

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG *Calophyllum pulcherrimum*, *C. soulattri* DAN *C. teysmannii*

Antioxidant Activity of Stem Bark Ethanolic Extracts of Calophyllum pulcherrimum, C. soulattri and C. teysmannii

Eris Septiana¹⁾ dan Partomuan Simanjuntak^{1,2)}

¹⁾ Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI
Jalan Raya Bogor KM 46 Cibinong, Bogor 16911

²⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila
Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640

INFO ARTIKEL

Article history:

Diterima: 15 Maret 2018

Direvisi: 03 Mei 2018

Disetujui: 30 Juli 2018

Kata kunci:

Calophyllum Citrus hystrix;
antioksidan; fenol total;
flavonoid total

Key words:

Calophyllum; Citrus hystrix;
antioxidant; total phenol;
total flavonoid

ABSTRAK/ABSTRACT

Kualitas udara yang menurun akibat polusi dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas sehingga bermanfaat bagi kesehatan. Salah satu tanaman yang merupakan sumber antioksidan alami yaitu bintangur (*Calophyllum* spp.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan terbaik dari ekstrak etanol kulit batang tiga spesies bintangur baik ekstrak tunggal maupun kombinasi. Penelitian dilaksanakan sejak September sampai Desember 2017 di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong, Jawa Barat. Percobaan terdiri atas tujuh perlakuan diulang tiga kali. Perlakuan terdiri atas ekstrak etanol kulit batang a) *Calophyllum pulcherrimum* (CP), b) *C. soulattri* (CS), c) *C. teysmannii* (CT), d) kombinasi *C. pulcherrimum* dan *C. soulattri* (CP+CS), e) kombinasi *C. pulcherrimum* dan *C. teysmannii* (CP+CT), f) kombinasi *C. soulattri* dan *C. teysmannii* (CS+CT), dan g) kombinasi *C. pulcherrimum*, *C. soulattri* dan *C. teysmannii* (CP+CS+CT) dengan perbandingan masing-masing ekstrak 1 : 1 untuk perlakuan yang menggunakan dua kombinasi serta 1 : 1 : 1 untuk perlakuan yang menggunakan tiga kombinasi. Uji antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Uji kadar fenol dan flavonoid total masing-masing berdasarkan pada reaksi reagen Follin-Ciocalteu dan aluminium klorida. Hasil pengujian menunjukkan kombinasi ekstrak etanol kulit batang bintangur memiliki aktivitas antioksidan, kadar fenol dan flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Perlakuan CP+CS+CT memiliki nilai IC₅₀ terendah sebesar 3,12 mg.l⁻¹ sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

The decreased air quality due to severe pollution causes the formation of free radicals in the body. Antioxidants counteract free radicals compounds and are beneficial to health. Calophyllum plants is one of the natural antioxidants source. The study was aimed to determine the best antioxidant activity of ethanolic extracts of stem bark both single and combinations of three species of Calophyllum. The study was conducted from September to December 2017 at the Natural Product Chemistry Laboratory, Research Center for Biotechnology LIPI, Cibinong, West Java. The experiment consisted of seven treatments, repeated three times. The treatments consisted of ethanolic stem bark extracts of a) C. pulcherrimum b) C. soulattri (CS), c) C. teysmannii (CT), d) combination of C. pulcherrimum and C. soulattri (CP+CS), e) combination of C. pulcherrimum and C. teysmannii (CP+CT), f) combination of C. soulattri and C. teysmannii (CS+CT), and g) combination of C. pulcherrimum, C. soulattri and C. teysmannii (CP+CS+CT) with the ratio of mixed extract was 1 : 1 for treatments with two combinations and 1 : 1 : 1 for three combinations. The antioxidant activity was evaluated using DPPH free radical scavenging methods. The total phenolic and flavonoids content assays were

* Alamat Korespondensi : septiana.eris@gmail.com

conducted base on the reaction of follin-ciocalteu and aluminum chloride reagents respectively. The results showed that combination of *Calophyllum* stem bark ethanolic extracts revealed higher antioxidant activity, total phenol and flavonoid content compared to its sole extract. CP+CS+CT treatment has the lowest IC_{50} value at 3.12 mg.l^{-1} so that it has the potential as a source of natural antioxidants.

PENDAHULUAN

Kualitas udara yang semakin menurun berpotensi dalam meningkatkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas memberikan dampak terhadap patogenesis dari beberapa penyakit pada manusia akibat terjadinya stress oksidatif pada sel (Sitorus *et al.* 2017). Mekanisme pertahanan alami tubuh akan menangkal radikal bebas yang terbentuk dengan menghasilkan senyawa yang dapat menangkalnya, salah satunya yaitu antioksidan. Oleh karena itu, kemampuan antioksidan maupun peroksidasi lipid yang secara alami terdapat di dalam tubuh sangat penting untuk melindungi tubuh dari paparan berbagai penyakit akibat meningkatnya radikal bebas (Khani *et al.* 2017).

