

## PERBANDINGAN AKTIVITAS EKSTRAK AIR DAN ETANOL RUMPUT KEBAR (*Biophytum petersianum* Klotzsch) SEBAGAI NITRIT OKSIDA INHIBITOR

Suryani\*, Riska Damayanti, Elin Yulinah Sukandar

Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinis, Fakultas Farmasi,  
Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

\*Email: suryani@lecture.unjani.ac.id

Received: 26/04/2026 Accepted: 27/04/2026 Published: 29/04/2026

### ABSTRAK

Stres nitrosatif yang dimediasi oleh *nitric oxide* (NO) berlebih berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit degeneratif dan inflamasi kronis. Rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) merupakan tanaman obat asal Papua yang memiliki potensi antioksidan, namun data komparatif efektivitas pelarut air dan etanol dalam menghambat aktivitas NO masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas ekstrak air dan ekstrak etanol rumput kebar sebagai nitrit oksida inhibitor serta menentukan profil fitokimianya. Herba rumput kebar diekstraksi menggunakan metode perebusan (air) dan maserasi (etanol 96%). Analisis fitokimia dilakukan melalui skrining kualitatif dan kromatografi lapis tipis (KLT), sedangkan aktivitas penghambatan NO diuji menggunakan metode *sodium nitroprusside* (SNP) dengan reagen Griess. Hasil menunjukkan ekstrak air memiliki rendemen 3,43% berbentuk serbuk coklat, sedangkan ekstrak etanol memiliki rendemen 15,91% berupa ekstrak kental hijau kehitaman. Keduanya teridentifikasi mengandung flavonoid, tanin, dan polifenol. Uji aktivitas menunjukkan ekstrak air memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $71,55 \pm 5,57 \mu\text{g/mL}$  dan ekstrak etanol sebesar  $165,90 \pm 10,65 \mu\text{g/mL}$ . Ekstrak air menunjukkan aktivitas penghambatan NO sekitar 2,32 kali lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol. Temuan ini menyimpulkan bahwa ekstrak air rumput kebar merupakan inhibitor NO yang lebih potensial, sehingga air dapat dipertimbangkan sebagai pelarut yang lebih efektif untuk aplikasi farmakologis terkait stres nitrosatif.

**Kata Kunci:** *Biophytum petersianum* Klotzsch, Nitrit Oksida, Antioksidan, Flavonoid, Stres Nitrosatif.

### ABSTRACT

Nitrosative stress mediated by excessive *nitric oxide* (NO) contributes to the pathogenesis of various degenerative diseases and chronic inflammation. Kebar grass (*Biophytum petersianum* Klotzsch) is a medicinal plant from Papua with documented antioxidant potential; however, comparative data on the efficacy of aqueous and ethanolic solvents in inhibiting NO activity remains limited. This study aimed to compare the activity of aqueous and ethanolic extracts of kebar grass as nitric oxide inhibitors and determine their phytochemical profiles. The whole plant was extracted using boiling (water) and maceration (96% ethanol) methods. Phytochemical analysis was performed via qualitative screening and thin-layer chromatography (TLC), while NO inhibitory activity was evaluated using the *sodium nitroprusside* (SNP) method with Griess

reagent. The results showed that the aqueous extract yielded 3.43% as a brown powder, while the ethanolic extract yielded 15.91% as a dark greenish-black viscous extract. Both extracts contained flavonoids, tannins, and polyphenols. The activity test revealed  $IC_{50}$  values of  $71.55 \pm 5.57 \mu\text{g/mL}$  for the aqueous extract and  $165.90 \pm 10.65 \mu\text{g/mL}$  for the ethanolic extract. The aqueous extract demonstrated approximately 2.32-fold stronger NO inhibitory activity compared to the ethanolic extract. These findings suggest that the aqueous extract of kebar grass is a more potent NO inhibitor, indicating that water may be a more effective solvent for pharmacological applications related to nitrosative stress.

**Keywords:** *Biophytum petersianum* Klotzsch, Nitric Oxide, Antioxidant, Flavonoids, Nitrosative stress.

## PENDAHULUAN

Antioksidan memegang peranan krusial dalam menjaga homeostasis tubuh melalui kemampuannya menetralkan radikal bebas yang terbentuk dari proses metabolisme normal maupun paparan eksternal seperti polusi dan radiasi (Sies & Jones, 2020). Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kapasitas antioksidan endogen memicu stres oksidatif dan stress nitrosative yang berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif, termasuk diabetes melitus, inflamasi kronis, aterosklerosis, dan gangguan neurodegeneratif (Pizzino *et al.*, 2017). Kondisi ini muncul ketika produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS), khususnya nitric oxide (NO) yang berlebih. Dalam keadaan inflamasi, overproduksi NO terutama melalui induksi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dapat berinteraksi dengan superoksida membentuk peroksinitrit yang sangat reaktif dan sitotoksik, sehingga mempercepat kerusakan lipid, protein, dan

DNA karena menginduksi uncoupling *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS), menghasilkan superoksida lebih lanjut yang memperburuk patogenesis kardiomiopati, neurodegenerasi, dan karsinogenesis (Förstermann *et al.*, 2017). Dalam farmakologi, inhibisi NO pathway menjadi target utama karena mengurangi inflamasi kronis dan apoptosis seluler (Hrelia & Angeloni, 2021). Oleh karena itu, penghambatan jalur NO dipandang sebagai salah satu strategi farmakologis penting dalam upaya pencegahan kerusakan sel akibat stres oksidatif dan inflamasi (Pizzino *et al.*, 2017; Radi, 2018).

Rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) merupakan salah satu tanaman obat khas Papua dikenal masyarakat Manokwari, Papua Barat dengan sebutan “banondit” yang berarti banyak anak. Tanaman ini termasuk dalam famili *Oxalidaceae* (belimbing) dan telah lama dimanfaatkan secara turun-temurun oleh masyarakat Papua, khususnya di wilayah pegunungan Arfak yaitu Kebar, yang telah

menarik perhatian karena kandungan metabolit sekundernya yang potensial sebagai antioksidan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro* melalui metode DPPH dan FRAP, serta mengandung total fenolik dan flavonoid yang cukup tinggi (Aminudin *et al.*, 2022; Rahmawati *et al.*, 2025). Studi lain juga melaporkan bahwa ekstrak etanol rumput kebar memberikan efek protektif terhadap kerusakan oksidatif pada model diabetes melitus dan paparan toksikan, yang ditandai dengan penurunan malondialdehida (MDA), peningkatan status antioksidan, serta perbaikan parameter histopatologi. Selain itu, penelitian pada model neurodegeneratif menunjukkan bahwa rumput kebar berpotensi memberikan efek neuroprotektif melalui penekanan stres oksidatif dan peroksidasi lipid (Luqman *et al.*, 2022; Widodo *et al.*, 2020). Temuan-temuan ini memperkuat dugaan bahwa rumput kebar memiliki bioaktivitas yang relevan secara farmakologis.

Saat ini sebagian besar penelitian lebih menitikberatkan pada aktivitas antioksidan umum seperti scavenging radikal DPPH, ABTS, FRAP, serta parameter hilir seperti MDA dan GSH, sementara pengujian yang secara spesifik menilai kemampuan rumput kebar sebagai nitrit oksida inhibitor masih

sangat terbatas. Selain itu studi yang tersedia cenderung menggunakan ekstrak etanol sebagai bahan uji utama, sehingga belum tersedia bukti komparatif yang memadai mengenai pengaruh ekstrak air dibandingkan etanol terhadap potensi inhibisi NO. Pencarian sumber antioksidan alami dari bahan alam terus berkembang karena senyawa fitokimia tertentu, terutama flavonoid dan fenolik, diketahui memiliki kemampuan menstabilkan radikal bebas sekaligus memodulasi jalur inflamasi (Al-Khayri *et al.*, 2022). Flavonoid dilaporkan dapat menekan ekspresi iNOS, menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B, dan menurunkan produksi NO pada berbagai model biologis, sehingga menjadikannya kandidat utama dalam pengembangan agen antiinflamasi dan antioksidan berbasis bahan alam (Choy *et al.*, 2019; Joo *et al.*, 2014). Dalam konteks ini, pemilihan pelarut ekstraksi menjadi faktor krusial karena polaritas pelarut menentukan kelarutan metabolit sekunder yang terekstraksi, termasuk flavonoid semi-polar yang banyak berkontribusi terhadap aktivitas biologis (Dai & Mumper, 2010). Karena itu, perbandingan antara ekstrak air dan etanol penting dilakukan untuk menentukan pelarut yang paling efektif dalam mengekstraksi senyawa aktif dengan aktivitas nitrit oksida inhibitor yang optimal (Ncama *et al.*, 2025).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas ekstrak air dan etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) sebagai nitrit oksida inhibitor, sekaligus memberikan dasar ilmiah bagi pemanfaatan rumput kebar sebagai sumber senyawa bioaktif dengan potensi antiinflamasi dan antioksidan. Hasil ini dapat menjadi landasan dalam pengembangan sediaan farmasi berbasis bahan alam yang lebih efektif dan relevan terhadap mekanisme patofisiologi stres nitrosative.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi perlindungan diri timbangan analitik (Shimadzu®), mikropipet 100 - 1000 µL ; 10-100 µL (Dragonlab®), ultrasonik (Digitl PRO®), *hot plate*, pipet tetes, penangas air, maserator, *rotary evaporator* (Heidolph®), *Orbital Shaker* (IKA®), Lemari asam (Ecohood 125SCR®), *waterbath* (Wisd®), oven (Memmert®), pH meter, *microplate*, *freeze dryer* dan *microplate reader* (Infinite 200®). Bahan yang digunakan meliputi herba Rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch), aquades (Amidis®), *water for injenction* (WFI), etanol 96% (Merck®), natrium nitroprusid (Merck®), buffer fosfat (pH 7,4)

(Himedia®), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma®S), *N-(1-naftil)etilendiamin dihidroklorida* (NEDD)(Sigma®), asam sulfanilat (Sigma®), vitamin C (Sigma®), rutin (Sigma®).

### Prosedur Penelitian

#### 1. Pembuatan Ekstrak Rumput Kebar

Sampel rumput kebar diperoleh dari kampung Inam distrik Kebar, Kabupaten Tambrau, Papua Barat, Indonesia, dan dilakukan determinasi di Universitas Padjadjaran (UNPAD) yang terletak di Jl. Ir. Soekarno km 21, kabupaten Sumedang, Jawa Barat 45363. Bahan uji kemudian dibuat menjadi simplisia. Proses penghilangan air dan dikeringkan dengan bantuan panas matahari. Ekstrak air dibuat dengan metode perebusan menggunakan 300 gram simplisia dan dengan pelarut air (1:10) direbus selama 30 menit dan dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Ekstrak etanol dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 300 g serbuk rumput kebar dimasukkan dalam wadah maserasi. Kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% (1:10) disimpan selama 24 jam. Ekstrak dikumpulkan dan diuapkan menggunakan alat penguap vakum putar (*Rotary evaporator*) hingga diperoleh ekstrak kental.

