

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KOMPONEN FITOKIMIA FRAKSI N-HEKSANA
KULIT KAYU PULAI *Alstonia scholaris* R.Br SEBAGAI SUMBER HASIL HUTAN
BUKAN KAYU ALTERNATIF**
*(Antioxidant Activity and Phytochemical Compound of N-Hexane fraction of Alstonia
scholaris R.Br Barks as Source of Alternative Non Timber Forest Product)*

Zuraida

Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan
Jln Gunung Batu No. 5 Bogor, Jawa Barat, Indonesia Telp. (0251) 8633234; Fax (0251) 8638111
Email: zuraidaus21@gmail.com

Tanggal diterima: 7 Februari 2018; Tanggal direvisi: 30 April 2018; Tanggal disetujui: 4 Juni 2018

ABSTRACT

Pulai (Alstonia scholaris R. Br) is one of Indonesia's tropical forest tree species which one of its usefulness is as medicine for various diseases because of its antioxidant activity. Limited studies are available on pulai bark in non-polar fraction. This study aimed to evaluate antioxidant activity and phytochemical compound of n-hexane fraction of pulai bark. N-hexane fractionation was done after pulai bark extracted by maceration method with 70% ethanol. Antioxidant analysis of n-hexane fraction was done using 1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazil (DPPH) method in fifty inhibition concentration (IC₅₀), while phytochemical compounds were tested by phytochemical test. The results showed that n-hexane fraction has 0.84% (w/w) yield with inhibition concentration (IC₅₀) 65.28 µg/mL. Chemical compounds positively detected are flavonoids, saponins, alkaloids, steroids, and terpenoids. It was suggested that flavonoid, alkaloids, and steroids played important role as an antioxidant.

Key words: antioxidant, Alstonia scholaris, phytochemical constituents

ABSTRAK

Pulai (*Alstonia scholaris* R, Br) adalah salah satu tumbuhan hutan tropis Indonesia yang berfungsi sebagai obat untuk bermacam penyakit, seperti antioksidan. Penelitian berkaitan dengan fraksinasi ekstrak kulit kayu pulai menggunakan pelarut non polar masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan evaluasi aktivitas antioksidan dan kandungan fitokimia kulit kayu pulai dari fraksi n-heksana. Fraksinasi n-heksana dilakukan setelah kulit kayu pulai diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70%. Analisis antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil (DPPH), dan analisis kandungan fitokimia dilakukan secara kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksana menghasilkan rendemen 0,84% (w/w), dengan aktivitas antioksidan (*inhibition concentration*, IC₅₀) sebesar 65,28 µg/mL. Kandungan kelompok senyawa kimia yang terdeteksi positif adalah flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari fraksi n-heksana kulit kayu pulai diduga berasal dari kelompok senyawa flavonoid, alkaloid, dan steroid.

Kata kunci: antioksidan, *Alstonia scholaris*, fitokimia

I. PENDAHULUAN

Hutan tropis Indonesia merupakan sumberdaya alam yang memiliki nilai ekonomi, budaya, dan ekologis. Nilai jual yang diberikan oleh produk hutan ini

mampu meningkatkan sektor perekonomian, dimana pemanfaatannya harus dilakukan secara arif dan bijaksana agar selalu tercipta lingkungan ekosistem yang harmonis. Hasil hutan dapat berupa kayu, dan

