

**AKTIVITAS ANTI OKSIDAN FRAKSI AKTIF EKSTRAK ETANOL  
DAUN BIDARA ARAB (*Ziziphus spina-christi* L.) MENGGUNAKAN  
METODE DPPH (2,2- *diphenyl-1-picrylhydrazyl*)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTING OF HYDROGEL FRACTION  
OF ETHANOLIC EXTRACT BIDARA ARAB LEAF (*Ziziphus spina-  
christi* L.) USING THE DPPH (2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazyl*) METHOD**

<sup>1)</sup>Shindy Citraloka, <sup>2)</sup>I Kadek Bagiana, <sup>3)</sup>Dewi Fitriani Puspitasari

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

**ABSTRAK**

Daun Bidara Arab merupakan salah satu tanaman yang mengandung bahan aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan. Bagian yang digunakan adalah daun yang mempunyai metabolit sekunder flavonoid dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fraksi manakah yang memiliki nilai aktivitas antioksidan atau IC<sub>50</sub> yang paling kuat dari ekstrak etanol daun bidara arab serta untuk mengetahui perbedaan karakteristik sediaan hidrogel yang meliputi homogenitas, organoleptis, pH, viskositas, daya lekat, dan daya sebar. Ekstrak diperoleh dengan menggunakan metode remaserasi selama 3 x 24 jam. Analisis kualitatif dilakukan dengan skrining fitokimia, serta analisis kuantitatif aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2- *diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan hidrogel pada formula I, II dan III memiliki aktivitas antioksidan dengan rerata nilai IC<sub>50</sub> berturut – turut sebesar 1,05 ppm ; 1,12 ppm dan 1,28 ppm. Hasil uji statistik data menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi (>0,05). Pada hasil anava satu jalan menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan antara formula I, II dan III dengan nilai signifikansi (<0,05).

**Kata kunci :** aktivitas antioksidan, daun bidara arab, DPPH, karakteristik fisik

## ABSTRACT

Bidara Arab leaves are one of the plants that contain active ingredients that have antioxidant activity. The part used is the leaves which have secondary metabolites of flavonoids and tannins which have the potential to act as antioxidants. This research aims to find out which fraction has the strongest antioxidant activity or IC50 value from the ethanol extract of bidara arab leaves and to find out the differences in the characteristics of hydrogel preparations which include homogeneity, organilepticity, pH, viscosity, adhesiveness and spreadability. The extract was obtained using the remaceration method for 3 x 24 hours. Qualitative analysis was carried out by phytochemical screening, as well as quantitative analysis of antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The research results showed that the hydrogel preparations in formulas I, II and III had antioxidant activity with an average IC50 value of 1.05 ppm respectively; 1.12 ppm and 1.28 ppm. The results of statistical data tests show that the data is normally distributed and homogeneous with a significance value ( $>0.05$ ). The results of one way ANOVA showed that there was a significant difference in antioxidant activity between formulas I, II and III with a significance value ( $<0.05$ ).

**Kata kunci :** antioxidant activity, bidara arab leaf, DPPH, physical characteristics.

## PENDAHULUAN

Penuaan merupakan proses penyusutan progresif dari perubahan organisme ke seluruh organ tubuh, termasuk kulit. Kulit manusia sering kali terpapar cemaran udara, radiasi matahari, polutan lingkungan, atau gangguan mekanis dan kimia lainnya. Hal ini mendorong pembentukan radikal bebas yang dapat menjadi penyebab utama efek samping pada kulit, seperti penuaan dini, kanker kulit dan penurunan respon imun (Suryani dkk., 2019). Proses penuaan akan terlihat pada kerutan kulit wajah sehingga diperlukan suatu substansi penting yakni zat antioksidan yang dapat membantu melindungi kulit wajah dari serangan radikal bebas maupun senyawa radikal. Antioksidan mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Antioksidan yang aman untuk digunakan ialah antioksidan alami yang dapat diperoleh dari senyawa alami tanaman bidara arab (Zaky dkk., 2021).

Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) merupakan tanaman yang berasal dari Arab dan memiliki banyak manfaat. Daun bidara arab mengandung

bahan aktif seperti flavonoid dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan. Flavonol merupakan bagian dari flavonoid yang dalamnya terkandung senyawa kuersetin yang dapat melindungi tubuh dari radikal bebas (Shinta Cania Maiza dkk., 2022).

Berdasarkan penelitian Purnamasari, (2020) ekstrak etanol dari daun bidara arab memiliki aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  yang sangat kuat sebesar 10,9584 ppm dan memiliki kadar total flavonoid sebesar 1,5312 . Beberapa tingkat kekuatan antioksidan yaitu sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm), kuat (50 ppm – 100 ppm), sedang ( $IC_{50}$  101 ppm – 150 ppm), lemah ( $IC_{50}$  151 ppm – 200 ppm), sangat lemah atau tidak aktif ( $IC_{50} > 200$  ppm) (Nasution dkk., 2015). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bidara arab memiliki potensi aktivitas antioksidan yang aktif atau kuat dan dapat berpotensi dikembangkan menjadi sediaan kosmetik perawatan kulit yang bermanfaat.

## **METODE PENELITIAN**

Obyek yang diteliti dalam penelitian ini fraksi etil asetat daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) dan pengaruhnya pada karakteristik fisik dan aktivitas antioksidan sediaan *hidrogel* dengan konsentrasi berbeda. Alat yang digunakan pada proses ekstraksi dan fraksinasi adalah blender, mesh nomor 30 , toples kaca, kain kola, *rotary vacuum evaporator*, *waterbath*, cawan porselen, dan corong pisah. Alat yang digunakan untuk uji pendahuluan : alat kaca, rak tabung, penjepit kayu, cawan porselen, chamber dan penutup kaca, pipa kapiler, pinset dan *waterbath*. Alat yang digunakahn untuk uji karakteristik fisik : timbangan analitik, mortir, stamper, pot salep, alat kaca, Viscometer *Brookfield*, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar dan pH meter. Alat yang digunakan untuk uji antioksidan antara lain : alat kaca, *vortex*, pipet volume, mikropipet, vial, spektrofotometer UV-Vis *double beam* (UV-1800 Shimadzu). Bahan utama yang digunakan adalah daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) yang dikeringkan di dalam lemari pengering. Bahan yang digunakan untuk uji pendahuluan adalah etanol 70%, *n*-heksana, etil asetat, aquadest, asam asetat, asam sulfat, HCl, FeCl<sub>3</sub>, methanol, kloroform, pereaksi *dragendorff*, anisaldehyd dan pereaksi *mayer*

Bahan untuk pembuatan sediaan dan uji karakteristik fisik adalah Carbopol, HPMC, Gliserin, Methyl Paraben dan Triethanolamine dan aquadest. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah reagen DPPH (1,1 -*difenil-2-pikrilhidrazil*) dan pelarut methanol p.a.

Serbuk kering dari daun bidara arab diekstraksi menggunakan metode remaserasi menggunakan etanol 70% selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Hasil dari remaserasi dilakukan penyaringan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 55 °C. Didapatkan hasil berupa ekstrak kental yang dilanjutkan uji skrining fitokimia dan uji kromatografi lapis tipis.

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1 -*difenil-2-pikrilhidrazil*). Pengujian pada sediaan hidrogel meliputi uji homogenitas, uji organoleptis, uji viskositas, uji pH, uji daya sebar dan uji daya lekat. Hasil uji karakteristik sediaan dan uji aktivitas antioksidan dianalisis secara statistika menggunakan uji statistika parametrik *ANOVA* satu jalan untuk mengetahui pengaruh perbedaan fraksi terhadap aktivitas antioksidan.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan air daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) dengan parameter nilai  $IC_{50}$  kemudian fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dipilih untuk sediaan *hidrogel* fraksi aktif ekstrak daun bidara arab untuk diukur aktivitas antioksidan nya dan dilakukan uji evaluasi karakteristik fisik sediaan *hidrogel* fraksi aktif ekstrak daun bidara arab. Pembuatan ekstraksi menggunakan metode remaserasi, ekstrak kental yang didapat kemudian dilanjutkan proses fraksinasi dengan metode cair-cair. Ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun bidara arab dilakukan pengujian kualitatif atau skrining fitokimia. Tujuan dilakukannya uji fitokimia adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam sampel ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Uji fitokimia tersebut meliputi uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid. Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol dan fraksi daun bidara arab dapat dilihat pada tabel 1