## 2. Penapisan Simplisia dan Ekstrak Rumput Kebar

Penapisan fitokimia meliputi identifikasi kualitatif metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, kuinon, alkaloid, monoterpene dan sekuiterpen, dan triterpenoid yang mengacu pada prosedur (Farnsworth, 1966).

## 3. Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Rumput Kebar

Identifikasi senyawa dalam ekstrak rumput kebar menggunakan pola kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap standard rutin. Sampel ditotolkan pada plat silika gel GF254. Kemudian elusi menggunakan campuran eluen toluene:etil asetat:asam formiat (5:4:1). Bercak yang muncul pada plat diamati secara visual, lalu diamati kembali di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Setelah itu, Plat KLT disemprot dengan pereaksi  $AlCl_3$  5% dan sitroborat untuk melihat perubahan warna bercak (Suryani *et al.*, 2020).

## 4. Uji Aktivitas Ekstrak terhadap Penghambat Nitrit Oksida (NO)

Prinsip pengujian adalah pengukuran kadar NO yang diperoleh dari hasil dekomposisi natrium nitroprusside (SNP) dengan oksigen menjadi ion Nitrit dalam buffer fosfat 20 mM dengan pH 7,4. Pengujian dilakukan dengan membuat reaksi

campuran yang 0,1 mL larutan mengandung 10 mM SNP (2g SNP/100 mL aquadest) dan 0,1 mL ekstrak rumput kebar (10-250 $\mu$ g/mL) atau vitamin C (1-20 $\mu$ g/mL) sebagai pembanding pada berbagai konsentrasi, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Kemudian, sebanyak 0,1 mL dari campuran tersebut diambil dan dihomogenkan dengan 0,1 mL reagen Griess (1g asam sulfanilat, 3 mL  $H_2PO_4$ , 100 mg NEDD, 0,5 mL aseton add WFI 50 mL). Absorbansi diukur dengan panjang gelombang 540 nm. Hasil diungkapkan sebagai persentase nitrit yang dihasilkan dari penguraian SNP (Suryani *et al.*, 2023).

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran adalah nilai absorbansi.

Nilai penghambatan radikal bebas dinyatakan dalam persen inhibisi dengan rumus

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban NO} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban NO}} \times 100\%$$

Kemampuan sampel dalam menghambat aktivitas radikal bebas dinyatakan melalui parameter  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi yang menghambat 50% pembentukan nitrit oksida. Untuk mencari nilai  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi antara konsentrasi sampel dengan nilai % inhibisi yang dinyatakan dengan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \times 100\%$$

$$y = bx + a$$

(\*)keterangan :

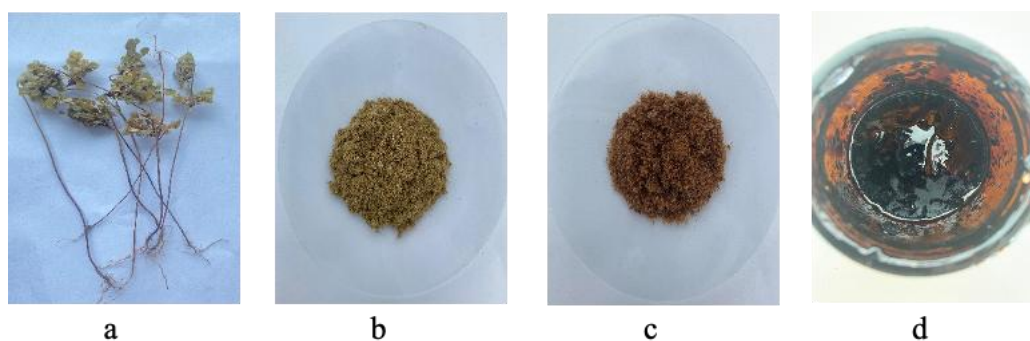
a = Intercept dari plot sumbu x dan y

b = Slope plot sumbu x dan y

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, digunakan sampel rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) yang diperoleh dari kampung Inam

distrik Kebar, Kabupaten Tambrau, Papua Barat, Indonesia. Bahan tanaman yang digunakan seluruh bagian rumput kebar (akar,batang dan daun) dengan ukuran panjang 10-12 cm. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa pada sampel rumput kebar merupakan sampel yang berasal dari tanaman (*Biophytum petersianum* Klotzsch).



**Gambar 1.** Simplisia dan ekstrak rumput kebar yaitu (a) simplisia rumput kebar, (b) serbuk simplisia, (c) ekstrak air, (e) ekstrak etanol

Karakteristik sifat fisik ekstrak (Gambar 1) menunjukkan ekstrak air memiliki pemerian berupa ekstrak kering berbentuk serbuk dengan warna coklat, sedangkan ekstrak etanol berupa ekstrak kental dengan warna hijau kehitaman. Hasil proses ekstraksi memperoleh rendemen 3,43% untuk ekstrak air dan 15,91% untuk ekstrak etanol.