non kayu atau hasil hutan bukan kayu (*non timber forest product*). Salah satu jenis hasil hutan bukan kayu (HHBK) adalah pemanfaatan tumbuhan hutan yang berkhasiat obat, seperti mahoni (*Swietenia Mahagoni* L. Jacq), kilemo (*Litsea cubeba*), pasak bumi (*Eurycoma longifolia*), rotan jernang (*Daemonorop draco*), dan pulai (*Alstonia scholaris* R.Br) (Noorhidayah, 2006). Pemanfaatan tumbuhan obat hutan sangat berpotensi untuk mengurangi impor obat, namun demikian masih ditemukan ada gap antara potensi dan status risetnya. Untuk itu masih perlu dilakukan penelitian yang intensif tentang potensi tumbuhan obat dari hutan Indonesia. Salah satu jenis tumbuhan obat yang dijadikan objek penelitian pada penelitian ini adalah pulai. Pulai termasuk tumbuhan yang cepat tumbuh (*fast growing species*) dan tahan pada berbagai kondisi ekstrim, tersebar luas di Indonesia, dan dapat digunakan sebagai bahan baku kerajinan, dan bermanfaat sebagai obat (antioksidan). Bagian tumbuhan pulai yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah daun dan kulit batang (Antony et al., 2011). Penyakit degeneratif yang menyebabkan kematian, seperti kanker, aterosklerosis, diabetes, dan penyakit jantung dipicu oleh keadaan yang disebut dengan stress oksidatif. Valko et al. (2007) dan Sen et al. (2010) menyatakan bahwa stress oksidatif terjadi pada saat adanya ketidak seimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan. Radikal bebas dapat bersumber dari metabolisme selular, paparan radiasi, ozon, asap rokok, hiperoksia, dan paparan logam berat (Al-Dalaen & Al-Qtaitat, 2014). Radikal bebas yang berlebih akan berdampak negatif pada makromolekul seperti DNA, lipid, dan protein (Birben et al., 2012; Al-Dalaen & Al-Qtaitat, 2014) . Penyakit-penyakit yang disebabkan oleh stress oksidatif dapat diatasi dengan antioksidan.

Antioksidan merupakan molekul yang dapat menghambat atau mencegah terjadi-

nya reaksi oksidasi dari molekul lain yang menghasilkan radikal bebas (Cerullo, Gambassi, & Cesari, 2012; Partap & Pandey, 2012). Antioksidan dapat disintesis di dalam tubuh (endogen) maupun diperoleh dari asupan makanan (eksogen). Keduanya dapat dikelompokkan menjadi antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik yang memiliki peran utama yaitu superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPX), dan katalase (CAT) (Gomes, Silva, & Oliveira, 2012). Adapun antioksidan non-enzimatik yaitu glutathion, vitamin C, vitamin E, karotenoid, asam urat, (Pacome et al., 2014), tiol, dan polifenol (Gomes et al., 2012; Partap & Pandey, 2012).

Saat ini banyak dikembangkan antioksidan eksogen yang bersifat alami untuk memenuhi kebutuhan antioksidan di dalam tubuh. Hal ini karena efek samping yang lebih rendah dibandingkan antioksidan sintetik. Salah satu antioksidan alami yaitu senyawa polifenol yang terdapat di dalam tanaman (Pacome et al., 2014). Tanaman yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah pulai, banyak digunakan secara tradisional untuk mengobati malaria, penyakit kuning, demam, luka, sakit perut, asma, dan sakit kepala (Meena et al., 2011).

Penelitian terdahulu telah banyak menganalisis aktivitas antioksidan dari tanaman pulai, antara lain: Antony et al. (2011) melaporkan nilai *inhibition concentration* (IC₅₀) dari ekstrak air daun dan kulit kayu pulai berturut-turut 2.830 dan 1.210 µg/mL, Gunn et al. (2004) dan Ramachandra et al. (2012) menyatakan bahwa inhibisi 50% DPPH dari ekstrak metanol kulit kayu pulai berada pada konsentrasi 600 µg/mL. Khanum (2014) melaporkan nilai IC₅₀ dari ekstrak kloroform daun dan kulit kayu pulai berturut-turut 62 dan 47,7 µg/mL. Purnama (2015) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun pulai memiliki nilai IC₅₀ sebesar 55.49 µg/mL, dan Dhruvi et al. (2016) menyata-

kan kulit kayu pulai banyak digunakan sebagai formula komponen herbal.