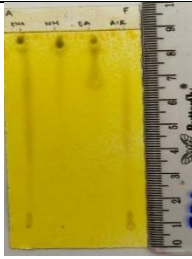
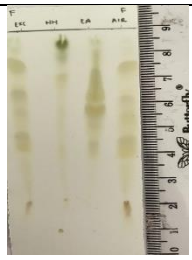

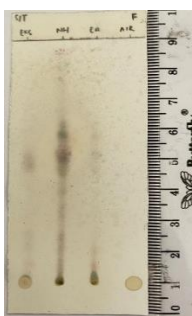
**Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol (Eks) dan Fraksi n-heksan (F.NH) Fraksi Etil Asetat (F.EA) dan Fraksi Air (F.Air) Daun Bidara Arab**

Senyawa	Pereaksi	Hasil Positif	Hasil penelitian			
			Eks	F.NH	F.EA	F.Air
Alkaloid	HCl 2N + reagen Mayer	Terbentuk endapan coklat	+	-	-	+
	HCl 2N + reagen Dragendorf	Terbentuk endapan jingga-coklat (Depkes RI., 1995)	+	+	-	-
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat + amyl alkohol	Terbentuk warna merah kuning, orange atau kuning (Depkes RI., 1995)	+	+	+	+
Saponin	Aquadest dipanaskan lalu dikocok kuat 10 detik + HCl	Terbentuk busa setinggi 1-10 cm (Akhtar dkk., 2016)	+	-	-	+
Tannin	Penambahan FeCl <sub>3</sub> 1%	Terbentuk warna biru tua atau kehitaman (Hanani, 2015)	+	-	-	+
Steroid/ Terpenoid	Asam asetat anhidrat + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Steroid terbentuk warna merah	+	+	+	+
		Terpenoid terbentuk warna hijau kebiruan (Ambaro dkk., 2020)	+	-	+	-

Berdasarkan skrining fitokimia untuk ekstrak daun bidara arab positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid dan terpenoid. Sedangkan pada fraksi n-heksan daun bidara arab negatif mengandung senyawa saponin, tannin dan triterpenoid. Pada fraksi etil asetat daun bidara arab negatif mengandung senyawa alkaloid, saponin dan tanin dan fraksi air daun bidara arab negatif mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid.

Dilakukan uji penegasan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis), metode kromatografi lapis tipis merupakan cara pemisahan berdasarkan pada pembagian campuran dua senyawa dalam dua fase, fase gerak bergerak terhadap fase diam dan fase diam merupakan suatu bidang datar. Hasil uji KLT pada ekstrak etanol dan fraksi daun bidara arab dapat dilihat pada tabel 2

**Tabel 2. Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol (Eks) dan Fraksi n-heksan (F.NH) Fraksi Etil Asetat (F.EA) dan Fraksi Air (F.Air) Daun Bidara Arab**

Senyawa dan Penampak Bercak	Sampel Uji	Rf	Hasil Dengan Penampak Bercak	Hasil penelitian	
Alkaloid	Ekstrak	0,96		+	
	Fraksi NH	0,94		+	
	Fraksi EA	0,95		+	
	Fraksi Air	-		-	
Flavonoid	Ekstrak	0,93		+	
	Fraksi NH	0,95		+	
	Fraksi EA	0,93		+	
	Fraksi Air	0,92		+	
Tannin	Ekstrak	0,94		+	
	Fraksi NH	0,95		+	
	Fraksi EA	0,97		+	
	Fraksi Air	0,27		+	
Steroid dan Terpenid	Steroid :			-	
	Ekstrak	-		-	
	Fraksi NH	-		+	
	Fraksi EA	0,62		-	
	Fraksi Air	-		-	
	Terpenoid :				
	Ekstrak	0,56		+	
Fraksi NH	0,87	+			
Fraksi EA	-	-			
Fraksi Air	-	-			