**Tabel 1.** Perbandingan rendemen ekstrak rumput kebar pada berbagai jenis pelarut

<b>Metode Ekstraksi</b>	<b>Pelarut</b>	<b>Rendemen (%)</b>	<b>Pustaka</b>
Perebusan (0,5 jam)	Air (Suhu 80°C)	3,43	Penelitian ini
Maserasi (1 jam)	Air (Suhu 60°C)	3,28	(Lisangan <i>et al.</i> , 2014)
Perebusan modifikasi	Air	18,32	(Aminudin <i>et al.</i> , 2020)
Maserasi (24 jam)	Etanol 96%	15,91	Penelitian ini
Maserasi (72 jam)	Etanol 70%	19,82	(Aminudin <i>et al.</i> , 2020)
	Etanol 50%	12,00	(Aminudin <i>et al.</i> , 2020)

Berdasarkan Tabel 1 rendemen ekstrak menunjukkan variasi yang cukup besar. Rendemen ekstrak etanol lebih tinggi di bandingkan ekstrak air. Hasil penelitian selaras dengan hasil Lisangan *et al.* (2014) untuk ekstrak air dan Claudya *et al.*, 2016 dan Titrikou *et al.*, 2007 dalam hasil Aminudin *et al.* (2020) untuk ekstrak etanol. Perbedaan ini menunjukkan bahwa rendemen tidak hanya ditentukan oleh jenis pelarut, tetapi juga oleh kombinasi metode ekstraksi, suhu, lama kontak sampel-pelarut, rasio pelarut terhadap simplisia, serta kemungkinan adanya tahapan tambahan seperti sonikasi, re-ekstraksi, filtrasi, dan pemekatan. Rendemen ekstrak air lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol diduga dipengaruhi oleh waktu ekstraksi. Dimana kontak antara simplisia dan pelarut pada ekstrak air lebih singkat yaitu selama 30 menit sedangkan ekstrak etanol 3 hari. Selain itu berdasarkan ekstrak yang diperoleh ekstrak air yang didapat adalah ekstrak kering sedangkan ekstrak etanol adalah ekstrak kental sehingga berat jenis ekstrak etanol lebih besar. Hasil Claudya *et al.*, 2016

menunjukkan waktu ekstraksi yang lebih lama dan komposisi etanol 70% yang bersifat hidroetanolik memiliki kemampuan ekstraksi yang baik dalam untuk mengekstraksi campuran metabolit sekunder tanaman yang beragam polaritasnya (Zhang *et al.*, 2018).

Perbedaan rendemen secara signifikan antara perebusan biasa pada suhu 80°C selama 0,5 jam dengan rendemen 3,43% dan perebusan modifikasi dengan rendemen 18,32% menunjukkan bahwa perebusan saja belum cukup untuk menggambarkan efisiensi ekstraksi. Pada penelitian Aminudin *et al.*, ekstraksi air dilakukan dengan perebusan hingga volume menyusut menjadi sepertiga, kemudian dilanjutkan dengan sonikasi, sentrifugasi, filtrasi, re-ekstraksi residu, evaporasi, dan pengeringan dengan gas nitrogen (Aminudin *et al.*, 2020). Tahapan tambahan tersebut sangat mungkin meningkatkan pelepasan senyawa dari matriks simplisia melalui peningkatan disrupsi jaringan dan luas kontak senyawa yang masih tertinggal dalam ampas. Aminudin (2020) juga menyimpulkan bahwa

rendemen ekstrak air yang tinggi menunjukkan bahwa komponen bioaktif rumput Kebar relatif mudah diekstraksi oleh pelarut polar, sedangkan pelarut semipolar hingga nonpolar cenderung menghasilkan rendemen lebih rendah. Oleh karena itu,

untuk penelitian lanjutan, rendemen perlu dikorelasikan dengan profil fitokimia dan aktivitas biologis agar metode ekstraksi yang dipilih dapat menghasilkan rendemen tinggi dan aktivitas farmakologi yang baik (Lezoul et al., 2020).

**Tabel 2.** Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak rumput kebar

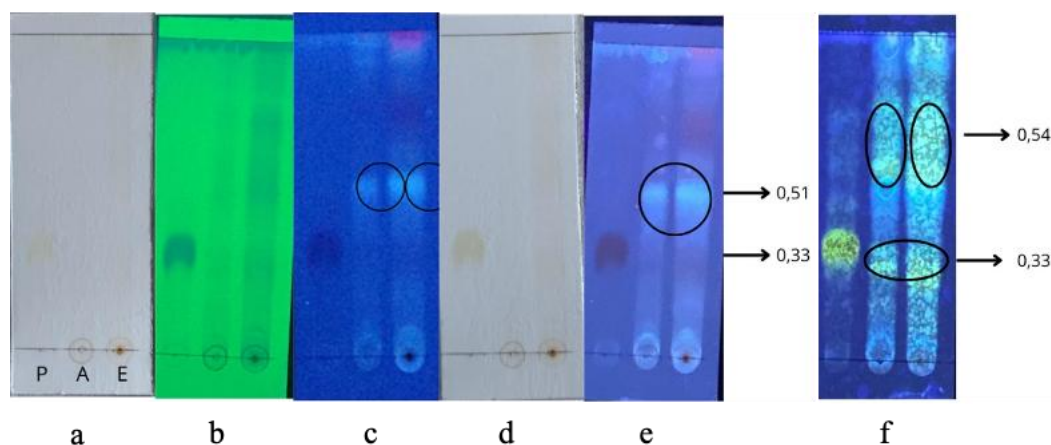
Golongan Senyawa	Hasil Penapisan Fitokimia			Rahmawati (et al., 2020)
	Simplisia	Ekstrak Air	Ekstrak Etanol	
Alkaloid				
-Pereaksi Mayer	-	-	-	-
- Pereaksi Dragendorff	-	-	+	-
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	+
Polifenol	+	+	+	+
Steroid-	+	-	+	+
Triterpenoid				
Monoterpenoid-	-	-	-	-
Seskuiterpenoid				