Saat ini sudah banyak antioksidan sintesis yang tersedia di pasaran. Penggunaan antioksidan sintesis yang tidak tepat dilaporkan menyebabkan timbulnya efek samping sehingga dibutuhkan sumber antioksidan baru yang alami (Rico *et al.* 2013). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah *Calophyllum* atau pohon bintangur. Tanaman ini merupakan pohon kayu berukuran besar yang banyak manfaatnya (Taher *et al.* 2007). Penggunaan bintangur sebagai obat tradisional telah dilakukan oleh masyarakat di Kalimantan Barat yang memanfaatkan getahnya untuk mengobati luka (Sangat *et al.* 2000).

Penelitian tentang manfaat kulit batang dan daun tanaman *Calophyllum* sebagai antioksidan dalam bentuk ekstrak tunggal telah banyak dilakukan, diantaranya pada *Calophyllum enervosum*, *C. rubiginosum*, *C. brasiliense*, *C. sclerophyllum*, dan *C. inophyllum* (Taher *et al.* 2007; Taher *et al.* 2010; Blanco-Ayala *et al.* 2013; Katrin *et al.* 2014; Dutta dan Ray 2014). Aktivitas antioksidan ekstrak tanaman dipengaruhi oleh kandungan senyawa fenol (Faujan *et al.* 2015) terutama senyawa flavonoid (Gruyal dan Rosario 2013). Semakin tinggi kadar fenol dan flavonoid

yang terkandung di dalam suatu tanaman, semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Ekstrak *Solanum macrocarpon* memiliki kadar fenol dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dengan nilai IC_{50} $6,21 \text{ mg.ml}^{-1}$ dibanding dengan ekstrak *Brassica oleracea* yang mempunyai nilai IC_{50} sebesar $49,62 \text{ mg.ml}^{-1}$ (Olajire dan Azeez 2011).

Perlakuan kombinasi tanaman obat dilaporkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya. Ekstrak metanol temulawak dan temu giring memiliki aktivitas antioksidan dengan meredam radikal bebas DPPH pada konsentrasi 100 mg.l^{-1} masing-masing sebesar 84,61 dan 45,74 %. Perlakuan kombinasi ekstrak metanol temulawak dan temugiring dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 dapat meningkatkan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH masing-masing menjadi 91,48; 94,10; dan 95,76 % pada konsentrasi 100 mg.l^{-1} (Rachman *et al.* 2008). Penelitian mengenai aktivitas antioksidan kombinasi beberapa spesies tanaman bintangur belum dilakukan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $5,73 \text{ mg.l}^{-1}$ (Gunawan 2013) dan ekstrak etanol daun *C. soulattri* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $39,63 \text{ mg.l}^{-1}$ (Fatmawati 2013). Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan terbaik dari ekstrak etanol kulit batang bintangur baik ekstrak tunggal maupun kombinasi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan sejak September sampai Desember 2017 di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong, Jawa Barat. Sampel tanaman bintangur berupa bagian kulit batang diperoleh dari Kecamatan Tebing, Kabupaten Karimun, Provinsi Kepulauan Riau pada Mei 2017 (Gambar 1).



Gambar 1. Sampel kulit batang *Calophyllum* spp., *C. pulcherrimum* (kiri), *C. soulattri* (tengah) dan *C. teysmannii* (kanan).

Figure 1. Stem bark samples of *Calophyllum* spp., *C. pulcherrimum* (left), *C. soulattri* (center), and *C. teysmannii* (right).

Untuk memastikan jenis bintangur yang digunakan, simplisia tanaman bintangur berupa ranting dan daun terlebih dahulu dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Cibinong, Jawa Barat. Simplisia kulit batang bintangur kering disimpan sebagai koleksi di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong, Jawa Barat.

Metodologi penelitian

Perlakuan terdiri atas ekstrak etanol (a) kulit batang *C. pulcherrimum* (CP), (b) kulit batang *C. soulattri* (CS), (c) kulit batang *C. teysmannii* (CT), (d) kombinasi kulit batang *C. pulcherrimum* dan *C. soulattri* (CP+CS), (e) kombinasi kulit batang *C. pulcherrimum* dan *C. teysmannii* (CP+CT), (f) kombinasi kulit batang

C. soulattri dan *C. teysmannii* (CS+CT), dan (g) kombinasi kulit batang *C. pulcherrimum*, *C. soulattri*, dan *C. teysmannii* (CP+CS+CT) dengan masing-masing perbandingan antar ekstrak adalah 1:1 (Kurniawan 2011). Parameter yang diukur adalah aktivitas antioksidan berupa nilai IC_{50} , kadar fenol dan flavonoid total dari ketujuh perlakuan, masing-masing diulang tiga kali.

