

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI AKAR
TABAR KEDAYAN (*Aristolochia foveolata* Merr.) DENGAN
METODE DPPH (2,2 DIPHENYL-1-PICRILHYDRAZIL)**

*Antioxidant Activities Of Ethanol Extracts And Root Tabar Kedayan Fractions
(Aristolochia Foveolata Merr.) Using DPPH Method
(2.2 Diphenyl-1-Picrilhydrazil)*

Risa Supringrum, Siti Jubaidah
STIKES Samarinda
e-mail : risa_akfar@yahoo.com
08125872605

ABSTRACT

*Antioxidants are substances that can neutralize free radicals, thus protecting the body from various diseases by binding to free radicals and highly reactive molecules that can damage cells. The use of high-dose synthetic antioxidants is reported to be toxic and carcinogenic. Tabar Kedayan root (*Aristolochia foveolata* Merr) is one of the native plants from North Kalimantan, which is empirically used as an anti-poison, containing secondary metabolites including alkaloids, tannins, flavonoids. Flavonoids are powerful antioxidants. Some studies report that the function of flavonoids can be to prevent and treat cancer. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanol extract and n-hexane fraction, the ethyl acetate fraction of Tabar Kedayan root with 2.2 Diphenyl-1-Picrilhydrazil (DPPH) method as a free radical compound. The results of the study obtained IC₅₀ values for each sample, at ethyl acetate fraction 267.48 ppm, ethanol extract at 603.80 ppm, ethanol-water fraction 705.43 ppm, n-hexane fraction 1500 ppm. The antioxidant activity tests indicate that ethyl acetate fraction is categorized as weak antioxidant, while the ethanol-water fraction and n-hexane fraction exhibit no antioxidant activity.*

Keywords : *Tabar Kedayan, Antioxidants, 2.2 Diphenyl-1-Picrilhydrazil*

ABSTRAK

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, sehingga melindungi tubuh dari berbagai penyakit dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif yang dapat merusak sel. Penggunaan antioksidan sintetik dalam dosis tinggi dilaporkan bersifat toksik dan karsinogenik.

Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr) merupakan salah satu tumbuhan asli Kalimantan Utara, yang secara empiris digunakan sebagai anti racun, memiliki kandungan metabolit sekunder diantaranya alkaloid, tanin, flavonoid. Flavonoid bersifat sebagai antioksidan. Beberapa penelitian melaporkan, bahwa fungsi flavonoid dapat mencegah dan mengobati kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi n-hexane, fraksi etil asetat Akar Tabar Kedayan dengan metode DPPH sebagai senyawa radikal bebas. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai IC₅₀ pada masing-masing sampel yaitu pada fraksi etil asetat 267,48 ppm, ekstrak sebesar 603,80 ppm, fraksi etanol air 705,43 ppm, fraksi n heksan 1500 ppm. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat termasuk kategori lemah dan pada ekstrak, fraksi etanol air serta fraksi n-heksan tidak memiliki daya aktivitas sebagai antioksidan

Kata Kunci : Tabar Kedayan, Antioksidan, 2,2 Diphenyl-1-Picrilhydrazil

PENDAHULUAN

Salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati adalah Kalimantan Utara. Suku dayak merupakan salah satu suku yang tinggal di provinsi tersebut, memiliki pengetahuan tentang tumbuhan obat yang diwariskan secara turun-temurun. Tumbuhan Tabar kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr.) merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan dalam pengobatan oleh suku dayak. Secara empiris tumbuhan tersebut digunakan sebagai anti racun, seperti menetralkan racun serangga, bisa ular dan segala macam gigitan binatang berbisa [1].

Penelitian oleh Jubaidah,dkk [2] menyatakan, bahwa akar Tabar kedayan memiliki kandungan metabolit sekunder diantaranya adalah alkaloid, tanin dan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenolik alam yang dapat berperan sebagai agen pereduksi, pendonor atom hidrogen, pengkhelat logam serta memiliki aktivitas biologi yang dapat membantu memelihara sistem metabolisme tubuh [3].