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia, ekstrak air, dan ekstrak etanol rumput Kebar mengandung beberapa golongan metabolit sekunder utama, terutama flavonoid, tanin, kuinon, dan polifenol. Hasil ini menunjukkan bahwa rumput Kebar memiliki profil senyawa fenolik yang cukup dominan, sehingga dapat menjadi dasar awal untuk menduga adanya potensi aktivitas biologis, khususnya aktivitas antioksidan. Hal ini

sejalan dengan laporan Aminudin et al. (2020) yang menyatakan bahwa ekstrak rumput Kebar memiliki kandungan utama flavonoid, tanin, dan saponin, serta memiliki total fenolik dan aktivitas antioksidan yang bermakna. Flavonoid, tanin, dan polifenol pada simplisia maupun kedua jenis ekstrak mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa tersebut relatif mudah terekstraksi baik oleh air maupun etanol (Abubakar & Haque, 2020).

Berdasarkan hasil KLT (Gambar 2), ekstrak air dan ekstrak etanol rumput Kebar menunjukkan adanya bercak fluoresen pada UV 366 nm yang semakin jelas setelah penyemprotan pereaksi  $AlCl_3$  dan sitroborat. Pada ekstrak, bercak teramati pada Rf sekitar 0,33 serta 0,51–0,54. Bercak tersebut menunjukkan respons positif terhadap pereaksi pendeteksi flavonoid, sehingga mengindikasikan adanya senyawa golongan

flavonoid dalam ekstrak rumput Kebar. Pereaksi  $AlCl_3$  dapat membentuk kompleks dengan gugus hidroksil dan karbonil pada struktur flavonoid sehingga meningkatkan deteksi bercak pada UV 366 nm, sedangkan sitroborat umum digunakan sebagai penampak bercak flavonoid yang menghasilkan fluoresensi khas pada UV 366 nm (Sultana *et al.*, 2024).



**Gambar 1.** Pola KLT ekstrak rumput kebar dengan fase gerak toluen : etil asetat: asam formiat yang terdiri dari rutin (p), ekstrak air rumput kebar (a), ekstrak etanol rumput kebar (e), dengan pengamatan secara visual (a), pengamatan di bawah lampu UV 254 nm (b), pengamatan di bawah lampu UV 366 nm (c), pengamatan setelah disemprot penampak bercak  $AlCl_3$  (366 nm) (e), dan pengamatan setelah disemprot penampak bercak sitroborat (366 nm) (f).

Pola bercak ekstrak air dan ekstrak etanol yang menunjukkan respons positif terhadap pembandingan rutin mengindikasikan adanya senyawa flavonoid dengan karakter kromatografis yang mirip dengan rutin. Namun, kesamaan nilai Rf dan fluoresensi belum cukup untuk memastikan identitas senyawa sebagai rutin karena Identifikasi ini

masih bersifat kualitatif, sehingga diperlukan analisis lanjutan untuk memastikan struktur dan kadar senyawa aktif yang terdeteksi. Namun, hasil ini mendukung laporan sebelumnya bahwa rumput kebar mengandung flavonoid dan senyawa fenolik yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan (Aminudin *et al.*, 2020, 2022).

Selain itu, penelitian metabolomik pada rumput Kebar telah mengidentifikasi senyawa fenolik dan flavonoid, termasuk asam kafeat dan cassiaoccidentalinalin A, yang diduga berperan dalam aktivitas antioksidan tanaman tersebut namun pada hasil penelitian ini masih memiliki keterbatasan yaitu tidak menggunakan asam kafeat dan cassiaoccidentalinalin A sebagai pembanding (Aminudin *et al.*, 2022).

Tahap selanjutnya dalam evaluasi aktivitas dilakukan menggunakan metode *nitric oxide scavenging assay* berbasis sodium nitroprusside (SNP). Pada sistem *in*

