

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN PELAWAN (*Tristaniopsis obovate*. Benn) DENGAN METODE PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS 2,2'-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL

(Antioxidant Activity Of Ethanol Extract Of Pelawan Leaf (*Tristaniopsis obovate*. Benn) Through The Method Of Capturing 2,2'-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Free Radical)

(Submitted : 14 Maret 2019, Accepted : 31 Maret 2019)

Muhammad Farid Al Kadri^{1*}, Titik Sunarni¹, Gunawan Pamudji¹, Irfan Zamzani²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin

*Corresponding Author: faridalkadri@gmail.com

ABSTRAK

*Radikal bebas merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit degeneratif, sehingga perlu adanya senyawa antioksidan lainnya untuk mengurangi radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pelawan (*Tristaniopsis obovate*. Benn) dibandingkan dengan senyawa rutin. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pelawan menggunakan metode penangkapan radikal bebas 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan rutin sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun pelawan dan pembanding rutin maka semakin besar pula persen penangkapan radikal bebas DPPH. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pelawan dengan IC_{50} sebesar 14,020 ppm dan standar rutin dengan IC_{50} sebesar 4,837 ppm.*

Kata kunci: Daun pelawan, rutin, antioksidan, DPPH

ABSTRACT

*Free radical is one of the causes of degenerative diseases; therefore, it is needed another antioxidant to diminish cell damage. This research aims at investigating antioxidant activity of ethanol extract of Pelawan leaf (*Tristaniopsis obovate*. Benn) compared to regular substance. The testing of antioxidant activity of Pelawan leaf's extract utilized the method of capturing 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical and regular substance as a standard of comparison. The result shows that the increase of concentration of ethanol extract impacted the high percentage of the capture of DPPH free radical. The result of antioxidant activity of Pelawan leaf's extract with IC_{50} was 14.020 ppm, and regular standard with IC_{50} was 4.837 ppm.*

Keywords: Pelawan leaf, regular, antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit degeneratif. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya bertambah banyak. Peranan antioksidan sangat penting untuk menghambat dan menghancurkan radikal bebas yang mampu merusak terjadinya kerusakan sel seperti DNA, protein, lipoprotein pada tubuh manusia (Silalahi, 2002).

Berdasarkan Pietta (2000), menerangkan bahwa senyawa flavonoid seperti kuersetin, rutin diketahui sebagai antioksidan yang potensial. Flavonoid dapat dikatakan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil fenolik dalam struktur molekulnya. Senyawa tersebut akan bereaksi dengan radikal bebas yang nantinya membentuk radikal baru dan distabilisasi adanya efek resonansi ini aromatik (Cuvelier *et al.*, 1994)

Tumbuhan pelawan merupakan pohon yang cepat tumbuh (*fast growing species*). Pemanfaatan tanaman pelawan belum banyak diketahui masyarakat sebagai obat herbal. Berdasarkan penelitian Panagan & Nirwan (2009) daun pelawan memiliki khasiat sebagai antibakteri dan antidiabetes. Senyawa kimia yang terkandung pada pohon pelawan adalah flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin, dan saponin. Pohon pelawan terbukti mengandung senyawa flavonoid yang dimanfaatkan sebagai antioksidan (Kisingger *et al.*, 2012).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pelawan (*Tristanopsis obovata*) dengan metode *2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur, corong kaca, gelas beker, kain flannel, botol berwarna gelap, spektrofotometer *Star Dust*, tabung *centrifuge*, pipet mikro, kapiler, timbangan tikus, jarum suntik, neraca analitik, dan alat-alat gelas, vacuum evaporator, spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun pelawan (*Tristanopsis obovata*),

glibenklamid (Ifars), aloksan (Aldrich), NaCl 0,9%, air suling, phosphate buffer, GSH, glutathione peroxidase assay, *2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH), rutin, metanol p.a.

METODE PENELITIAN

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman di laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, di bawah tanggung jawab kepala laboratorium.

Pengumpulan Sampel

Daun pelawan (*Tristanopsis obovata*) dilakukan pada daun yang sudah tua diambil dari hutan Pelawan desa Namang, Bangka Tengah pada bulan Agustus 2015.

Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Pelawan

Daun Pelawan (*Tristanopsis obovata*) yang telah dikeringkan, dibuat serbuk kemudian diekstraksi dengan cara maserasi 96%. Hasil sari yang didapatkan dipekatkan dengan evaporator sampai didapatkan ekstrak kental etanol 96%.

Identifikasi Kandungan Daun Pelawan

Identifikasi Flavonoid. Sampel diecerkan dengan sedikit air ditambah serbuk Mg alkohol-HCl (1:1) dan pelarut amil alkohol dikocok kuat agar memisah. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah/kuning/jingga pada lapisan alkohol (Robinson, 1995).

Identifikasi Steroid. Sebanyak 2 ml ekstrak etanol ditambahkan 2 ml n-heksan, dikocok. Lapisan n-heksan ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna biru kehijauan.

Identifikasi Tanin. Sebanyak 2 ml ekstrak etanol ditambahkan 2 ml pelarut besi (III) klorida 1%, kemudian dilakukan pengocokkan. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna coklat kehitaman.

Identifikasi saponin. Sebanyak 2 mL ekstrak etanol ditambahkan 2 mL aquades, kemudian dikocok kuat dan ditambahkan HCl. Adanya saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa yang tetap stabil dalam larutan setelah penambahan HCl (Mustikasari *et al.*, 2008).

Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH Rutin dan Ekstrak Uji

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol pelawan dilanjutkan dengan metode DPPH dan digunakan rutin sebagai pembanding. Sampel dibuat variasi seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi dari sampel sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam botol vial, lalu ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH 0,1 mM. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit pada ruangan gelap, lalu diukur dan diamati nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Langkah yang sama dilakukan terhadap rutin dengan variasi seri konsentrasi (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm). Nilai absorbansi yang diperoleh dari berbagai konsentrasi digunakan untuk menghitung aktivitas perendaman radikal DPPH (% inhibisi).

Analisis Data

Persen penangkapan radikal ekstrak etanol dihitung sesuai dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Peredaman} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia daun pelawan (*Tristanopsis obovate*. Benn) didapatkan dari proses pengeringan perlu dilakukan penetapan susut pengeringan, hal ini bertujuan mengetahui kandungan air yang terdapat dalam serbuk simplisia. Standar kandungan air dalam simplisia yaitu kurang dari 10%, standar ini ditujukan karena kandungan air yang tinggi pada serbuk menyebabkan terjadinya pertumbuhan kapang dan jamur dari reksi enzimatik sehingga mampu menurunkan kualitas simplisia (Anonim, 2008).

Pemilihan metode penyarian yang digunakan pada penelitian yaitu metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode penyarian dengan pelarut cara dingin. Prinsip dalam metode maserasi yaitu dengan cara serbuk simplisia terendam dan terbasahi. Proses maserasi dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah pengadukan. Harapan dari pengadukan ini untuk meningkatnya kontak antar serbuk simplisia dengan pelarut sehingga zat aktif dari simplisia dapat tersari lebih banyak dalam pelarut penyari.

Pemilihan pelarut menggunakan etanol diharapkan dapat melarutkan senyawa flavonoid dan fenolik. Fitrat disaring dengan menggunakan alat corong *Buchner* yang dirangkai dengan pompa vakum. Fitrat yang didapatkan lalu di pekatkan dengan *rotary evaporator*, pemilihan penggunaan alat ini memudahkan dalam proses penguapan karena suhu yang dipakai 50⁰c tetap terkontrol sehingga tidak merusak zat aktif dalam proses pemanasan. Ekstrak yang telah didapat disimpan pada kondisi suhu kamar. Hasil rendeman 29,12% dan hasil

pengukuran susut pengeringan ekstrak etanol daun pelawan adalah 7,6%. Hal ini telah sesuai dengan ketetapan sehingga dapat dikatakan ekstrak memenuhi syarat.