Berdasarkan informasi tersebut di atas terlihat bahwa penelitian masih fokus pada ekstraksi kasar menggunakan pelarut polar seperti air, etanol, dan methanol akan tetapi penelitian menggunakan pelarut non polar seperti n-heksana masih belum diketahui. Aktivitas antioksidan suatu tumbuhan obat sangat tergantung pada komponen fitokimia yang dikandungnya. Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk melakukan evaluasi aktivitas antioksidan dari kulit kayu pulai yang difraksinasi dengan n-heksana, dan menentukan kandungan fitokimia yang terkandung didalamnya.

II. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Pusat Studi Biofarmaka Tropika, LPPM-IPB, Bogor. Waktu penelitian berlangsung pada Januari-April 2017.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia kulit kayu pulai yang telah dihaluskan berukuran 100 mesh, berasal dari tanaman berumur 13 tahun yang ditanam di Hutan Penelitian Dramaga Bogor. Pemilihan bahan ekstraksi ini didasarkan atas hasil penelitian sebelumnya yang mendeteksi bahwa kandungan flavonoid dari kulit kayu pulai yang berasal dari Bogor lebih tinggi dari Palembang, Ngebel, dan Banjar Baru (data tidak ditampilkan). Bahan lain yang digunakan yaitu HCl pekat, NH₃, H₂SO₄ 2 M, H₂SO₄ pekat, pereaksi Dragendorf, Mayer, Wagner, FeCl₃ 1%, amil alkohol, bubuk Magnesium, dietil eter, asam asetat anhidrat, etanol, DPPH, Vitamin C, daun tapak dara, daun kumis kucing, teh, daun katuk, temulawak, dan daun sirih merah.

Alat utama yang digunakan yaitu neraca analitik *Scale AND GR-200 series* dan *EPOCH Microplate Spectrophotometer*. Alat-alat pendukung yang digunakan yaitu alat-alat gelas, *micropipet* Thermo Scientific 10 µL, 100 µL, dan 1000 µL, *microplate* Falcon, dan sonikator BRANSON B1510.

C. Prosedur Penelitian

1. Penyiapan Fraksi n-heksana

Simplisia kulit kayu pulai diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam hingga diperoleh filtratnya. Filtrat dievaporasi pada suhu 50°C sampai volumenya mencapai 1/10 volume awal. Selanjutnya filtrat difraksinasi dengan n-heksana sehingga diperoleh fraksi n-heksana. Fraksi n-heksana dipekatkan dengan evaporator pada 50°C (Andersen & Markham, 2006). Rendemen dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot fraksi (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

2. Analisis Antioksidan dengan Metode DPPH

Analisis antioksidan dengan metode DPPH mengikuti metode yang dilakukan oleh Aranda et al. (2011) sebagai berikut:

Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH dilarutkan dengan etanol p.a., sehingga konsentrasinya menjadi 125 µM.

Analisis Antioksidan Kontrol Positif (Vitamin C)

Vitamin C ditimbang sebanyak 5 mg dalam labu takar 5 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a., sehingga konsentrasinya menjadi 1.000 µg/mL (larutan induk). Pengenceran bertingkat dilakukan dari 1.000 µg/mL menjadi 20, 10, 5, 2.5, 1.25

dan 0.62 µg/mL. DPPH sebanyak 100 µL ditambahkan ke *microplate* dan diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit. Setelah itu, absorbansi vitamin C diukur dengan EPOCH *microplate spectrophotometer* pada panjang gelombang 517 nm.

Analisis Antioksidan Fraksi (n-heksana)

Fraksi n-heksana kulit kayu pulai ditimbang sebanyak 5 mg dalam labu takar 5 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a. sehingga konsentrasinya menjadi 1.000 µg/mL (larutan induk). Pengenceran dilakukan hingga konsentrasi fraksi menjadi 400, 200, 100, 50, 25, dan 12,5 µg/mL. Prosedur selanjutnya sama dengan prosedur pada analisis antioksidan vitamin C. Nilai DPPH yang dinyatakan sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dihitung berdasarkan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} = Absorbansi DPPH

A_{sampel} = Absorbansi DPPH + sampel

Nilai IC_{50} menyatakan konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50% dengan dihitung menggunakan persamaan regresi linier $y=ax+b$ yang memiliki koefisien determinasi di atas 90%.