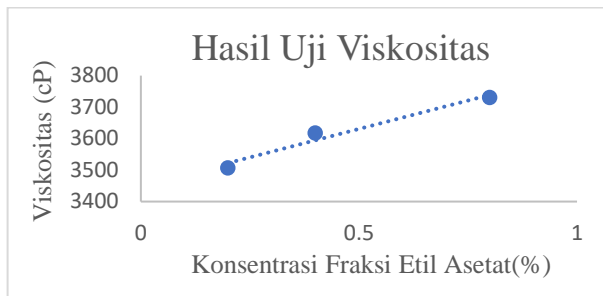
Berdasarkan hasil uji KLT alkaloid dengan eluen kloroform-methanol (9:1) negatif alkaloid yaitu fraksi air. Pada pemisahan senyawa flavonoid dengan eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) ekstrak dan fraksi positif mengandung senyawa

flavonoid. Pada pemisahan senyawa tannin dengan eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) ekstrak dan fraksi positif mengandung senyawa tanin. Sedangkan pada pemisahan steroid dan terpenoid dengan eluen n-heksan-EA (6:4) positif steroid pada fraksi etil asetat dan positif terpenoid pada ekstrak dan fraksi n-heksan.

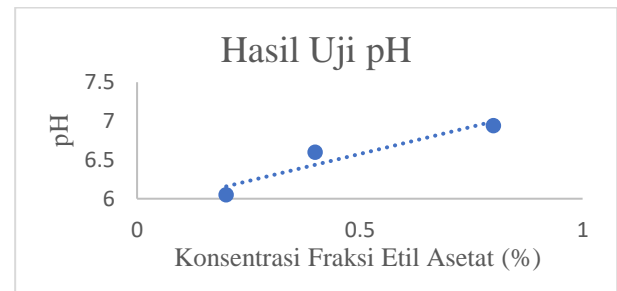
Fraksi kental yang didapatkan kemudian dilihat aktivitas antioksidannya pada Spektrofotometri UV-Vis. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan fraksi air dan fraksi n-heksan. Nilai  $IC_{50}$  fraksi etil asetat yaitu 9,12 mcg/mL. Fraksi etil asetat daun bidara arab kemudian dipilih menjadi zat aktif sediaan *hidrogel*.

Berdasarkan rerata hasil yang didapatkan Dari ketiga formula tersebut disimpulkan bahwa ketiga formula memenuhi syarat rentang dari pH sediaan kulit yaitu 4,5 – 8 sehingga sediaan *hidrogel* aman untuk digunakan pada kulit. Pada uji viskositas dari ketiga formula memenuhi standar rentang viskositas sediaan gel yaitu 2000 – 50.000 cPS. Pada uji daya lekat hasil rerata padadaya lekat F1 sebesar 1,13 detik; F2 sebesar 1,20 detik; F3 sebesar 1,34 detik. Daya lekat yang baik memiliki hasil lebih dari 1 detik. Halini menunjukkan gel akan melekat lebih lama dan zat aktifnya bisa bekerja optimal. Pada uji daya sebar hasil rerata pada daya sebar F1 sebesar 5,60 cm; F2 sebesar 5,44 cm dan F3 sebesar 5,16 cm. Daya sebar gel yang baik yaitu pada rentang 5-7 cm. Dapat disimpulkan bahwa ketiga formula memenuhi rentang daya sebar gel yang baik. Hasil uji statistika pada karakteristik fisik didapatkan hasil yang berbeda signifikan dengan nilai  $<0,05$ .