Tahapan pelaksanaan

Uji aktivitas antioksidan

Sampel dipotong kecil dengan ukuran sekitar 1 cm x 2 cm kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering kurang lebih selama 3 hari. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan merendam 300 g masing-masing simplisia

kulit batang bintangur dalam 1 l etanol teknis 96 % dalam toples kaca selama 24 jam. Perendaman dilakukan sebanyak tiga kali. Filtrat dari masing-masing bagian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental etanol kulit batang bintangur.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada tujuh perlakuan dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan senyawa DPPH (Tiwari *et al.*, 2006) dengan modifikasi pada panjang gelombang dari 515 nm menjadi 517 nm. Konsentrasi larutan uji untuk ekstrak etanol 96 % kulit batang bintangur baik tunggal maupun kombinasi sebesar 2, 4, 6, 8, dan 10 mg.l⁻¹. Asam askorbat (vitamin C) (Merck) sebagai baku pembandingan dengan konsentrasi sebesar 1, 3, 5, 7, dan 9 mg.l⁻¹, serta larutan blanko (larutan DPPH (Sigma) 0,4 mM tanpa penambahan ekstrak uji). Seluruh sampel larutan uji, blanko dan asam askorbat (vitamin C) diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Serapan seluruh sampel kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Pengamatan semua sampel yang diujikan diulang sebanyak tiga kali. Aktivitas antioksidan didapatkan dengan menggunakan persamaan persen penghambatan (1) mengikuti metode Tiwari *et al.* (2006) dan nilai IC₅₀ yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50 %. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan cara membuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan % aktivitas antioksidan (sumbu y) dan dihitung berdasarkan persamaan regresi $y = ax + b$, dengan nilai $y = 50$.

$$\text{Penghambatan (\%)} = (A - B) / A \times 100 \% \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan : A = serapan DPPH 0,4 mM tanpa bahan uji.

B = serapan DPPH 0,4 mM dengan bahan uji

Note : A = 0.4 mM DPPH absorption without test material.

B = 0.4 mM DPPH uptake with test material.

Uji kadar fenol total

Konsentrasi larutan uji ekstrak etanol kulit batang bintangur dalam etanol sebesar 1000 mg.l⁻¹. Larutan standar asam galat dalam akuades sebagai kurva baku standar dibuat seri konsentrasi sebesar

20, 40, 60, 80, 100, dan 120 mg.l⁻¹. Sebanyak 1 ml ekstrak (sampel uji) dan asam galat (standar) dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah dan masing-masing ditambahkan 0,1 ml pereaksi *Follin-Ciocalteu* dan 0,9 ml akuades. Masing-masing campuran kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. Campuran kemudian ditambahkan 1 ml sodium karbonat 7 % dan 0,4 ml akuades dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan campuran diukur pada panjang gelombang 765 nm (Pekal dan Pyrzynska 2014). Pengamatan semua sampel diulang sebanyak tiga kali. Kadar fenol total diekspresikan sebagai miligram setara asam galat tiap gram ekstrak kering.

Uji kadar flavonoid total

Konsentrasi larutan uji ekstrak etanol kulit batang bintangur sebesar 1000 mg.l⁻¹ dibuat dengan cara memasukkan 1 mg ekstrak kering etanol kulit batang bintangur ke dalam 1 ml etanol. Larutan standar kuersetin dalam etanol sebagai kurva baku standar dibuat seri konsentrasi sebesar 5; 10; 15; 20; dan 25 mg.l⁻¹. Sebanyak 500 µl ekstrak (sampel uji), kuersetin (standar), dan etanol (blanko) dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah dan masing-masing ditambahkan 1,5 ml etanol. Selanjutnya, ditambahkan 0,1 ml larutan AlCl₃ (0,1 mg.l⁻¹), 0,1 ml sodium asetat (1 M) dan 2,8 ml akuades ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut. Masing-masing campuran diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 415 nm (Kaur dan Singh 2015). Pengamatan semua sampel diulang tiga kali. Kadar flavonoid total diekspresikan sebagai miligram setara kuersetin tiap gram ekstrak kering.

Analisis data

Untuk melihat perbedaan nilai IC₅₀ antioksidan, kadar fenol, dan flavonoid total antar perlakuan, digunakan uji ANOVA satu arah dengan nilai signifikansi $p < 0,01$. Apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara perlakuan yang diujikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) *Tukey* dengan tingkat kepercayaan 99 %.