3. Analisis Senyawa Fitokimia

Analisis senyawa fitokimia untuk mendapatkan metabolit sekunder menggunakan metode Harborne (1998). Senyawa fitokimia yang dianalisis adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan triterpenoid.

Alkaloid

Kandungan alkaloid pada fraksi n-heksana dilakukan dengan penambahan pereaksi Dragendorff, Wagner, dan Mayer.

Hasil positif dapat diamati dengan terbentuknya endapan merah setelah ditambahkan pereaksi Dragendorff, endapan coklat setelah ditambahkan pereaksi Wagner, dan endapan putih setelah ditambahkan pereaksi Mayer. Ekstrak daun tapak dara digunakan sebagai kontrol positif (Pricylia, 2012).

Flavonoid, Saponin, dan Tanin

Fraksi n-heksana sebanyak 0,3 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 10 mL akuades ditambahkan ke dalam tabung reaksi, campuran yang diperoleh dipanaskan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi tiga. Filtrat pertama untuk uji flavonoid ditambahkan dengan bubuk Mg, 5 tetes HCl pekat, 5 tetes etanol, dan 7 tetes amil alkohol. Campuran tersebut kemudian divortex. Terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah menunjukkan hasil positif untuk uji ini. Filtrat kedua untuk uji saponin dikocok kuat-kuat dan diamati terbentuknya buih yang stabil. Filtrat ketiga untuk uji tanin ditambahkan 1 tetes $FeCl_3$ 1% dan diamati terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman. Kontrol positif yang digunakan untuk flavonoid yaitu daun sirih merah (Purnama, 2017), daun kumis kucing untuk saponin (Ningsih, Ratnasari, & Faizah, 2014) dan teh untuk tanin (Savolainen, 1992).

Steroid dan Triterpenoid

Fraksi n-heksana sebanyak 0.05 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 5 mL etanol ditambahkan, lalu dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipanaskan hingga menguap. Sebanyak 3 pipet tetes dietil eter ditambahkan dan dipindahkan ke cawan pinggang. Asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat (1:1) ditambahkan, lalu diamati warna hijau (steroid) dan merah atau ungu (triterpenoid). Daun katuk

(steroid) dan temulawak (triterpenoid) digunakan sebagai kontrol positif (Putranto et al., 2014).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Rendemen Fraksi n-heksana

Ekstraksi dari 900 gram simplisia kulit kayu pulai dengan etanol 70%, dan dilanjutkan fraksinasi dengan n-heksana menghasilkan 7,58 gram fraksi n-heksana dengan rendemen sebesar 0,84%. Hasil ini lebih rendah dari pada rendemen ekstrak n-heksana kulit kayu pulai basung (*Alstonia spatulata*) sebesar 2,76% (Fadhli, 2013). Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi dan spesies tanaman. Spesies tanaman yang berbeda memiliki komponen bioaktif yang berbeda (Croteau et al., 2000). Ekstrak pada penelitian Fadhli (2013) adalah hasil maserasi ekstrak kasar menggunakan pelarut non polar n-heksana, sedangkan pada penelitian ini diekstrak terlebih dahulu dengan etanol yang bersifat polar menghasilkan ekstrak kasar etanol, lalu difraksinasi dengan pelarut non polar n-heksana. Perbedaan pelarut antara polar dan non polar juga mempengaruhi kandungan kimia ekstrak (Firdayani & Agustini, 2015). Tingginya rendemen pada penelitian Fadhli (2013) disebabkan hasil maserasi berupa ekstrak kasar, sehingga kandungan kimianya lebih beragam, sedangkan pada penelitian ini rendemennya hasil dari fraksinasi.