Menurut Jubaidah [4] kandungan total fenolik akar Tabar kedayan sebesar 77,74 mg EAG/g dari fraksi etil asetat, ini dapat dijadikan sebagai acuan untuk pengujian antioksidan pada ekstrak dan fraksinya, sehingga menjadikan sebagai sumber informasi zat yang memiliki antioksidan yang tertinggi. Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari akar Tabar kedayan dengan metode DPPH sebagai senyawa radikal bebas.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mikropipet, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu), neraca analitik (Ohaus)

Bahan

Akar dari tumbuhan Tabar kedayan, aquades, etanol, etil asetat, n heksan, DPPH 2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil (Sigma aldrich), vitamin C (Merck), n-hexan (Merck), etil asetat (Merck), Mg (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendrof

Prosedur

Pengolahan sampel

Sampel berupa akar dari tumbuhan Tabar kedayan, diperoleh dari Kabupaten Malinau pada bulan November 2018.

Sampel yang telah dikumpulkan kemudian disortasi, dicuci dan dikeringkan secara alami Sehingga diperoleh simplisia kering akar Tabar kedayan. Selanjutnya simplisia dibuat serbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh 60.

Pembuatan Ekstrak

Simplisia serbuk ditimbang sebanyak 200 g kemudian diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol, diekstraksi hingga larutan ekstrak tidak berwarna kemudian disaring dan pelarut diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental [5].

Fraksinasi

Ekstrak ditimbang sebanyak 7 gram, dilarutkan dalam etanol-air dengan perbandingan 1,5:1 sebanyak 50 ml, dimasukkan ke dalam corong pisah. Ditambahkan n-hexane 50 ml, dikocok selama 1 jam kemudian didiamkan kurang lebih semalam. Fraksi n-hexan ditampung dalam wadah dan fraksi etanol-air ditambahkan n-hexan kembali sebanyak 50 ml, dikocok dan didiamkan. Semua fraksi n-hexan yang diperoleh dipekatkan. Pada fraksi etanol-air ditambahkan etanol 30 ml dan air 20 ml, kemudian ditambahkan etil asetat 50 ml dan dilakukan fraksinasi dua kali seperti pada fraksi n-hexan. Selanjutnya fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air dipekatkan.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol

a. Senyawa Tanin

Ditimbang sampel sebanyak 0,5 gram dan ditambahkan 10 mL akuades dimasukkan dalam tabung reaksi, dipanaskan selama 3 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat ditambahkan akuades sampai tidak berwarna, ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin [6]

b. Senyawa Saponin

Ditimbang sampel sebanyak 0,5 gram dan ditambahkan 10 mL akuades, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dipanaskan kemudian dinginkan dan disaring. Dikocok selama 10 detik apabila terbentuk buih dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya saponin [6].

c. Senyawa Alkaloid

Ditimbang sampel sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL aquades, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dipanaskan

selama 2 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat digunakan untuk uji berikut [6] :

1. Pereaksi Bouchardat

Filtrat ditambahkan pereaksi bouchardat, jika terbentuk endapan coklat atau hitam menunjukkan adanya alkaloid.

2. Pereaksi Dragendorf

Filtrat ditambahkan pereaksi dragendrof terbentuk endapan merah coklat.

3. Pereaksi Mayer

Filtrat ditambahkan pereaksi mayer, terbentuk endapan putih atau kuning.

Alkaloid dinyatakan positif jika dua dari tiga uji di atas memberikan hasil positif.

d. Senyawa Flavonoid

Ditimbang sampel sebanyak 0,5 gram dan ditambahkan 10 mL akuades, dipanaskan selama 3 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat diambil 5 mL ditambahkan sedikit serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok, bila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid. [7]

Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Ditimbang serbuk DPPH 10 mg, dilarutkan dengan etanol hingga 100 ml dan diperoleh larutan DPPH 100 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan DPPH 40 ppm.

Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 100 ppm

Ditimbang vitamin C sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam etanol hingga 100 mL.

Pembuatan Seri Konsentrasi Vitamin C

Vitamin C dibuat dalam konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm. Untuk membuat vitamin C 2 ppm, maka dipipet 1 mL larutan induk vitamin C dan ditambahkan etanol hingga 50 ml dalam labu ukur. Untuk konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm digunakan cara yang sama dengan volume larutan induk yang diambil masing-masing 2 ml, 3 ml, dan 4 ml.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 40 ppm

Larutan DPPH 40 ppm diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 450 - 600 nm. Sebagai blanko digunakan etanol.

Penentuan Absorbansi DPPH ditambah Vitamin C

Penentuan kurva serapan DPPH ditambah dengan vitamin C dilakukan dengan cara masing-masing seri konsentrasi vitamin C (2; 4; 6; 8 ppm) dipipet sebanyak 1 ml, lalu ditambahkan 2 ml larutan DPPH 40 ppm, diamati serapan yang terjadi pada masing-masing konsentrasi.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel

Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Masing-masing konsentrasi ekstrak diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan, 2 ml larutan DPPH 40 ppm, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 516,80 nm sesuai hasil penentuan panjang gelombang maksimum

yang diperoleh. Sebagai pembanding digunakan vitamin C (konsentrasi 2; 4; 6; 8 ppm) dalam pelarut etanol. Nilai IC50 dihitung masing-masing dengan menggunakan persamaan regresi dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Akar tabar kedayan diekstraksi dengan pelarut etanol kemudian difraksinasi dengan berbagai pelarut dan diperoleh persen rendemen sebagai berikut :

Tabel 1. Rendemen fraksi akar Tabar kedayan

No	Fraksi	Berat (g)	Rendemen (%)*
1	<i>n</i> -heksan	1,42	23,66
2	Etil asetat	2,84	47,33
3	Etanol-air	0,75	12,50

*Dihitung terhadap ekstrak kasar

Pada Tabel 1 di atas rendemen fraksi etil asetat paling tinggi dibandingkan fraksi *n*-heksan dan etanol-air, hal ini dimungkinkan adanya gugus etoksi yang terdapat pada etil asetat, pengikatan hidrogen yang terbentuk pada etil asetat lebih besar dibandingkan dengan senyawa yang bersifat non polar maupun polar, jumlah masing-masing ekstrak yang didapat paling besar adalah etil asetat sehingga dimungkinkan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya lebih besar pula, hal ini disebabkan karena adanya interaksi antar molekul seperti adanya interaksi dipol-dipol dan gaya Van der Walls.

Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol dan masing-masing fraksi.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Hasil			
	Ekstrak	n-Hexan	Etil asetat	Etanol-Air
Alkaloid	(+)	(-)	(-)	(-)
Saponin	(-)	(-)	(-)	(-)
Tanin	(+)	(-)	(-)	(-)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan:

- (+) mengandung senyawa metabolit sekunder
- (-) tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Hasil skrining menunjukkan, bahwa ekstrak dan fraksi akar tabar kedayan mengandung senyawa flavonoid. Kemudian masing-masing fraksi dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan Spektrofotometri UV-Vis.

Metode yang digunakan pada uji kuantitatif antioksidan yaitu metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar. Prinsip metode ini adalah mengukur terjadinya pemudaran warna dari radikal DPPH akibat adanya antioksidan yang dapat menetralkan molekul radikal bebas. DPPH dalam bentuk non-radikal akan kehilangan warna ungunya karena masuknya atom hidrogen pada atom yang tidak berpasangan. Perubahan warna tersebut dapat diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis [8]

Tahap awal pengujian aktivitas antioksidan sampel yaitu dengan mengukur panjang gelombang maksimum DPPH 40 ppm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tujuan pengukuran panjang gelombang maksimum adalah pada panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi yang paling besar [8]. Jika pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum kuat serta mudah diperoleh dan banyak dikonsumsi masyarakat [9].

yang sama maka data yang diperoleh semakin akurat dan memperkecil

kemungkinan terjadinya kesalahan. Pengukuran panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dilakukan pada rentang panjang gelombang 450 - 600 nm dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebesar 516,80 nm.

