

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH

Virsa Handayani¹, Aktsar Roskiana Ahmad², Miswati Sudir²

¹Laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

²Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email : virsafarmasi@gmail.com, aktsar.roskiana@umi.ac.id

Abstrak

Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) adalah tanaman dari keluarga *Zingiberaceae*. Patikala memiliki senyawa bioaktif adalah flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur aktivitas radikal bebas dalam ekstrak metanol bunga dan daun Patikala. Ekstraksi bunga dan daun sampel dengan metode maserasi menggunakan metanol. Analisis kualitatif senyawa kimia dengan eluen tertentu dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk menentukan kelompok senyawa aktif dalam ekstrak. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode perendaman DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazil) diukur serapan pada panjang gelombang 517 nm dan dibandingkan dengan kekuatan quersetin antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol di 1,935% untuk bunga dan daun pada 5.17%. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga patikala memiliki aktivitas antioksidan yang rendah dengan nilai IC_{50} 101,84 mg / mL dan metanol ekstrak daun Patikala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} 30,65 mg / mL. Potensi ini lebih rendah dari nilai IC_{50} quercetin dari 5,35 mg / mL.

Abstract

Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) is a plant of the *Zingiberaceae* family. Patikala (*E. elatior* (Jack) R.M.Sm) have bioactive compounds are flavonoids that act as antioxidants. The purpose of this study was to measure free radical activity in the methanol extract of the fruit and leaves Patikala (*E. elatior* (Jack) R.M.Sm). Extraction of flowers and leaf samples by maceration method using methanol. Qualitative analysis of chemical compounds with certain eluent using Thin Layer Chromatography (TLC) to determine the group of active compounds in the extract. Antioxidant activity assay using the immersion method of DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazil) measured absorption at a wavelength of 517 nm and compared with the power of antioxidant quersetin. The results showed that the methanol extract rendement is at 1.935% for flowers and leaves at 5.17%. Antioxidant activity of the methanol extract of the flowers patikala (*E. elatior* (Jack) R.M.Sm) have low antioxidant activity with the value IC_{50} 101.84 mg / mL and methanol extracts of leaves Patikala (*E. elatior* (Jack) R.M.Sm) have strong antioxidant activity with value IC_{50} 30,65 mg / mL. This potential is lower than that of quercetin IC_{50} value of 5.35 mg / mL.

Keywords: antioxidant activity test, DPPH, flowers and leaves patikala, (Etilingera elatior (Jack) R.M.Sm).

PENDAHULUAN

Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.Sm) merupakan adalah salah satu jenis tanaman dari suku Zingiberaceae. Tanaman ini dapat digunakan sebagai bahan pangan dan juga digunakan dalam pengobatan. Patikala merupakan tanaman yang multiguna mulai dari rimpang sampai bunga. Bunga patikala dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk penyakit yang berkaitan dengan kulit, batang semu serta pelepah daun dapat dimanfaatkan sebagai sabun alami serta memiliki khasiat sebagai antimikroba pada mikroba patogen dan perusak pangan (Naufalin, 2005). Bunga, batang, rimpang, dan daun patikala mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Naufalin, 2005) yang mampu menangkap adanya radikal bebas (Taylor, 2001).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol patikala berdasarkan aktivitas pengikatan terhadap DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl). Antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Ahmad, 2012). Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas secara terus menerus terbentuk didalam tubuh, jika

jumlahnya didalam tubuh sangat banyak dapat berpotensi menonaktifkan berbagai enzim, mengoksidasikan lemak dan mengganggu DNA tubuh sehingga terjadi mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker (Astuti, 2009).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dalam bidang kimia bahan alam hayati dan farmasi dalam upaya pemanfaatan senyawa antioksidan dari bunga dan daun patikala.

METODE

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel bunga dan daun patikala berasal dari kota Palopo (Sulawesi selatan) dikumpulkan kemudian dipisahkan bunga dan daunnya. Setelah itu dilakukan sortasi. Bunga dan daun patikala yang telah diambil dilakukan pengubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian diserbukkan.

Ekstraksi

Serbuk bunga dan daun patikala dimasukkan ke dalam wadah maserasi, ditambahkan pelarut etanol hingga serbuk simplisia terendam, dibiarkan selama 3-4 hari. Setelah proses ekstraksi pertama selesai, ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari yang baru. Ekstrak kental yang telah dikumpulkan lalu diuapkan dengan menggunakan alat *Rotary Vacum Evaporator* hingga diperoleh ekstrak metanol kering.

Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi alkaloid. Larutan Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian di elusi dengan eluen. Setelah itu disemprotkan dengan menggunakan pereaksi Dragendorff. Diamati pada lampu uv 254 dan 366. Setelah plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff akan menunjukkan bercak coklat berlatar belakang kuning (Harborne, 1987).