Saxena, Shrivastava, & Saxena (2013) juga melakukan fraksinasi dari ekstrak etanol 90% kulit kayu pulai. Rendemen yang dihasilkan dari fraksi petroleum eter, fraksi etil asetat, dan fraksi n-butanol berturut-turut 2,5%, 0,9%, dan 3,2%. Hasil tersebut lebih tinggi dari pada penelitian ini. Selain itu, pada penelitian (Thara & Zuhra, 2013) yang melakukan ekstraksi dengan maserasi bertingkat dari kulit kayu pulai

menghasilkan rendemen ekstrak metanol, ekstrak etanol, ekstrak air, ekstrak kloroform berturut-turut 20,5%, 6,4%, 0,7%, dan 0,23%. Rendemen dari ekstrak air dan ekstrak kloroform tersebut lebih rendah dari pada penelitian ini. Faktor yang mempengaruhi perbedaan rendemen tersebut yaitu tempat tumbuh tanaman dan faktor lingkungan, metode ekstraksi, jenis pelarut, dan kepolaran pelarut yang digunakan (Tiwari et al., 2011; Nurcholis et al., 2012). Pelarut metanol dan etanol terlihat memiliki rendemen yang lebih tinggi dibanding pelarut lainnya karena methanol dan etanol mempunyai kemampuan untuk menarik senyawa yang bersifat polar.

B. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-heksana

Pengujian aktivitas antioksidan bertujuan menentukan aktivitas penghambatan fraksi n-heksana terhadap radikal 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil (DPPH). Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen penghambatan dan *inhibition concentration* (IC₅₀). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas antioksidannya semakin kuat, dan sebaliknya. Pada Tabel 1 terlihat bahwa nilai IC₅₀ dari vitamin C sebagai kontrol positif (4,14 µg/mL) dan fraksi n-heksana (65,28 µg/mL). Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan 16 kali lebih kuat dibandingkan fraksi n-heksana. Menurut (Fidrianny, Puspitasari, & Singgih, 2014), vitamin C termasuk antioksidan sangat kuat (IC₅₀ <50 µg/mL), sedangkan fraksi n-heksana termasuk antioksidan kuat (50 < IC₅₀ <100 µg/mL). Hasil ini mengindikasikan bahwa kulit kayu pulai yang telah diekstrak dan difraksinasi menggunakan n-heksana berpotensi untuk dikembangkan sebagai pencegahan maupun pengobatan penyakit-penyakit degeneratif.

Nilai IC₅₀ dari fraksi n-heksana kulit kayu pulai pada penelitian ini lebih baik,

dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Antony et al. (2011) dan Ramachandran et al. (2012) yang menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak air (1.210 µg/mL), ekstrak metanol (600 µg/mL), dan ekstrak etil asetat (50.000 µg/mL), ekstrak n-butanol (5.000-10.000 µg/mL) dari kulit kayu pulai. Namun penelitian Khanum (2014), menemukan nilai IC₅₀ ekstrak kloroform kulit kayu pulai lebih baik dengan nilai 47,7 µg/mL. Perbedaan-perbedaan nilai IC₅₀ ini diakibatkan oleh perbedaan jenis pelarut dan teknik ekstraksi sehingga komposisi komponen fitokimia yang dihasilkan menjadi berbeda (Elfalleh et al., 2012).

C. Komponen Fitokimia Fraksi n-heksana

Analisis fitokimia fraksi n-heksana bertujuan mengidentifikasi metabolit sekunder dalam fraksi ini. Tabel 2 menunjukkan hasil analisis fitokimia, dimana fraksi n-heksana positif mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, dan terpenoid.