Pada pengujian kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebelumnya dilakukan percobaan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak dan fraksi sampel yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas (DPPH) dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang sebelumnya diinkubasi terlebih dahulu selama 30 menit. Inkubasi ini bertujuan agar larutan sampel dan larutan DPPH 40 ppm dapat tercampur dengan baik dan cara ini telah direkomendasikan oleh peneliti-peneliti sebelumnya [8]. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan panjang gelombang pada rentang 450-600 nm hasilnya menunjukkan pada konsentrasi 100-1000 ppm telah terjadi pemudaran warna dari ungu menjadi kuning yang menunjukkan adanya aktivitas peredaman DPPH. Parameter yang digunakan sebagai interpretasi hasil dari metode DPPH adalah IC50 (*Inhibition Concentration*) yang dapat didefinisikan sebagai nilai konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50%. Vitamin C digunakan sebagai pembanding, karena mempunyai aktivitas antioksidan yang

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari akar tabar kedayan serta vitamin C dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan fraksi akar Tabar kedayan

Sampel	Rata-rata IC ₅₀ (ppm)	Kategori antioksidan
Ekstrak	603,80	Tidak memiliki
Fraksi n-Hexan	1500,23	Tidak memiliki
Fraksi Etil asetat	267,48	Lemah
Fraksi Etanol-Air	705,43	Tidak memiliki
Vitamin C	8,16	Sangat kuat

Aktivitas antioksidan vitamin C menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 8,16 ppm dengan kategori sangat kuat, dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi. Rendahnya nilai IC₅₀ senyawa yang tidak memiliki aktivitas antioksidan menghambat reaksi antioksidan seperti adanya senyawa karbohidrat, protein dan lemak [10]

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan menyimpulkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kategori lemah, sedangkan ekstrak dan fraksi yang lain tidak memiliki aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM STIKES Samarinda yang telah memberikan dukungan terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Liwun, N.M. 2009. *Inventarisasi dan Identifikasi Tanaman Obat Yang Digunakan Oleh Suku Dayak Lundayeh Di Kecamatan Mentarang Kabupaten Malinau, Kalimantan*
- [2] Timur. *Karya Tulis Ilmiah*. Akademi Farmasi Samarinda: Samarinda.
- [3] Jubaidah, .S., Sapri., Supriningrum, R. 2013. Karakterisasi dan Skrining fitokimia Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr.) *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, Universitas Mulawarman, Samarinda.
- [3] Astuti Ambar Dwi Widhi. 2011. *Efektivitas Pemberian Ekstrak Jahe Merah (Zingiber officinale roscoe varr Rubrum) Dalam Mengurangi Nyeri Otot Pada Atlet Sepak Takraw*. Artikel Penelitian. Universitas Diponegoro. Semarang.
- [4] Jubaidah, S dan Nurhasnawati, H. 2018. Analisis Flavonoid Total Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr.) *Jurnal Al Kimia, Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Alaudin, Makasar*.
- [5] Departemen Kesehatan RI. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia edisi pertama*. Jakarta : Depkes RI

- [6] Departemen Kesehatan RI.1979. *Materia Medika Indonesia jilid III*. Jakarta : Dirjen Pengawas Obat dan Makanan.
- [7] Latifah. 2015. *Identifikasi Golongan senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada ekstrak Rimpang Kencur (Kaemferia galanga L.) Dengan Metode DPPH*. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- [8] Molyneux, P. 2004. "The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity". *Journals Songklanakarin Science Technology* . 26 (2) : 211-219.
- [9] Gandjar, I. G, dan Abdul, R. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta
- [10] Rachmawati, IS dan Ciptati. 2011. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). Bandung : *Prosiding Simposium Nasional Inovasi Pembelajaran dan Sains*.