Ekstrak etanol daun pelawan yang diperoleh diuji skrining fitokimia untuk mengetahui adanya golongan senyawa flavonoid, steroid, saponin dan tanin. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan ditunjukkan pada Tabel 1.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol diuji berdasarkan metode penangkapan radikal bebas *2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH) menggunakan spektroskopi UV-Visible dengan menggunakan rutin sebagai pembanding. Nilai absorbansi yang didapatkan dihitung persentase peredaman radikal bebas DPPH.

Tabel 1. Hasil skrening fitokimia ekstrak etanol daun pelawan (*Tristanopsis obovate*. Benn)

No	Kandungan	Reaksi	Hasil	Pustaka	Kesimpulan
1	Flavonoid	Ekstrak ditambah 5 ml air suling ditambah 0,1 serbuk mg ditambah 1 ml larutan alkohol ditambah asam klorida pekat ditambah amil alkohol	Merah jingga pada lapisan amil alkohol	Merah jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol	Positif
2	Steroid	Ekstrak etanol ditambahkan 2 ml n-heksan, dikocok. Lapisan n-heksan ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard	Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan terakhir biru	Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan terakhir biru	Positif
3	Saponin	Ekstrak etanol ditambahkan 2 mL aquades, kemudian dikocok dan ditambahkan HCl.	Buih selama 10 menit	Buih yang tidak hilang pada waktu 1-10 menit	Positif
4	Tanin	Ekstrak ditambah etanol ditambah besi (III) klorida	Terbentuk warna biru kehitaman	warna larutan akan berubah menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman	Positif

Tahap awal analisis menggunakan spektrofotometer UV-Visible yaitu penentuan waktu oprasional (*operating time*). Waktu yang dibutuhkan larutan untuk menyerap sinar dengan serapan yang stabil. Hal ini ditunjukkan bahwa DPPH telah mampu beraksi optimal dengan senyawa uji dan standar rutin. Hasil penelitian standar rutin menunjukkan serapan stabil pada waktu 25 menit sampai 29 menit sedangkan untuk ekstrak etanol daun pelawan pada waktu 26 menit sampai 30 menit.

Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimal. Menurut Suryanto *et al* (2003) menerangkan bahwa serapan panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH dalam etanol sebesar 515-517 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serapan panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH adalah 515 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,722 untuk rutin dan serapan panjang gelombang maksimum untuk ekstrak etanol daun pelawan adalah 516 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,868.

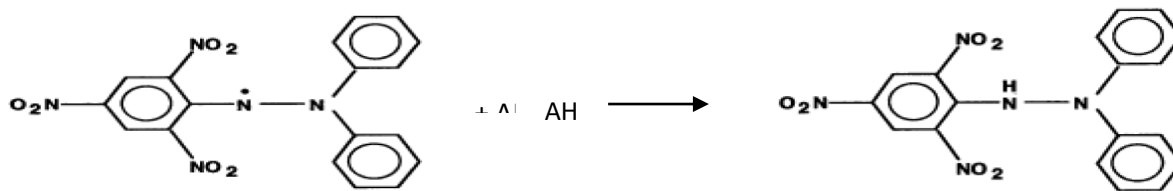
Absorbansi dan persentase inhibisi ekstrak etanol dapat dilihat pada Tabel 2. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ dan

didapatkan dari persamaan regresi linear. Nilai persentase inhibisi makin besar sebanding dengan konsentrasi sampel, hal ini dikarenakan radikal bebas DPPH mereduksi radikal hidrogen dari senyawa antioksidan untuk membentuk DPPH-II. Berkurangnya radikal bebas ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning pucat hal ini berkorelasi dengan nilai persentase inhibisi dimana semakin besar nilai persentase inhibisi menunjukkan ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Suryohudoyo, 1993).

Pada gambar 1 menunjukkan bahwa senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti flavonoid akan menangkap atau mereduksi radikal DPPH, kemudian molekul DPPH akan mendonorkan atom hidrogen sehingga akan membentuk difenilpikrilhidrazin yang bersifat non radikal. Molekul DPPH yang masih tersisa akan dibaca pada panjang gelombang 525 nm yang ditunjukkan dengan berkurangnya warna ungu dari radikal DPPH menjadi warna kuning pucat sebagai warna dari golongan pikril (Molyneux, 2004).