Selanjutnya, kandungan alkaloid yang terdeteksi pada fraksi n-heksana dapat terdeteksi juga pada fraksi air, metanol, etil asetat, n-butanol penelitian (Antony et al., 2011; Saxena et al., 2013; Thara & Zuhra, 2013). Kandungan steroid yang positif pada fraksi n-heksana berkesesuaian dengan hasil penelitian Antony et al. (2011) namun berlawanan dengan hasil penelitian Saxena

















et al. (2013), dan Thara & Zuhra (2013). Menurut Tiwari et al. (2011), jenis kandungan fitokimia yang diperoleh akan dipengaruhi oleh faktor eksternal (asal tanaman, lingkungan dan tempat tumbuh tanaman), dan faktor internal (kadar air, ukuran partikel, teknik ekstraksi dan jenis pelarut).

Flavonoid, tannin, alkaloid, dan steroid adalah kelompok senyawa yang memiliki berbagai aktivitas yang berkaitan dengan sifat keaktifan dari setiap gugus fungsi yang dimilikinya, seperti untuk antioksidan, anti-mikroba, anti-inflamasi, antikanker, dan antidiare (Tiwari et al., 2011; Saxena et al., 2013). Pada penelitian ini menunjukkan fraksi n-heksana mempunyai hasil negatif dalam kandungan tanin tetapi positif mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder golongan phenol yang memiliki gugusan hidroksil yang memiliki efek antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas atau mencegah pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat ion metal (Kumar & Pandey, 2013). Demikian juga halnya dengan alkaloid yang merupakan metabolit sekunder, mengandung nitrogen, disintesis dari asam amino yang mengandung gugus fungsional hidroksil (Civjan, 2012). Steroid juga memiliki aktivitas antioksidan yang mempunyai gugus hidroksil seperti estrogen dan asam lemak omega 3 (Mooradian, 1993).

Tabel (Table) 1. Nilai persentase inhibisi dan IC₅₀ vitamin C dan Fraksi n-heksana (*Percentage Inhibition and IC₅₀ value of vitamin C and n-hexane fraction*)

Vitamin C (Vitamin C)		Fraksi n-heksana (n-Hexane fraction)			
[µg/mL]	Rata-rata % inhibisi (Average of % inhibition)	IC ₅₀ (µg/mL) ± SD	[µg/mL]	Rata-rata % inhibisi (Average of % inhibition)	IC ₅₀ (µg/mL) ± SD
20	97,06	4,14 ± 0,45	400	94,79	65,28 ± 1,30
10	89,10		200	85,79	
5	46,47		100	61,08	
2,5	22,74		50	37,29	
1,25	11,45		25	21,83	
0,63	6,26		12,5	11,71	

Tabel (Table) 2. Komponen fitokimia fraksi n-heksana kulit kayu pulau (*Phytochemical compounds of n-hexane fraction of Alstonia scholaris bark*)

Uji (Test)	Fraksi n-heksana (n-Hexane fraction)	Keterangan (Remarks)	Pembandingan (Comparison)
Flavonoid (Flavonoids)	 ++	Terbentuk warna kuning pada lapisan atas (Yellow color on the top layer formed)	 +++ (Daun sirih merah) (Piper ornatum leaves)
Saponin (Saponin)	 ++	Terbentuk busa yang stabil (Stable foam formed)	 +++ (Daun kumis kucing) (Orthosiphon aristatus leaves)
Tanin (Tannin)	 -	Tidak terbentuk warna biru atau hijau kehitaman (No blue or green blackish color formed)	 +++ (Teh) Camellia sinensis
Alkaloid (Alkaloids)			
-Dragendorf (Dragendorf)	 ++	Terbentuk endapan merah (Red sedimentation formed)	 +++ (Daun tapak dara) (Catharanthus roseus leaves)
-Wagner (Wagner)	 +++	Terbentuk endapan coklat (Brown sedimentation formed)	 +++ (Daun tapak dara) (Catharanthus roseus leaves)
-Mayer (Mayer)	 -	Tidak terbentuk endapan putih (No white sedimentation formed)	 +++ (Daun tapak dara) (Catharanthus roseus leaves)
Steroid (Steroids)	 +	Terbentuk warna hijau seulas (Flash green color formed)	 +++ (Daun katuk) (Sauropus androgynus leaves)
Terpenoid (Terpenoids)	 +	Terbentuk warna merah keunguan seulas (Purplish red color formed)	 +++ (Temulawak) (Curcuma zanthorrhiza)

