pembakaran.

Ekstraksi bertingkat terhadap 450 g simplisia herba puguntano menggunakan metode refluks dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol menghasilkan rendemen yang berbeda. Ekstrak n-heksan diperoleh sebanyak 4,92 g dengan rendemen 1,09%, ekstrak etil asetat sebanyak 7,01 g dengan rendemen 1,55%, dan ekstrak metanol sebanyak 36,52 g dengan rendemen 8,11%. Rendemen tertinggi pada ekstrak metanol menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam herba puguntano lebih banyak tersari oleh pelarut polar. Perbedaan tingkat kepolaran pelarut memengaruhi kemampuan pelarut

dalam menarik senyawa metabolit sekunder. Pelarut n-heksan cenderung menarik senyawa nonpolar seperti steroid/triterpenoid, etil asetat menarik senyawa semipolar, sedangkan metanol menarik senyawa polar seperti flavonoid, glikosida, dan saponin [13].

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan herba puguntano (FNHP) mengandung steroid/triterpenoid. Ekstrak etil asetat herba puguntano (FEAHP) mengandung flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid/triterpenoid. Sementara itu, ekstrak metanol herba puguntano (FMHP) mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida, tetapi tidak menunjukkan adanya alkaloid maupun steroid/triterpenoid. Hasil ini menunjukkan bahwa distribusi metabolit sekunder pada masing-masing ekstrak dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan.

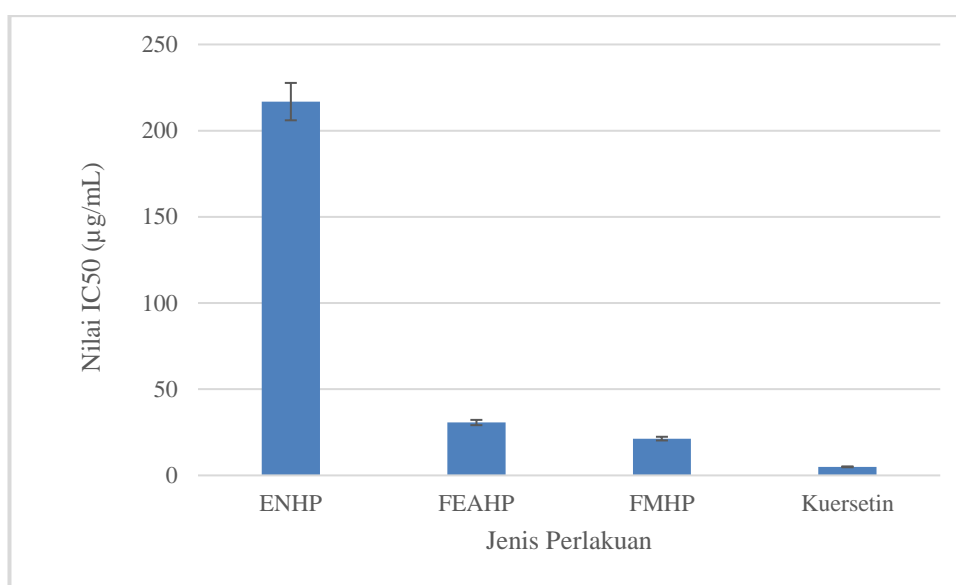
Nilai  $IC_{50}$  ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan uji sebagai sumbu X dan persen inhibisi DPPH sebagai sumbu Y. Persen inhibisi dihitung dari nilai absorbansi. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan mensubstitusikan nilai Y sebesar 50 ke dalam persamaan regresi, sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat 50% radikal bebas DPPH.

Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan herba puguntano (ENHP) memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $216,2847 \pm 1,3165 \mu\text{g/mL}$ , sehingga termasuk kategori antioksidan lemah atau tidak aktif. Ekstrak etil asetat herba puguntano (FEAHP) memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $30,5639 \pm 0,2466 \mu\text{g/mL}$ , sedangkan ekstrak metanol herba puguntano (FMHP) memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $21,2349 \pm 0,1687 \mu\text{g/mL}$ . Kedua ekstrak tersebut termasuk kategori antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari  $50 \mu\text{g/mL}$ . Kuersetin sebagai pembanding positif menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $4,9577 \pm 0,0011 \mu\text{g/mL}$ . Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan ekstrak etil asetat dan n-heksan, meskipun masih lebih rendah dibandingkan kuersetin.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, perbedaan kandungan metabolit sekunder pada masing-masing ekstrak herba puguntano berhubungan dengan perbedaan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Ekstrak n-heksan herba puguntano (ENHP) hanya menunjukkan kandungan steroid/triterpenoid dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $216,2847 \pm 1,3165 \mu\text{g/mL}$ , sehingga termasuk kategori lemah atau tidak aktif. Rendahnya aktivitas antioksidan ENHP diduga berkaitan dengan dominasi senyawa nonpolar, sedangkan aktivitas peredaman radikal DPPH umumnya lebih kuat pada senyawa fenolik dan flavonoid yang mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Metode DPPH sendiri digunakan untuk menilai kemampuan suatu senyawa atau ekstrak dalam meredam radikal bebas, dan semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , semakin kuat aktivitas antioksidannya [14].

Ekstrak etil asetat herba puguntano (FEAHP) mengandung flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid/triterpenoid, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $30,5639 \pm 0,2466 \mu\text{g/mL}$ . Nilai tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Aktivitas ini kemungkinan dipengaruhi oleh kandungan flavonoid dan tanin yang termasuk kelompok senyawa fenolik. Hasil ini sejalan dengan penelitian pada *Picria fel-terrae* yang melaporkan bahwa fraksi etil asetat mengandung fenolik dan flavonoid serta memiliki aktivitas antioksidan DPPH yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$   $25,72 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$ . Penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak etil asetat *Picria fel-terrae* mengandung flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin, sedangkan ekstrak n-heksan terutama mengandung steroid/triterpenoid [15].

Ekstrak metanol herba puguntano (FMHP) menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat di antara seluruh ekstrak dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $21,2349 \pm 0,1687 \mu\text{g/mL}$ . Aktivitas ini didukung oleh kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida dalam ekstrak metanol. Pelarut metanol yang bersifat polar lebih efektif menarik senyawa polar, terutama senyawa fenolik, flavonoid, dan glikosida, sehingga menghasilkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksan dan etil asetat. Literatur menunjukkan bahwa ekstrak hidroalkoholik puguntano memiliki kandungan fenolik dan flavonoid lebih tinggi dibandingkan pelarut nonpolar, dan keberadaan fenol, flavonoid, serta tanin berperan dalam aktivitas peredaman radikal bebas [16]. Kuersetin sebagai pembanding memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $4,9577 \pm 0,0011 \mu\text{g/mL}$ , menunjukkan aktivitas antioksidan paling kuat. Dengan demikian, urutan kekuatan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  adalah kuersetin > FMHP > FEAHP > ENHP.



**Gambar 1.** Nilai IC<sub>50</sub> dari masing-masing jenis perlakuan herba puguntano

## KESIMPULAN

Simplisia herba puguntano mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid/triterpenoid. Ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol herba puguntano menunjukkan aktivitas antioksidan berdasarkan metode peredaman radikal bebas DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol berturut-turut sebesar 216,8478 µg/mL, 30,6781 µg/mL, dan 21,3478 µg/mL. Ekstrak n-heksan termasuk kategori lemah, sedangkan ekstrak etil asetat dan metanol termasuk kategori sangat kuat. Ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antioksidan terbaik di antara ekstrak herba puguntano.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada staf Laboratorium Medanese Universitas Sumatera Utara atas bantuan, arahan, dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian ini.