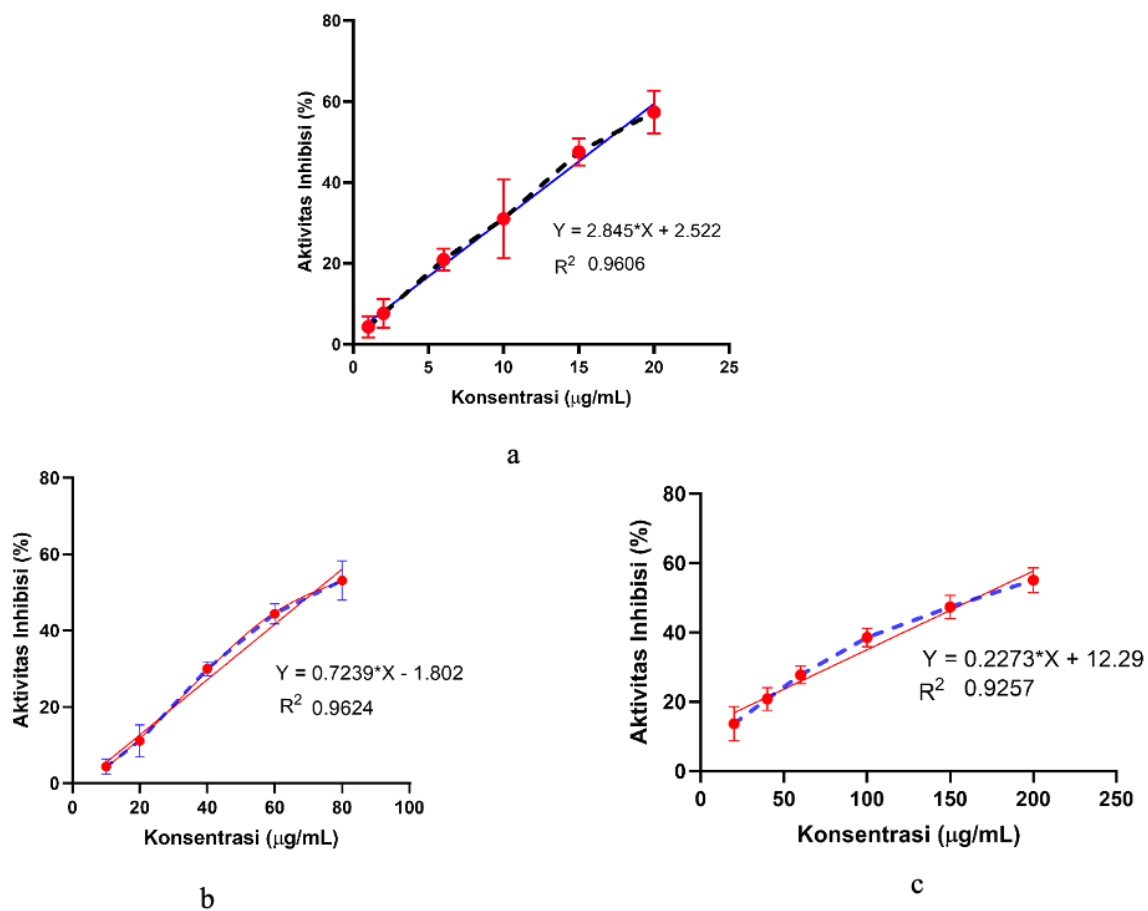
*vitro*, SNP berperan sebagai donor NO pada kondisi fisiologis, kemudian NO yang terbentuk bereaksi dengan oksigen menghasilkan ion nitrit yang dapat dideteksi secara kolorimetri menggunakan reagen Griess (Fraisie *et al.*, 2018; Suryani *et al.*, 2023). Prinsip pengujian ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam ekstrak untuk menurunkan pembentukan nitrit, sehingga penurunan absorbansi menunjukkan adanya aktivitas penangkapan atau penghambatan radikal NO (Can *et al.*, 2022).

**Tabel 3.** Aktivitas no inhibitor vitamin c, ekstrak air, dan ekstrak etanol rumput kebar

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi Rata-rata	%Aktivitas Rata-rata	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Vitamin C	1	0,44±0,05	4,28±2,64	16,68±2,46
	2	0,42±0,05	7,63±3,51	
	6	0,36±0,01	20,93±2,69	
	10	0,31±0,01	31,02±9,72	
	15	0,24±0,00	47,52±3,37	
	20	0,19±0,00	57,36±5,24	
Ekstrak Air Rumput Kebar	10	0,52±0,01	4,34±1,98	71,55±5,57
	20	0,49±0,01	11,13±4,17	
	40	0,38±0,00	30,01±1,86	
	60	0,30±0,00	44,38±2,64	
	80	0,25±0,02	53,13±5,16	
Ekstrak Etanol Rumput Kebar	20	0,35±0,00	13,69±3,55	165,90±10,65
	40	0,32±0,00	20,80±1,52	
	60	0,29±0,00	27,73±0,61	
	100	0,24±0,00	38,55±1,54	
	150	0,21±0,00	47,38±2,52	
	200	0,18±0,01	55,11±3,13	

Reactive nitrogen species (RNS) merupakan kelompok spesies nitrogen reaktif yang meliputi nitric oxide (NO), nitrogen dioksida ( $\text{NO}_2\bullet$ ), dinitrogen trioksida ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), nitroxyl (HNO), serta peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) (Möller *et al.*, 2019). NO sendiri merupakan molekul biologis penting yang berperan dalam berbagai proses fisiologis, seperti vasodilatasi, neurotransmisi, inflamasi, dan regulasi respons imun (Radi, 2018). Namun, dalam

kondisi produksi berlebih atau ketika keseimbangan redoks terganggu, NO dapat berkontribusi terhadap stres nitrosatif dan stres oksidatif, terutama melalui pembentukan spesies reaktif turunan NO (Förstermann *et al.*, 2017). Oleh karena itu, kemampuan ekstrak air dan etanol rumput kebar dalam menghambat pembentukan nitrit pada sistem SNP-Griess dapat digunakan sebagai indikator awal potensi antioksidan terhadap jalur reactive nitrogen species.