BASIL DAN PEMBAHASAN

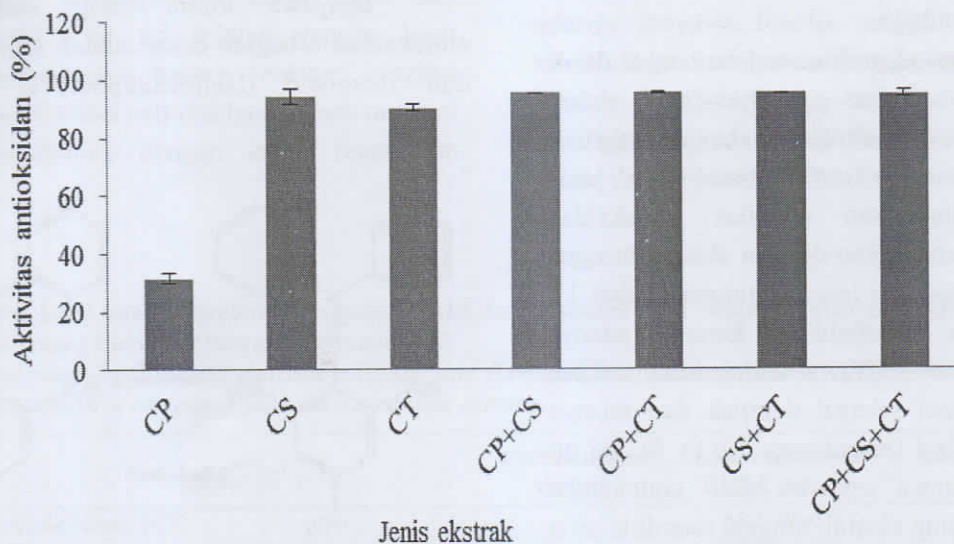
Determinasi tanaman bintangur

Determinasi tanaman yang dilakukan menunjukkan bahwa tiga tanaman yang diperoleh dari eksplorasi di Kecamatan Tebing, Kabupaten Karimun, Provinsi Kepulauan Riau adalah (1) *Calophyllum pulcherrimum* Wall. ex Choisy, daun berwarna hijau lebih tua di bagian atas, tulang daun menyirip rapat sejajar, ukuran daun kecil dengan panjang sekitar 2 - 5 cm, berbentuk elips, dengan ujung meruncing, rendemen ekstrak etanol kulit batang 16,9 %. (2) *C. soulattri* Burm. ex F. Mull, daun berwarna hijau lebih tua di bagian atas, tulang daun menyirip rapat sejajar, ukuran daun sedang, panjang sekitar 5-10 cm, berbentuk lanset dengan ujung daun membulat, rendemen ekstrak etanol kulit batang 6,4 % dan (3) *C. teysmannii* Miq. daun berwarna hijau lebih tua di bagian atas, tulang daun menyirip rapat sejajar, ukuran daun sedang sekitar 4-8 cm, berbentuk oval/bulat telur terbalik dengan ujung daun sedikit runcing, rendemen ekstrak etanol kulit batang 7,9 %. Berdasarkan hasil determinasi disimpulkan bahwa ketiga jenis *Calophyllum* yang dieksplorasi berasal dari suku Clusiaceae.

Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang bintangur pada konsentrasi uji 100 mg.ml⁻¹ menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum* memiliki aktivitas paling rendah dibandingkan perlakuan lainnya (Gambar 2). Ekstrak etanol kulit batang bintangur yang digunakan pada penelitian ini semuanya memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ yang rendah. Namun demikian, seluruh ekstrak etanol kulit batang bintangur baik tunggal maupun kombinasi masih lebih rendah aktivitasnya dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C (Tabel 1).

Kekuatan aktivitas antioksidan dapat dikelompokkan ke dalam kategori sangat aktif jika memiliki IC₅₀<10 mg.l⁻¹, aktif jika memiliki IC₅₀<100 mg.l⁻¹, dan tidak aktif jika memiliki IC₅₀>100 mg.l⁻¹ (Minami *et al.* 1994). Oleh karena itu, ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum* memiliki aktivitas antioksidan yang aktif dengan nilai IC₅₀ sebesar 16,74 mg.l⁻¹, sedangkan ekstrak etanol kulit batang *C. soulattri*, *C. teysmannii* dan kombinasinya memiliki aktivitas antioksidan sangat aktif dengan kisaran nilai IC₅₀ 3,12 - 6,83 mg.l⁻¹ (Tabel 1). Pada penelitian ini, ekstrak etanol



Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang bintangur pada konsentrasi uji 100 mg.l⁻¹. Vertikal bar menunjukkan nilai standard error (se).