## REFERENSI

- [1] S. Handayani, A. Najib, and N. P. Wati, "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus Ilicifolius* L.) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH)," *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 5, no. 2, pp. 299–308, 2018, doi: [10.33096/jffi.v5i2.414](https://doi.org/10.33096/jffi.v5i2.414).
- [2] M. S. Ikhrar, A. Yulistira, and D. S. Wewengkang, "Uji Aktivitas Antioksidan *Stylissa* sp. dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil)," *Pharmakon*, vol. 8, no. 4, pp. 961–967, 2019.
- [3] Siswadi, H. Rianawati, G. S. Saragih, and R. Setyowati, "Phytochemical and Organoleptic Characteristic of *Sterculia quadrifida* R. Br. Tree Bark Herbal Tea," *Indones. J. For. Res.*, vol. 10, no. 1, pp. 47–60, 2023, doi: [10.59465/jjfr.2023.10.1.47-60](https://doi.org/10.59465/jjfr.2023.10.1.47-60).
- [4] G. A. K. Ulaan, A. Yulistira, and H. Rotinsulu, "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Alga *Ulva Lactuca* Menggunakan Metode DPPH (1, 1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)," *Pharmakon*, vol. 8, no. 3, p. 535, 2019.
- [5] D. Raharjo, T. A. Listyani, and D. B. Pambudi, "Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar *Rhizophora stylosa* Metode ABTS dan FRAP: Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar *Rhizophora stylosa* Metode ABTS dan FRAP," *J. Ilm. Kesehatan*, vol. 15, no. 2, pp. 123–137, 2022, doi: [10.48144/jiks.v15i2.1148](https://doi.org/10.48144/jiks.v15i2.1148).
- [6] Ī. Gulcin and S. H. Alwasel, "DPPH Radical Scavenging Assay," *Processes*, vol. 11, no. 8, p. 2248, 2023, doi: [10.3390/pr11082248](https://doi.org/10.3390/pr11082248).

- [7] A. Dalimunthe, D. Pertiwi, M. Muhammad, V. Asfianti, and D. Satria, "The Effect of Ethanol Percentage as Solvent Towards Antioxidant Activity of *Picria fel-terrae* Lour. herbs," in *The 2nd International Conference on Chemical Science and Technology Innovation (ICOCSTI 2021): A chemical breakthrough for science technology innovation*, AIP Publishing LLC, 2023, p. 30005.
- [8] D. Satria, J. Silalahi, G. Haro, S. Ilyas, and P. A. Z. Hsb, "Antioxidant and Antiproliferative Activities of an Ethylacetate Fraction of *Picria Fel-Terrae* Lour. Herbs," *Asian Pacific J. cancer Prev. APJCP*, vol. 18, no. 2, p. 399, 2017, doi: [10.22034/APJCP.2017.18.2.399](https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.2.399).
- [9] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017.
- [10] A. N. Wulansari, "Alternatif Cantigi ungu (*Vaccinium varigiaefolium*) sebagai Antioksidan," *Farmaka*, vol. 16, no. 2, 2018, doi: [10.24198/jf.v16i2.17574.g8779](https://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17574.g8779).
- [11] A. Roni, L. Fitriani, and L. Marliani, "Penetapan Kadar Total Flavonoid, Fenolat, dan Karotenoid, serta Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun dan Kulit Batang Tanaman Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)," *J. Sains Dan Kesehat.*, vol. 2, no. 2, pp. 83–88, 2019.
- [12] F. Silva *et al.*, "A Rapid and Simplified DPPH Assay for Analysis of Antioxidant Interactions in Binary Combinations," *Microchem. J.*, vol. 202, p. 110801, 2024, doi: [10.1016/j.microc.2024.110801](https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110801).
- [13] F. Nezhdbahadori, M. A. Abdoli, M. Baghdadi, and F. Ghazban, "A Comparative Study on The Efficiency of Polar and Non-Polar Solvents in Oil Sludge Recovery Using Solvent Extraction," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 190, no. 7, p. 389, 2018, doi: [10.1007/s10661-018-6748-6](https://doi.org/10.1007/s10661-018-6748-6).
- [14] P. Molyneux, "The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity," *Songklanakarin J. sci. technol*, vol. 26, no. 2, pp. 211–219, 2004.
- [15] N. AuliaFendri, S. Suryani, and D. Satria, "The Immunomodulatory Activities of *Picria Fel-Terrae* Lour Herbs towards RAW 264.7 Cells," *Open Access Maced. J. Med. Sci.*, vol. 7, no. 1, p. 24, 2019, doi: [10.3889/oamjms.2019.017](https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.017).
- [16] D. Satria, A. Dalimunthe, P. Sitorus, S. B. Waruwu, M. Vadhila, and M. Wahyu, "Antioxidant Activity of Hydroalcoholic Extract of Puguntano Herbs and Andaliman Fruits by Cuprac Methods," *Trad Med J*, vol. 29, p. 192, 2024, doi: [10.22146/mot.90337](https://doi.org/10.22146/mot.90337).