**Gambar 3.** Kurva regresi (a) vitamin C (b) ekstrak air (c) Ekstrak etanol konsentrasi terhadap persulfat inhibisi

Ekstrak air dan ekstrak etanol Rumput kebar (Tabel 3 dan Gambar 3) menunjukkan pola peningkatan aktivitas inhibisi NO yang bergantung pada konsentrasi, selaras dengan pembandingan Vitamin C. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  menunjukkan bahwa kekuatan aktivitas ekstrak air ( $71,55 \pm 5,57 \mu\text{g/mL}$ ) dan ekstrak etanol ( $165,90 \pm 10,65 \mu\text{g/mL}$ ) belum sekuat vitamin C ( $16,68 \pm 2,46 \mu\text{g/mL}$ ). Ekstrak air memiliki aktivitas sekitar 2,32 kali lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol. Hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak mampu menghambat pembentukan nitrit dengan ekstrak air lebih efektif dalam system uji NO inhibitor dibandingkan ekstrak etanol.

Aktivitas ekstrak air yang lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol berkaitan dengan dominannya senyawa polar yang larut air seperti senyawa fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin yang mampu berinteraksi dengan radikal NO. penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak rumput kebar mengandung kadar senyawa fenolik  $147 \pm 1,24 \text{ mg GAE/g}$ . Senyawa fenolik dan flavonoid diketahui memiliki kemampuan mendonorkan hydrogen untuk menetralkan radikal bebas terhadap ROS dan RNS. Hasil ini memperkuat bukti bahwa rumput kebar memiliki potensi antioksidan, karena Aminudin, 2020 melaporkan ekstrak rumput kebar memiliki aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  sebesar  $257,75 \pm 4,9 \mu\text{g/mL}$  (Aminudin

et al., 2020; Rahmawati et al., 2025). Pada penelitian ini ekstrak air menunjukkan nilai  $IC_{50}$  inhibitor NO yang lebih rendah disbanding terhadap DPPH. Hal ini dapat disebabkan perbedaan metode uji, jenis radikal dan sistem pelarut yang digunakan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar memiliki kemampuan yang menonjol terhadap jalur RNS, khususnya penghambatan nitrit dari NO dibandingkan terhadap radikal DPPH. Hasil studi metabolomic pada rumput kebar menunjukkan kandungan utama yang berpotensi memberikan aktivitas antioksidan adalah asam kafeat dan cassiaccidentalinalin A yang merupakan senyawa fenolik dengan mekanisme penghambatan peroksidasi lipid. Selain itu hasil KLT menunjukkan dalam ekstrak secara kualitatif mengandung rutin. Studi menunjukkan Rutin dapat menghambat RNS terutama melalui dua mekanisme utama, yaitu penangkapan langsung spesies reaktif dan penekanan pembentukan NO pada tingkat enzimatis. Rutin sebagai flavonoid glikosida memiliki gugus hidroksil yang mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas, termasuk spesies nitrogen reaktif yang terbentuk dari NO dan turunannya. Pada sistem biologis, mekanisme ini penting karena NO yang berlebih dapat berinteraksi dengan superoksida membentuk peroksinitrit, sehingga rutin membantu memutus rantai reaksi nitrosatif sejak tahap awal.

Keberadaan rutin atau flavonoid sejenis pada rumput kebar sangat relevan karena telah dilaporkan mengandung flavonoid, fenolik, dan vitamin E yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidannya. Rutin yang teridentifikasi dalam ekstrak rumput kebar, dapat menjadi salah satu kontributor utama terhadap aktivitas sebagai nitrit oksida inhibitor karena rutin memiliki epolaran yang tinggi dan terlarut di air sehingga sangat memungkinkan terdapat dalam ekstrak air. Namun diperlukan penelitian lanjutan yang mengkaji secara spesifik kandungan senyawa dalam rumput kebar.

## **KESIMPULAN**

Aktivitas antioksidan ekstrak air rumput kebar terhadap radikal NO lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol. Perbedaan ini menunjukkan bahwa efektivitas antioksidan rumput kebar dapat dipengaruhi sensitifitas kandungan senyawa yang terkandung didalam rumput kebar terhadap radikal bebas yang diuji. Dari hasil pengujian menunjukkan ekstrak air dapat dianggap lebih baik karena memberikan aktivitas yang lebih tinggi, sehingga pelarut air dapat dipertimbangkan sebagai pilihan yang lebih potensial untuk memperoleh aktivitas antioksidan yang relevan secara fisiologis. Secara keseluruhan rumput kebar berpotensi sebagai antioksidan alami dengan aktivitas yang kuat melalui NO.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_175\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19)
- Al-Khayri, J. M., Sahana, G. R., Nagella, P., Joseph, B. V., Alessa, F. M., & Al-Mssallem, M. Q. (2022). Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*, 27(9), 2901. <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>
- Aminudin, A., Andarwulan, N., Palupi, N. S., & Arifiantini, I. (2020). Characteristics and Antioxidant Activity of Kebar Grass (*Biophytum petersianum*) Extract. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12(2), 178–185. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i2.23820>
- Aminudin, A., Andarwulan, N., Palupi, N. S., & Arifiantini, R. I. (2022). Identification of antioxidant bioactive compounds as potential functional food ingredient from kebar grass (*Biophytum petersianum*) by