Figure 2. Antioxidant activity of single and combination of bintangur stem bark ethanolic extracts at 100 mg.l⁻¹. Vertical bars indicated standard error values (se).

abel 1. Kategori aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol kulit batang bintangur tunggal dan kombinasi.

able 1. *Antioxidant activity category based on IC₅₀ values from single and combination of bintangur stem bark ethanolic extracts.*

Perlakuan	Perbandingan ekstrak	IC ₅₀ ±SD (mg.L ⁻¹)	Aktivitas
<i>Calophyllum pulcherrimum</i> (CP)		16,74±0,06 ^g	Aktif
<i>C. soulattri</i> (CS)		6,82±0,01 ^f	Sangat aktif
<i>C. teysmannii</i> (CT)		6,83±0,01 ^f	Sangat aktif
<i>C. pulcherrimum</i> + <i>C. soulattri</i> (CP + CS)	1:1	5,57±0,01 ^d	Sangat aktif
<i>C. pulcherrimum</i> + <i>C. teysmannii</i> (CP + CT)	1:1	5,77±0,01 ^e	Sangat aktif
<i>C. soulattri</i> + <i>C. teysmannii</i> (CS + CT)	1:1	3,61±0,01 ^c	Sangat aktif
<i>C. pulcherrimum</i> + <i>C. soulattri</i> + <i>C. teysmannii</i> (CP + CS + CT)	1:1:1	3,12±0,01 ^b	Sangat aktif
Vitamin C (pembanding)		2,23±0,02 ^a	Sangat aktif

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf uji BNJ 1%.

Note : *ed by the same letter within the same column were not significantly different at 1% HSD.*

kulit batang *C. pulcherrimum* memiliki nilai IC₅₀ yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kulit batang *C. pulcherrimum* yang dilaporkan sebelumnya (Gunawan 2013) yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 5,73 mg.l⁻¹. Perbedaan nilai IC₅₀ tersebut dapat disebabkan oleh lokasi tumbuh pohon bintangur yang berbeda. Selain itu perbedaan bagian jaringan tumbuhan juga berpengaruh terhadap aktivitas antioksidannya. Pada penelitian ini ekstrak etanol kulit batang *C. soulattri* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 6,82 mg.l⁻¹, lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol daun *C. soulattri* dengan nilai IC₅₀ sebesar 39,63 mg.l⁻¹ (Fatmawati 2013).

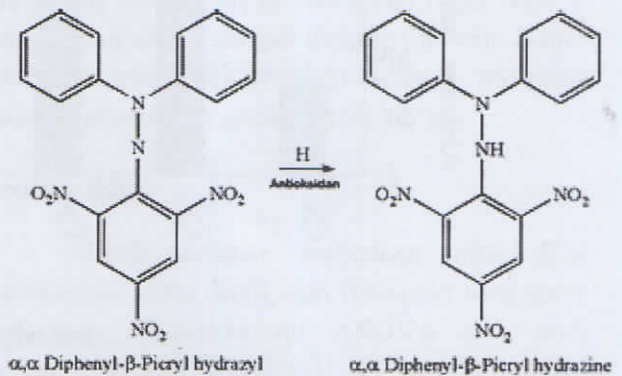
Kombinasi ekstrak etanol bintangur dapat meningkatkan aktivitas antioksidan secara signifikan jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Kombinasi ekstrak etanol tiga jenis bintangur meningkatkan aktivitas antioksidan secara nyata dibandingkan dengan ekstrak tunggal maupun kombinasi dua jenis bintangur (Tabel 1). Hal ini dapat disebabkan karena adanya peningkatan kadar senyawa antioksidan terlarut pada setiap sampel sebagai dampak dari adanya perlakuan formulasi (Kurniawan 2011). Selain itu dapat diduga bahwa senyawa aktif antioksidan pada masing-masing ekstrak tunggal memiliki sifat sinergis sehingga akan meningkatkan aktivitas antioksidannya (Rachman *et al.* 2008).

Kemampuan ekstrak tanaman bintangur sebagai antioksidan dikarenakan adanya interaksi senyawa aktif dalam ekstrak. Senyawa aktif tersebut akan mendonasikan atom hidrogen kepada

DPPH yang menyebabkan senyawa DPPH α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl berwarna ungu yang bersifat radikal akan dirombak menjadi senyawa α, α -diphenyl- β -picrylhydrazine berwarna kuning lebih bersifat stabil (Gambar 3) (Fitriana *et al.* 2016; Babu *et al.* 2013). Atom hidrogen yang didonorkan oleh masing-masing senyawa aktif dari ekstrak akan berikatan dengan atom nitrogen pada cincin hidrazin senyawa radikal bebas DPPH (Ionita 2003).

Kadar fenol dan flavonoid total

Senyawa kimia yang aktif sebagai antioksidan sebagian besar adalah golongan fenol dan flavonoid (Hajimehdipoor *et al.* 2014;



Gambar 3. Reaksi perubahan senyawa radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil setelah penambahan senyawa antioksidan.