Identifikasi flavonoid. Larutan ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen yang sesuai. Kemudian diamati bercak pada lampu UV 264 dan 366 setelah itu disemprot dengan $AlCl_3$. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga akan menunjukkan pita serapan yang kuat pada sinar UV dan sinar tampak. Pada analisis dengan KLT dan penampakkan dengan pereaksi $AlCl_3$. Flavonoid akan tampak bercak berwarna kuning dan tergantung strukturnya, flavonoid akan berflouresensi kuning, biru atau hijau pada UV 366 nm (Harborne, 1987).

Identifikasi fenolik. Larutan ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen yang sesuai. Kemudian diamati bercak pada lampu UV 264 dan 366 setelah itu disemprot dengan $FeCl_3$. Positif mengandung fenol jika noda berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne, 1987).

Identifikasi saponin. Larutan ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen yang sesuai. Kemudian diamati

bercak pada lampu UV 254 dan 366 dan disemprot dengan vanilin. Glikosida saponin jika dideteksi dengan pereaksi semprot vanilin-asam sulfat akan memberikan warna biru sampai biru violet terkadang berupa bercak merah, kuning, biru tua, ungu, hijau atau berupa kuning kecoklatan (Harborne, 1987).

Uji aktivitas antioksidan**Pembuatan larutan**

Pembuatan larutan DPPH. Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 ml metanol absolut dalam labu tentukur (Brand Williams, 1995).

Pembuatan larutan sampel. Dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara menimbang ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*E. elatior* (Jack) R.M.Sm) sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan metanol absolut sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm (Brand Williams, 1995).

Pembuatan larutan pembanding. Dibuat larutan stok 100 ppm dengan cara menimbang sebanyak 1 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan metanol absolut sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm (Brand Williams, 1995).

Uji pendahuluan

Pengujian dilakukan dengan cara sampel ekstrak metanol bunga dan daun patikala dilarutkan dengan metanol. Kemudian ditotolkan pada lempeng silika gel F₂₅₄ dengan menggunakan pipa kapiler. Lempeng yang sudah ditotol dielusi dengan eluen yang sesuai. Selanjutnya disemprot dengan larutan DPPH. Lempeng dibiarkan selama beberapa menit, kemudian bercak yang muncul diamati. Setelah itu diamati profil KLT pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm (Brand Williams, 1995).

Pengukuran daya antioksidan

Pengukuran daya antioksidan blanko.

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH. Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Brand Williams, 1995).

Pengukuran daya antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*E. elatior* (Jack) R.M.Sm). Pengujian dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan sampel dari berbagai konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH. Kemudian Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Brand Williams, 1995).

Pengukuran daya antioksidan sampel pembanding kuersetin. Pengujian dilakukan dengan memipet 0,5 ml larutan kuersetin

dari berbagai konsentrasi (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH. Kemudian Divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Brand Williams, 1995).

Analisis data

Analisis data dengan persamaan regresi linear menggunakan program Microsoft Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Antioksidan merupakan senyawa yang berguna mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh sehingga berperan mencegah berbagai macam penyakit. Penelitian ini menggunakan daun dan bunga patikala yang diekstraksi menggunakan metode maserasi yang merupakan salah satu metode ekstraksi dingin.

Sampel bunga dan daun patikala dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Maksud dari pengeringan yaitu mencegah terjadinya reaksi enzimatik (aktivitas mikroba) dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama dan lebih tidak mudah rusak sehingga komposisi kimianya tidak mengalami perubahan. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dimana pelarut yang digunakan adalah metanol. Keuntungan dari metode maserasi ini adalah pekerjaan yang sederhana serta alat yang digunakan mudah untuk diperoleh.

Dari hasil ekstraksi diperoleh ekstrak metanol sebesar 19,35 gr dan dan serbuk kering bunga patikala sebanyak 1000 gr dengan persen rendamen 1,935 %. Hasil ekstrak metanol daun patikala sebanyak 25,85 gr dan serbuk kering bunga patikala sebanyak 500 gr dengan persen rendamen sebanyak 5,17 %. Selanjutnya dilakukan uji komponen bioaktif menggunakan metode fitokimia. Digunakan uji fitokimia karena dapat mendeteksi komponen bioaktif yang tidak terbatas hanya pada metabolit sekunder saja, tetapi terhadap metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional, seperti protein dan peptida (Alfian, 2012). Dalam penelitian ini dilakukan pengujian fitokimia untuk golongan senyawa yaitu flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin.

Dari pengujian fitokimia dilanjutkan pengujian aktivitas antiradikal bebas dengan menggunakan DPPH. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan KLT. Ekstrak metanol bunga dan daun patikala ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi menggunakan cairan pengelusi (eluen) *n*-heksan : etil asetat (7:3), alasan penggunaan cairan pengelusi (eluen) *n*-heksan : etil asetat (7:3) agar dapat mengelusi dengan penampakan warna dan jarak nodanya cukup jelas pada sampel yang ditotolkan pada lempeng KLT. Ini berdasarkan sifat kepolaranya, eluen *n*-heksan: etil asetat(7:3) lebih bersifat nonpolar sehingga senyawa-

senyawa yang dipisahkan juga bersifat nonpolar berdasarkan prinsip dari KLT yaitu “*like dissolve like*”. Setelah lempeng KLT dielusi kemudian disemprot dengan DPPH. Bercak yang memberikan perubahan warna menjadi kuning menunjukkan adanya aktivitas antiradikal bebas (Molyneux, 2004). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu ke kuning (Molyneux, 2004).