Keterangan (Remarks): a(+++): Tinggi (High); (++): Rendah (Low); (+): Sangat rendah (Very Low); (-): Tidak ada (Not identified)

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kulit kayu pulau yang diekstraksi dengan menggunakan etanol 70% dan difraksinasi

dengan n-heksana memiliki nilai IC₅₀ sebesar 65,28 µg/mL, dan termasuk aktivitas antioksidan yang kuat (50 < IC₅₀ < 100 µg / mL). Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi meliputi

kelompok senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Kelompok senyawa favonoid, alkaloid, dan steroid pada kulit kayu pulai diprediksi berperan sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya rekasi oksidatif akibat radikal bebas.

B. Saran

Kulit kayu pulai sebagaimana hasil penelitian ini menunjukkan potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan. Namun penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mendapatkan hasil yang lebih komprehensif meliputi penambahan metode uji antioksidan lain baik secara *in-vivo* dan *in-vitro*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Saepul Rahmat, S.Si. dan Siti Khodijah, S.Si., dan laboran atas bantuannya di laboratorium. Terima kasih juga kepada Pusat Studi Biofarmaka, LPPM IPB yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dalaen, S. M., & Al-Qtaitat, A. (2014). Review Article: Oxidative Stress Versus Antioxidants. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2(5), 60–71. <https://doi.org/10.11648/j.bio.20140205.11>
- Andersen, O., & Markham, K. (2006). *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications. Angewandte Chemie International Edition*. <https://doi.org/10.1002/ange.200600493>
- Antony, M., Menon, D., James, J., Dev, L., Arun, K., & Thankamani, V. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Alstonia scholaris*. *Pharmacognosy Journal*, 3(26), 13–18. <https://doi.org/10.5530/pj.2011.26.3>
- Aranda, R., Lopez, L., Arroyo, J., Garza, B., & Torres, N. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 1–7. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep127>
- Birben, E., Murat, U., Md, S., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *WAO Journal*, 5, 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Cerullo, F., Gambassi, G., & Cesari, M. (2012). Rationale for antioxidant supplementation in sarcopenia. *Journal of Aging Research*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/316943>
- Civjan, N. (2012). *Natural Products in Chemical Biology*. (N. Civjan, Ed.). A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- Croteau, R., Kutchan, M. T., & Lewis, N. G. (2000). Natural Products (Secondary Metabolites). In *Natural Products (Secondary Metabolites)* (pp. 1250–1318). American Society of Plant Physiologists, Rock Ville.
- Dhruti, M., Bhavika, P., & Meonis, P. (2016). Studies on phytochemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia scholaris*. *International Journal of Life Science*, 4(4), 529–538.
- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., & Ferchichi, A. (2012). Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(20), 4724–4730. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.995>
- Fadhli, H. (2013). *Studi Metabolit Sekunder dari Kulit Batang Pulai Basung (Alstonia spatulata Bl)*. Universitas Riau.