Figure 3. *The reaction of free radical compounds changes into a more stable compound after the addition of antioxidant compounds.*

Pranowo *et al.* 2016). Namun senyawa lain seperti terpen, minyak atsiri, dan alkaloid juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Zengin dan Baysal 2014; Gan *et al.* 2017). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar fenol total tertinggi didapatkan dari kombinasi ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum* dengan *C. teysmannii* (CP + CT) dan kadar fenol total terendah didapatkan dari ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum* (CP) (Tabel 2). Secara umum kadar fenol total ekstrak etanol bintangur kombinasi berbeda nyata dengan ekstrak tunggalnya. Oleh karena itu, kombinasi ekstrak bintangur dapat meningkatkan kandungan fenol totalnya.

Kadar flavonoid tertinggi didapatkan dari kombinasi ekstrak etanol kulit batang *C. soulattri* dengan *C. teysmannii* dan kadar flavonoid total terendah didapatkan dari ekstrak etanol kulit batang *C. teysmannii* (Tabel 2). Sejalan dengan kandungan fenol total, kandungan flavonoid total ekstrak etanol bintangur kombinasi juga berbeda nyata dengan ekstrak tunggalnya. Kombinasi ekstrak etanol kulit batang bintangur juga dapat meningkatkan kandungan flavonoid total.

Pada penelitian ini, meningkatnya aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kombinasi dibandingkan dengan ekstrak etanol tunggalnya seiring dengan meningkatnya kadar fenol dan flavonoid total. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa terdapat korelasi positif antara aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *C. inophyllum* dengan kadar fenol dan

flavonoid totalnya. Semakin tinggi kadar fenol dan flavonoid total, semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Dutta dan Ray 2014). Senyawa fenol dan flavonoid berperan sebagai agen pereduksi radikal bebas dengan cara mendonasikan hidrogen atau sebagai penjerap radikal bebas (Hajimehdipoor *et al.* 2014).

Kombinasi ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum*, *C. soulattri* dan *C. teysmannii* (CP + CS + CT) yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi tetapi kadar fenol dan flavonoid totalnya masih lebih rendah dibanding perlakuan lainnya (Tabel 2). Hal ini diduga karena ada senyawa lain selain fenol total dan flavonoid total yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi atau keberadaan senyawa golongan fenol lain yang jumlahnya sedikit tetapi memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Hal ini pernah dilaporkan pada tanaman *Fagonia* yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol tanaman *Fagonia mollis* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari ekstrak metanol *F. glutinosa* namun mempunyai kadar fenol total yang lebih rendah (Alali *et al.* 2007). Perbedaan jenis senyawa fenolik dalam sampel yang terekstrak juga mempengaruhi aktivitas antioksidan (Kasparaviciene *et al.* 2013). Tingginya aktivitas antioksidan perlakuan kombinasi ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum*, *C. soulattri* dan *C. teysmannii* diduga akibat adanya senyawa fenolik tunggal yang berperan lebih efisien sebagai antioksidan meskipun dalam jumlah kecil sehingga tidak berperan dalam peningkatan kadar total fenol secara kuantitatif (Kaur dan Sharma 2014).

Tabel 2. Kadar fenol total ekuivalen asam galat (GAE) dan flavonoid total ekuivalen quersetin (QE) ekstrak etanol kulit batang bintangur tunggal dan kombinasi.

Table 2. Total phenol gallic acid equivalent (GAE) and flavonoid quercetin equivalent (QE) contents of single and combination of bintangur stem bark ethanolic extracts.

Perlakuan	Perbandingan ekstrak	Kadar fenol total (GAE mg.g ⁻¹)	Kadar flavonoid total (QE mg.g ⁻¹)
<i>Calophyllum pulcherrimum</i> (CP)		56,16±0,03 ^a	9,31±0,27 ^b
<i>C. soulattri</i> (CS)		100,66±0,22 ^c	8,06±0,09 ^b
<i>C. teysmannii</i> (CT)		93,25±0,10 ^b	6,56±0,09 ^a
<i>C. pulcherrimum</i> + <i>C. soulattri</i> (CP + CS)	1:1	105,80±0,10 ^e	12,06±0,09 ^c
<i>C. pulcherrimum</i> + <i>C. teysmannii</i> (CP + CT)	1:1	107,27±0,19 ^f	14,75±0,35 ^d
<i>C. soulattri</i> + <i>C. teysmannii</i> (CS + CT)	1:1	104,96±0,32 ^e	16,31±0,44 ^e
<i>C. pulcherrimum</i> + <i>C. soulattri</i> + <i>C. teysmannii</i> (CP + CS + CT)	1:1:1	101,91±0,19 ^d	15,75±0,18 ^{de}

Keterangan/Note : Angka yang diikuti huruf yang sama tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf uji BNJ 1%/The numbers followed by the same letter within the same column were not significantly different at 1% HSD.