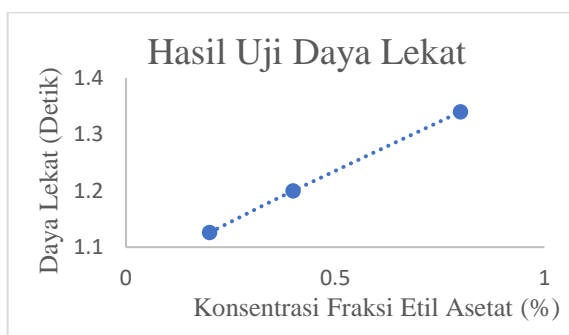
Hasil uji karakteristik fisik sediaan *hidrogel* dengan konsentrasi fraksi etil asetat daun bidara arab didapatkan hubungan antara uji karakteristik fisik sediaan menunjukkan adanya korelasi yang kuat dengan konsentrasi fraksi etil asetat. Hasil uji dapat digambarkan dengan grafik 1, grafik 2, grafik 3 dan grafik 4 sebagai berikut :



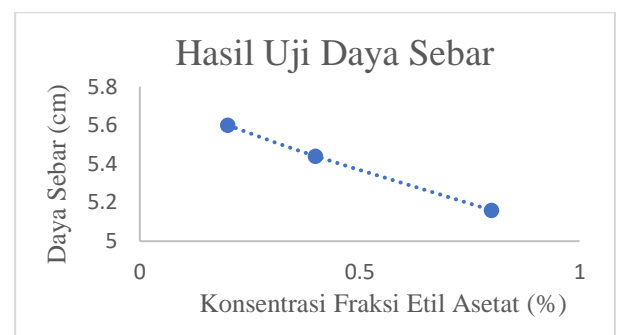
Gambar 1. Hasil Korelasi Antara Uji Viskositas dengan Konsentrasi Fraksi Etil Asetat



Gambar 2. Hasil Korelasi Antara Uji pH dengan Konsentrasi Fraksi Etil Asetat



Gambar 3. Hasil Korelasi Antara Uji Daya Lekat dengan Konsentrasi Fraksi Etil Asetat

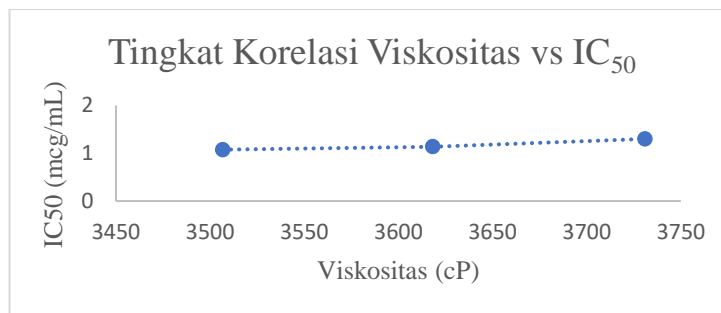


Gambar 4. Hasil Korelasi Antara Uji Daya Sebar dengan Konsentrasi Fraksi Etil Asetat

Hasil hubungan antara uji karakteristik fisik sediaan menunjukkan adanya korelasi dengan konsentrasi fraksi etil asetat daun bidara arab. Hasil uji dapat digambarkan dengan grafik gambar berikut. Berdasarkan grafik hubungan antara uji pH dan konsentrasi fraksi etil asetat didapatkan nilai  $r = 0,9474$ . Pada hubungan antara uji viskositas dan konsentrasi fraksi etil asetat didapatkan nilai  $r = 0,9825$ . Pada hubungan antara uji daya lekat dan konsentrasi fraksi etil asetat didapatkan nilai  $r = 0,9999$ . Hasil tersebut menunjukkan adanya nilai korelasi yang sangat kuat, hal ini ditandai dengan adanya peningkatan hasil uji dengan penambahan konsentrasi fraksi etil asetat sedangkan pada uji daya sebar didapatkan hasil  $r = -0,9944$  dapat diartikan bahwa hasil korelasi antara daya sebar dengan konsentrasi fraksi etil asetat berkorelasi terbalik.

Penentuan aktivitas antioksidan *hidrogel* ekstrak etanol daun Bidara Arab menggunakan metode DPPH. Metode ini dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat, hanya memerlukan sedikit sampel, cukup teliti.

Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang telah diperoleh dari masing-masing formula sediaan *hidrogel* maka FI sebesar 1,05 ; FII 1,12 dan FIII 1,28 digolongkan ke dalam antioksidan sangat kuat. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam sediaan gel maka semakin kuat pula efektivitas antioksidan *hidrogel*. Hal ini dikarenakan fraksi etil asetat merupakan zat aktif yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, dimana fraksi etil asetat mengandung senyawa-senyawa aktif yang tertarik dari proses fraksinasi. Sediaan *hidrogel* dengan efektivitas antioksidan paling kuat adalah FIII dengan konsentrasi fraksi etil asetat 0,8%. Pada uji statistika anatar FI, FII dan FIII menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara ketiga formula dengan nilai signifikansi <0,05. Hasil ini berhubungan dengan nilai korelasi antara viskositas dengan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5. Hasil Korelasi Antara Uji Viskositas dengan IC<sub>50</sub>**

Berdasarkan hasil uji tersebut, nilai viskositas mengurangi kemampuan senyawa fraksi untuk berinteraksi dengan reagen DPPH ditandai dengan adanya peningkatan nilai IC<sub>50</sub>. Hasil uji korelasi antara viskositas dengan aktivitas antioksidan didapatkan nilai  $r = 0,9668$  yang dapat diartikan bahwa viskositas dan aktivitas antioksidan berkorelasi sangat kuat.

## SIMPULAN

Hasil uji karakteristik fisik sediaan *hidrogel* dengan penambahan fraksi etil asetat daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) pada formula III dengan konsentrasi 0,8% dipilih sebagai formula terbaik karena memiliki karakteristik fisik meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar dan uji daya lekat yang memenuhi persyaratan dengan baik. Selanjutnya pada hasil uji

aktivitas antioksidan zat aktif sediaan *hidrogel* formula III didapatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1,28 µg/mL yang tergolong antioksidan sangat kuat.

#### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji iritasi pada pengujian secara *in vivo* dengan hewan uji pada sediaan hidrogel fraksi etil asetat daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) dan perlu pengujian lebih lanjut kepada kulit manusia untuk mengetahui keamanan sediaan *hidrogel* fraksi etil asetat ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.).

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Akhtar, N., Ijaz, S., Khan, H.M.S., Uzair, B., Khan, B.A., dan Khan, B.A. 2016. *Ziziphus spina-christi* L. Leaf Extract Emulsion For Skin Rejuvenation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15: 929–936.
- Ambaro, F.Y., Darusman, F., Mentari, &, dan Dewi, L. 2020. Prosedur Ekstraksi Maserasi Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) Menggunakan Pelarut etanol dan Air. *Prosiding Farmasi*, 6: 890–893.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Nasution, P.A., Batubara, R., dan Surjanto. 2015. Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat Terhadap Teh Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Pohon Induksi dan Non-Induksi. *Peronema - Forest Science Journal.*, 4: 10–18.
- Nuskefin Reinard, I., Jaya Edy, H., dan Pasca Siampa, J. 2022. Formulation And Antioxidant Effectivity Test Gel Extract Of Mulberry Leaf (*Morus Alba* L.) Dpph Method Formulasi Dan Uji Efektivitas Antioksidan Gel Ekstrak Daun Murbei (*Morus Alba* L.) Menggunakan Metode Dpph. *Pharmacon*, 11: 1671–

1678.

Shinta Cania Maiza, Trie Yuni Elfasyari, dan Ghalib Syukrillah Syahputra. 2022. Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Tanin Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-christi* Lam). *Journal Pharma Saintika*, 5: 30–39.

Suryani, N., Musdja, M.Y., Rizkia, S., Farmasi, P.S., Ilmu, F., Universitas, K., dkk. 2019. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Hidrogel Minyak Atsiri Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* L.) Dengan Basis Karbopol NaCMC dan HPMC. *Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains & Farmasi Klinis ke-8 dan Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia ke-56*, .

Zaky, M., Rusdiana, N., dan Darmawati, A. 2021. Formulasi dan Evaluasi Fisik Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Farmagazine*, 8: 26.