- metabolomic approach. *Food Science and Technology*, 42, e71520. <https://doi.org/10.1590/fst.71520>
- Can, Z., Keskin, B., Üzer, A., & Apak, R. (2022). Detection of nitric oxide radical and determination of its scavenging activity by antioxidants using spectrophotometric and spectrofluorometric methods. *Talanta*, 238(Pt 1), 122993. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122993>
- Choy, K. W., Murugan, D., Leong, X.-F., Abas, R., Alias, A., & Mustafa, M. R. (2019). Flavonoids as Natural Anti-Inflammatory Agents Targeting Nuclear Factor-Kappa B (NFκB) Signaling in Cardiovascular Diseases: A Mini Review. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1295. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01295>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225–276. <https://doi.org/10.1002/jps.2600550302>
- Förstermann, U., Xia, N., & Li, H. (2017). Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation Research*, 120(4), 713–735. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309326>
- Fraisse, D., Degerine-Roussel, A., Bred, A., Ndoye, S. F., Vivier, M., Felgines, C., & Senejoux, F. (2018). A Novel HPLC Method for Direct Detection of Nitric Oxide Scavengers from Complex Plant Matrices and Its Application to *Aloysia triphylla* Leaves. *Molecules*, 23(7), 1574. <https://doi.org/10.3390/molecules23071574>
- Hikmawanti, N. P. E., & Hanani, E. (n.d.). *Analysis of Flavonoids on Fraction from Hydrolysate of Cordia Sebestena L. Leaves Extract*.
- Hrelia, S., & Angeloni, C. (2021). New Mechanisms of Action of Natural Antioxidants in Health and Disease II. *Antioxidants*, 10(8), 1200. <https://doi.org/10.3390/antiox10081200>
- Joo, T., Sowndhararajan, K., Hong, S., Lee, J., Park, S.-Y., Kim, S., & Jhoo, J.-W.

- (2014). Inhibition of nitric oxide production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells by stem bark of *Ulmus pumila* L. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(5), 427–435. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.04.003>
- Lezoul, N. E. H., Belkadi, M., Habibi, F., & Guillén, F. (2020). Extraction Processes with Several Solvents on Total Bioactive Compounds in Different Organs of Three Medicinal Plants. *Molecules*, 25(20), 4672. <https://doi.org/10.3390/molecules25204672>
- Lisangan, M. M., Syarief, R., Rahayu, W. P., & Dharmaputra, O. S. (2014). Antifungal Activity of Kebar Grass Leaf Extracts on the Growth of Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* in Food Model Media. *International Journal of Sciences*, 17(2).
- Luqman, E. M., Hestianah, E. P., Widjiati, W., Kuncorojakti, S., & Hendrawan, V. F. (2022). Beneficial effects of kebar grass (*Biophytum petersianum* klotzsch) ethanol extract to increase motor reflex and spatial memory in mice offspring (*Mus musculus*) from lactating mothers exposed to carbofuran. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 324–333. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.343086>
- Möller, M. N., Rios, N., Trujillo, M., Radi, R., Denicola, A., & Alvarez, B. (2019). Detection and quantification of nitric oxide-derived oxidants in biological systems. *The Journal of Biological Chemistry*, 294(40), 14776–14802. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.006136>
- Ncama, K., Malele, J., Govender, D. M., Anumanthoo, T., & Moyo, M. (2025). Effectiveness of Common Extraction Solvents in Obtaining Antioxidant Compounds from African Medicinal Plants. *Antioxidants*, 14(12), 1498. <https://doi.org/10.3390/antiox14121498>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Radi, R. (2018). Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(23), 5839–5848.

- <https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>
- Rahmawati, F., Bintang, M., Yang, A. J., & Talakua, H. I. (2025). ANTIOKSIDAN RUMPUT KEBAR (Biophytum umbraculum). *Pro-Life*, *12*(1), 28–38. <https://doi.org/10.33541/pro-life.v12i1.6319>
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *21*(7), 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- Sultana, S., Hossain, M. L., Sostaric, T., Lim, L. Y., Foster, K. J., & Locher, C. (2024). Investigating Flavonoids by HPTLC Analysis Using Aluminium Chloride as Derivatization Reagent. *Molecules*, *29*(21), 5161. <https://doi.org/10.3390/molecules29215161>
- Suryani, S., Amalia, R., Fajriati, J. R., Febrianto, Y. E., Aziizah, R. N., Kahla, M. G., Hanifa, Rd. I. Z., & Anjali, I. S. (2023). Aktivitas Antioksidan Dan Inhibitor Nitrit Oksida Ekstrak Etanol Kulit Biji Kacang Hijau (Vigna Radiata L.). *Kartika : Jurnal Ilmiah Farmasi*, *8*(2), 109–119. <https://doi.org/10.26874/kjif.v8i2.712>
- Suryani, Sukandar, E. Y., Insanu, M., & Kurniati, N. F. (2020). Evaluation Effect Of Polarity Of The Compound From Sonchus Arvensis (Linn.) Leaves As Hypertension Inhibitor. *Rasayan Journal of Chemistry*, *13*(03), 1807–1816. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1335843>
- Widodo, E. Y., I'tishom, R., & Purwanto, B. (2020). Potensi Ekstrak Rumput Kebar (Biophytum petersianum Klotzsch) Dalam Mempertahankan Jumlah Sel Sertoli Mencit (Mus musculus) Model Diabetes Melitus. *Jurnal Penelitian Kesehatan "SUARA FORIKES" (Journal of Health Research "Forikes Voice")*, *11*(3), 277. <https://doi.org/10.33846/sf11311>
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, *13*, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>