Aktivitas antioksidan dapat dihasilkan oleh senyawa lain selain fenol dan flavonoid yang juga terdapat di dalam tanaman. Pengujian ekstrak metanol pada tanaman *Buchenavia tetraphylla* menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik tetapi memiliki kadar flavonoid total yang lebih rendah dibanding *B. tomentosa* (Teixeira *et al.* 2017). Selain flavonoid, senyawa fenolik lain yang terdapat pada ekstrak tanaman *Buchenavia* juga berperan sebagai antioksidan sehingga kehadiran senyawa flavonoid dalam suatu tanaman tidak selalu berkorelasi positif dengan aktivitas antioksidannya (Teixeira *et al.* 2017).

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak etanol kulit batang bintangur memiliki aktivitas antioksidan, kadar fenol dan flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Kombinasi yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik adalah ekstrak etanol kulit batang bintangur *C. pulcherrimum* + *C. soulattri* + *C. teysmannii* dengan perbandingan 1:1:1, sedangkan ekstrak etanol kulit batang *C. pulcherrimum* mempunyai aktivitas antioksidan paling rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PKT Kebun Raya Bogor atas pendanaan kegiatan Ekspedisi Kebun Raya Batam 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Alali, F.Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsen, S.J., Wheaton, W.D., Falkinham, J.O. & Oberlies, N.H. (2007) Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Aqueous and Methanolic Extracts of Jordanian Plants: an ICBG Project. *Natural Product Research*. 21(12), 1121-1131. doi: 10.1080/14786410701590285.
- Babu, D., Gurumurthy, P., Borra, S.K. & Cherian, K.M. (2013) Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Triphala Determined by Using Different In Vitro Models. *Journal of Medicinal Plants Research*.7(39), 2898-2905. doi: 10.5897/JMPR2013.5124.
- Blanco-Ayala, T., Lugo-Huitron, R., Serrano-Lopez, E.M., Reyes-Chilpa, R., Rangel-Lopez, E., Pineda, B., Medina-Compos, O.N., Sanchez-Chapui, L., Pinzon, E., Cristina, T.S., Silva-Adaya, D., Pedraza-Chaverri, J., Rios, C., Cruz, V.P.D. & Torres-Ramos, M. (2013) Antioxidant Properties of Xanthones from *Calophyllum brasiliense*: Prevention of Oxidative Damage Induced by FeSO₄. *BMC Complementary & Alternative Medicine*. 13(1), 1-15. doi: 10.1186/1472-6882-13-262.
- Dutta, S. & Ray, S. (2014) Evaluation of Antioxidant Potentials of Leaf Aqueous and Methanolic Extracts of *Calophyllum inophyllum* in Relation to Total Phenol and Flavonoid Contents. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 5(3), 441-450.
- Fatmawati, T. (2013) Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Daun Slatri (*Calophyllum soulattri*). *Skripsi*. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Faujan, N.H., Rahim, Z.A., Rehan, M.M. & Ahmad, F.B.H. (2013) Comparative Analysis of Phenolic Content and Antioxidative Activities of Eight Malaysian Traditional Vegetables. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 19(3), 611-624.
- Fitriana, W.D., Ersam, T., Shimizu, K. & Fatmawati, S. (2016) Antioxidant activity of *Moringa oleifera* Extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*.16(3), 297-301. doi: 10.22146/ijc.21145
- Gan, J., Feng, Y., He, Z., Li, X. & Zhang, H. (2017) Correlations between Antioxidant Activity and Alkaloids and Phenols of Maca (*Lepidium meyenii*). *Journal of Food Quality*. 2017, 1-10. doi: 10.1155/2017/3185945.
- Gunawan, A.A. (2013) Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi dan Ekstrak Etanol Kulit Batang Bintangur Batu *Calophyllum pulcherrimum* Wall. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Gruyal, G.A. & Rosario, R.R. (2013) Phytochemical Profiles and Quantifications of Flavonoid Contents of Selected Herbs in Cantilan, Surigao del Sur Philippines. *SDSSU Multidisciplinary Research Journal*. 1(2), 126-133.
- Hajimehdipoor, H., Shahrestani, R. & Shekarchi, M. (2014) Investigation the Synergistic Antioxidant Effects of Some Flavonoid and Phenolic Compounds. *Research Journal of*