Pada penelitian ini pengerjaannya merujuk pada prosedur Brand-Williams *et al.*, 1995 dengan beberapa modifikasi. Dimana pengukuran absorbansi sampel pada spektro UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm dengan volume sampel yang digunakan 0,5 mL dan DPPH sebanyak 3,5 mL. Dimana konsentrasi sampel yang digunakan adalah 10, 50, 100, 150 dan 200 ppm sedangkan konsentrasi pembanding adalah 2, 4, 6, dan 8 ppm. Dimana pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif adalah kuersetin. Menurut Phongpaichit *et al.*, 2007, suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 10-50 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-250 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif apabila IC_{50} diatas 250 $\mu\text{g/mL}$. EMBP memiliki aktivitas antioksidan yang lemah yakni 101,84 $10 \mu\text{g/mL}$, sedangkan EMDP memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yakni 30,65 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan hasil penelitian, senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan pada ekstrak metanol bunga dan daun patikala yaitu alkaloid, flavonoid dan saponin. Dimana alkaloid terutama indol memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi senyawa berantai radikal bebas secara efisien. Senyawa alkaloid lainnya yang bersifat antioksidan adalah quinolon, kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal, hidroksi dan melatonin yang berperan penting menjaga sel dari pengaruh radiasi dan toksisitas obat-

obatan. Senyawa berikutnya yang berpotensi sebagai antioksidan adalah flavonoid yang merupakan senyawa polifenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi. Dan terakhir saponin yang mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekular

Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi dan nilai IC₅₀ ekstrak metanol bunga (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) dan blanko

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µG/mL)
Blanko	50	0,000	-	-
	10	1,231	12,10	
Ekstrak Metanol Replikasi I	50	1,202	12,89	101,84 µG/mL
	100	1,151	16,59	
	150	1,124	18,55	
	200	1,095	20,65	
Ekstrak Metanol Replikasi II	10	1,199	13,11	
	50	1,158	16,08	
	100	1,118	18,98	
	150	1,110	19,56	
	200	1,075	22,10	

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi dan nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) dan blanko

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µG/mL)
Blanko	-	0,000	-	-
Ekstrak Metanol Replikasi I	10	1,316	4,63	
	50	1,310	5,07	
	100	1,162	15,79	
	150	1,057	23,40	
	200	0,945	31,52	
Ekstrak Metanol Replikasi II	10	1,182	14,34	
	50	1,116	19,13	
	100	1,003	27,31	30,65 µG/mL
	150	0,900	34,78	
	200	0,784	43,18	
10	1,205	12,68		
50	1,132	17,97		
Ekstrak Metanol Replikasi III	100	1,003	27,31	
	150	0,893	35,28	
	200	0,792	42,60	

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi dan nilai IC₅₀ kuersetin dan blanko

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (µG/mL)
Blanko	50	1,380	-	-
Kuersetin	2	0,009	34,78	5,35
	4	0,784	43,18	
	6	0,659	52,24	
	8	0,509	63,11	

oleh radikal bebas (Yuhernita & Juniarti, 2011).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Kandungan kimia yang terdapat ekstrak metanol bunga dan daun patikala adalah flavonoid, fenolik, alkaloid dan saponin.
2. Bunga patikala memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC₅₀ 101,84 µg/mL dan daun patikala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ 30,65 µg/mL.

DAFTAR ACUAN

- Ahmad, R., Munim, A., & Elya, B. (2012). Study of antioxidant activity with reduction of free radical DPPH and xanthine oxidase inhibitor of the extract *Ruellia tuberosa* Linn Leaf. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(11).
- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan kadar fenolik total ekstrak Metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat Tumbuh secara spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2(1), ISSN 2088-4559
- Astuti, Y.N. (2009). Uji aktivitas penangkap radikal DPPH oleh analog kurkumin monoketon dan n-heteroalifatik monoketon. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Brand Williams, & W. Cuvelier, M.E. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioksidant activity. *Food science and technology*, 28 (1), 25 – 30
- Harborne, J.B. (1987). Metode Fitokimia : *Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Terbitan Kedua. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB : Bandung.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science Technology*, 26(2), 211 – 216.
- Naufalin, Rifda. (2005). Kajian sifat antimikroba ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai mikroba patogen dan perusak pangan. *Tesis*. Jurusan Teknologi Pangan. Fakultas Pertanian. IPB: Bogor.
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok Towatana, N., et al. (2007). Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From Garcinia Plant. *FEMS*

- Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 517 – 525.
- Taylor, T.C. Francis. (2001). Bioactive compounds from isolation, characterisation and biological properties. Universitas Dicitania : Italy
- Yuhernita & Juniarti. (2011). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 15(1), 48 – 52.