Tabel 2. Absorbansi, persentase inhibisi dan nilai IC₅₀

Bahan	No	Konsentrasi	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀
Pelawan	1	2 ppm	0.787	9.331	15.243
		4 ppm	0.71	18.202	
		6 ppm	0.652	24.884	
		8 ppm	0.597	31.221	
		10 ppm	0.591	31.912	
	2	2 ppm	0.807	7.027	13.178
		4 ppm	0.709	18.317	
		6 ppm	0.653	24.769	
		8 ppm	0.597	31.221	
		10 ppm	0.545	37.211	
	3	2 ppm	0.783	9.792	13.64
		4 ppm	0.71	18.202	
		6 ppm	0.653	24.769	
		8 ppm	0.601	30.76	
		10 ppm	0.544	37.327	
Rata-rata IC ₅₀					14.02±1.08
Rutin	1	2 ppm	0,439	39,196	4.807
		4 ppm	0,396	45,152	
		6 ppm	0,311	56,921	
		8 ppm	0,262	63,711	
		10 ppm	0,236	67,313	
	2	2 ppm	0,440	39,058	4.83
		4 ppm	0,397	45,013	
		6 ppm	0,312	56,786	
		8 ppm	0,260	63,988	
		10 ppm	0,236	67,313	
	3	2 ppm	0,439	39,196	4.874
		4 ppm	0,398	44,875	
		6 ppm	0,314	56,509	
		8 ppm	0,268	62,880	
		10 ppm	0,234	67,590	
Rata-rata IC ₅₀					4.837±0.03



Difenilpikrilhidrazil

Antioksidan

Difenilpikrilhidrazin

Gambar 1. Reaksi Peredaman DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Molyneux, 2004)

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pelawan memiliki nilai IC₅₀ sebesar 14,020

ppm dan standar flavonoid yaitu rutin memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4,837 ppm. Nilai IC₅₀ dari ekstrak

etanol daun pelawan jauh lebih besar dari nilai IC_{50} senyawa standar rutin. Hal ini menunjukkan bahwa data aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pelawan 3 kali lebih kecil dibandingkan dengan daya aktivitas antioksidan senyawa standar rutin. Hal ini dikarenakan kadar senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pelawan lebih sedikit dibandingkan senyawa turunan flavonoid yaitu rutin.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun pelawan memiliki aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun pelawan sebesar 14.02 ± 1.08 ppm. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pelawan mempunyai aktivitas antiradikal yang lebih kecil dibandingkan rutin (nilai IC_{50} 4.837 ± 0.03 ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2008, Farmakope Herbal Indonesia, Edisi 1, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Cuvelier et al. 1994. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. 28.25-30 (1995)
- Kissinger, Thamrin G, Muhyah R. 2012. Konservasi Keanekaragaman Hayati Hutan Kerangas Berbasis Penemuan Bioaktivitas Tumbuhan Sebagai Antidiabetes. Banjarmasin: Prosiding Insinas. Universitas Lambung Mangkurat.
- Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Journal Science of Technology.
- Mustikasari K, Ariyani D. Studi Potensi Binjai (*Mangifera caesia*) dan Kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai Antidiabetes melalui Skrining Fitokimia pada Akar dan Batang. *Sains dan Terapan Kimia*. 2008. 2:64 – 73.
- Panagan AT dan Nirwan Syarif 2009. Uji Daya Hambat Asap Cair Pirolisis Kayu Pelawan (*Tristanopsis Obovata*) Terhadap Bakteri *Echerchia Coli*. Jurnal penelitian sains. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Swjaya Sumatera Selatan.
- Pietta Pier-Giorgio, 2000, Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 2000, 63, 1035-1042
- Robinson T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants*. 1995.
- Silalahi, J., 2002, Senyawa polifenol sebagai komponen aktif yang berkhasiat dalam teh. *Majalah Kedokteran Indonesia*., 52 (10): 361-4.
- Suryanto, E., Sastroamidjojo H., Raharjo S., dan Tranggono, 2003, *Antiradical of Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC) Fruit Extract*, Departement of Chemistry, Fac of Mathematic and Natural Science, Gajah Mada University, Yogyakarta.
- Suryohudoyo, P. 1993. Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair, Surabaya.