- Pharmacognosy*. 1(3), 35-40.
- Imita, P. (2005) Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?. *Chemical Papers*. 59(1), 11-16.
- Kasparaviciene, G., Ramanauskiene, K., Savickas, A., Velziene, S., Kalveniene, Z., Kazlauskiene, D., Ragazinskiene, O. & Ivanauskas, K. (2013) Evaluation of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different *Rosmarinus officinalis* L. Ethanolic Extracts. *BIOLOGIA*. 59(1), 39-44.
- Katin, Elya, B., Mahamufrudho, A. & Rissyelly. (2014) Radical Scavenging Activity of Extract, Fraction and Chemical Compound from *Calophyllum sclerophyllum* Vesq. Stembark by Using 1,1-Diphenyl-2-Pyridyl Hydrazil (DPPH). *International Journal of PharmTech Research*. 6(1), 396-402.
- Kaur, J. & Singh, S. (2015) Effect of Sprouting on In Vitro Antioxidant Potential of Some Varieties of Chickpea Seeds (*Cicer arietinum* Linn.). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 8(6), 265-268.
- Kaur, S. & Sharma, K. (2014) Comparative Analysis of Total Phenolic Content and Anti-Oxidative Activity of Vegetables. *International Journal of Innovative Research & Development*. 3(3), 192-199.
- Khani, M., Motamedi, P., Dehkhoda, M.R., Nikhukheslat, S.D. & Karimi, P. (2017) Effect of Thyme Extract Supplementation on Lipid Peroxidation, Antioxidant Capacity, PGC-1 α Content and Endurance Exercise Performance in Rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 14(1), 1-8. doi:10.1186/s12970-017-0167-x.
- Kurniawan, A. (2011) Aktivitas Antioksidan dan Potensi Hayati dari Kombinasi Ekstrak Empat Jenis Tanaman Obat Indonesia. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Minami, H., Kinoshita, M., Fukuyama, Y., Kodama, M., Yoshizawa, T., Sugiura, M., Nakagawa, K. & Tago, H. (1994) Antioxidant Xanthenes from *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry*. 36(2), 501-506. doi: 10.1016/S0031-9422(00)97103-6.
- Olajire, A.A. & Azeez, L. (2011) Total Antioxidant Activity, Phenolic, Flavonoid and Ascorbic Acid Contents of Nigerian Vegetables. *African Journal of Food Science and Technology*. 2(2), 22-29.
- Pekal, A. & Pyrzynska, K. (2014) Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*. 7(9), 1776-1782. doi: 10.1007/s12161-014-9814-x.
- Pranowo, D., Noor, E., Haditjaroko, L. & Maddu, A. (2016) Optimasi Ekstraksi Flavonoid Total Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. 27(1), 37-46. doi: [10.21082/bullitro.v27n1.2016.37-46](https://doi.org/10.21082/bullitro.v27n1.2016.37-46).
- Rachman, F., Logawa, E.D., Hegartika, H. & Simanjuntak, P. (2008) Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tunggal dan Kombinasinya dari Tanaman *Curcuma* spp. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 6(2), 69-74.
- Rico, M., Sanchez, I., Trujillo, C. & Perez, N. (2013) Screening of the antioxidant properties of crude extracts of six selected plant species from the Canary Island (Spain). *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 86(1), 217-220. doi:10.5073/JABFQ.2013.086.030.
- Taher, M., Attoumani, N., Susanti, D., Ichwan, S.J.A. & Ahmad, F. (2010) Antioxidant Activity of Leaves of *Calophyllum rubiginosum*. *American Journal of Applied Sciences*. 7(10), 1305-1309. doi:10.3844/ajassp.2010.1305.1309.
- Taher, M., Idris, M.S. & Arbain, D. (2007) Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Garcinia eugenifolia* and *Calophyllum enervosum*. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. 6(1), 93-98.
- Teixeira, T.S., Vale, R.C., Almeida, R.R., Ferreira, T.P. & Guimaraes, L.G.L. (2017) Antioxidant Potential and Its Correlation with the Contents of Phenolic Compounds and Flavonoids of Methanolic Extracts from Different Medicinal Plants. *Revista Virtual de Quimica*. 9(4), 1546-1559.
- Tiwari, V., Shanker, R., Srivastava, J. & Vanker, P.S. (2006) Change in Antioxidant Activity of Spices- Turmeric and Ginger on Heat Treatment. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 5(2), 1313-1317.
- Sangat, H.M., Zuhud, E.A.M. & Damayanti, E.K. (2000) *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika)*. Jakarta, Pustaka Populer Obor.
- Sitorus, M.S., Anggraini, D.R. & Hidayat. (2017) *Decreasing Free Radicals Level on High Risk*

Person After Vitamin C and E Supplement Treatment. In. Abdullah, A.G., Nandiyanto, A.B.D. & Danuwijaya, A.A. (eds.) *Proceedings of the Annual Applied Science and Engineering Conference.* 180(1), IOP Science pp.1-9. doi:10.1088/1757-899X/180/1/012093.

Zengin, H. & Baysal, A.H. (2014) Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. *Molecules.* 19(11), 17773-17798. doi: 10.3390/molecules191117773.