- Fidrianny, I., Puspitasari, N., & Singgih, M. (2014). Antioxidant activities, total flavonoid, phenolic, carotenoid of various shells extracts from four species of legumes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(4), 42–46.
- Firdayani, F., & Agustini, T. (2015). Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami spirulina platensis segar dengan pelarut yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(1), 28–37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>
- Gomes, E., Silva, A., & Oliveira, M. (2012). Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/756132>
- Gunn, B. V., Stevens, P., Singadan, M., Sunari, L., & Chatterton, P. (2004). Resource Management in Asia - Pacific Working Paper No . 51 Eaglewood in Papua New Guinea. *Resource Management in Asia-Pacific Program Research School of Pacific and Asian Studies The Australian National Universit*, 1–18.
- Harborne, J. (1998). *Phytochemical Methods: A guide to Modern Techniques of Plants Analysis* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Khanum, S. (2014). Pharmacological Investigation of the Chloroform Extracts of Alstonia Scholaris (L.) R.Br. *Journal of Pharmaceutical & Scientific Innovation*, 3(1), 14–19. <https://doi.org/10.7897/2277-4572.03198>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids. *Hindawi The Scientific World Journal*, 2013(12), 533–548. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.08.006>
- Meena, A., Nitika, G., Jaspreet, N., Meena, R., & Rao, M. (2011). Review on ethnobotany , phytochemical and pharmacological profile of Alstonia scholaris. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(1), 49–54.
- Mooradian, A. D. (1993). Antioxidant properties of steroids. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 45(6), 509–511.
- Ningsih, N. F., Ratnasari, E., & Faizah, U. (2014). Pengaruh ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap mortalitas hama wereng coklat (*Nilaparvata lugens*). *Lentera Bio*, 5(1), 14–19.
- Noorhidayah, N. (2006). Potensi dan keanekaragaman tumbuhan obat di hutan kalimantan dan upaya konservasinya. *Jurnal Analisis Kebijakan Kehutanan*, 3(2), 95–107. <https://doi.org/10.20886/jakk.2006.3.2.95-107>
- Nurcholis, W., Purwakusumah, E., Rahardjo, M., & Darusman, L. (2012). Variasi bahan bioaktif dan bioaktivitas tiga nomor harapan temulawak pada lokasi budidaya berbeda. *J. Agron. Indonesia*, 40(2), 153–159.
- Pacome, O., Bernard, D., Sekou, D., Joseph, D., David, N., Mongomake, K., & Hilaire, K. (2014). Phytochemical and antioxidant activity of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) petal extracts. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(2), 1453–1465.
- Partap, S., & Pandey, S. (2012). A review on herbal antioxidants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(4), 26–37.
- Pricyilia, T. (2012). *Ekstraksi Alkaloid Dalam Daun* : Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur.
- Purnama, N. (2017). Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Tumbuhan Daun Sirih (*Piper batle* L.). In *Prosiding Seminar*

- Nasional MIPA III* (pp. 437–441). Langsa-Aceh: www.conference.unsyiah.ac.id/SN-MIPA.
- Purnama, R. (2015). *Aktivitas antioksidan, kandungan total fenol, dan flavonoid lima tanaman hutan yang berpotensi sebagai obat alami*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Putranto, H. D., Ginting, S. M., Nurmeliastari, & Yumiati, Y. (2014). Skrining senyawa metabolit steroid sebagai hormon reproduksi ternak pada tanaman katuk dan jantung pisang. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 16(1), 20–26.
- Ramachandra, Y., Ashajyothi, C., & Rai, S. (2012). Antioxidant activity of *Alstonia scholaris* extracts containing flavonoid and phenolic compounds. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 424–426.
- Ramachandran, A., Snehalatha, C., Shetty, A. S., & Nanditha, A. (2012). Trends in prevalence of diabetes in Asian countries. *World J Diabetes*, 3(6), 110–117. <https://doi.org/doi:10.4239/wjd.v3.i6.110>.
- Savolainen, H. (1992). Tannin content of tea and coffee. *Journal of Applied Toxicology*, 12(3), 191–192. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jat.2550120307>
- Saxena, N., Shrivastava, P., & Saxena, R. (2013). Antibacterial efficacy of *Alstonia Scholaris* (L.) R. Br. stem bark extracts. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(1), 964–970.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91–100. <https://doi.org/10.1002/ptr.1897>
- Thara, K. M., & Zuhra, F. (2013). Biochemical, HPLC, LC-MS analysis and biological activities of methanol extract of *Alstonia Scholaris*. *International Journal of Phytotherapy*, 3(2), 61–74.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction - A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>