

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOROFORM
BUAH LAKUM (*Cayratia trifolia*) DENGAN METODE
DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

NASKAH PUBLIKASI



OLEH:

AJI SULANDI

NIM. I21109045

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2013

NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOROFORM
BUAH LAKUM (*Cayratia trifolia*) DENGAN METODE
DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

Oleh :
AJI SULANDI
NIM. I21109045

Telah Dipertahankan Di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal : 11 Desember 2013

Telah disetujui oleh,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Rafika Sari, M.Farm, Apt.
NIP.198401162008012002

Hj. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt.
NIP.198111012008012011

Penguji I,

Penguji II,

Siti Nani Nurbaeti, M.Si., Apt.
NIP. 198411302008122004

Liza Pratiwi, M.Sc., Apt.
NIP. 198410082009122007

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD
NIP.195112181978111001

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KLOOROFORM BUAH LAKUM
DENGAN METODE DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY FROM CHLOROFORM EXTRACT OF
LAKUM FRUIT (*Cayratia Trifolia*) WITH DPPH (2,2-DIPHENYL-1-
PICRYLHYDRAZYL) METHOD**

Aji sulandi^{1*}, Rafika Sari², Sri Wahdaningsih³.
Program Studi Farmasi Fakultas kedokteran, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa atau molekul yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Buah lakum (*Cayratia trifolia*) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari buah lakum menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Siplisia buah lakum dimaserasi dengan pelarut kloroform dan ekstrak yang dihasilkan diuji skrining fitokimia. Hasil dari skrining fitokimia ekstrak menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan fenolik. Uji pendahuluan dilakukan secara KLT dengan metode DPPH menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform dan metanol (1:4). Hasilnya diperoleh 2 spot berwarna kuning setelah disemprot pereaksi DPPH dengan nilai Rf sebesar 0,68 dan 0,76. Uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 651,643 µg/mL, sedangkan vitamin C sebagai kontrol positif memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,971 µg/ml.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan, DPPH, Buah lakum, Ekstrak kloroform.

ABSTRACT

Antioxidants are molecules or compounds that can prevent the occurrence of oxidation process caused by free radicals. Lakum fruit (*Cayratia trifolia*) is a plant that has the potential as antioxidant. The aim of this study is to determine the antioxidant activity of lakum fruit by using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylydrazil) method. Siplisia of lakum fruit was soaked with chloroform and the extract tested phytochemical screening. Phytochemical screening showed that extract containing positive results of flavonoids, alkaloids, steroids, tannins and phenolics. A preliminary test of thin layer chromatography (TLC) by using DPPH method performed using stationary phase of silica gel 60 F₂₅₄ and mobile phase of chloroform and methanol (1: 4). The result obtained 2 yellow spots after sprayed by DPPH that had Rf values of 0,68 and 0,76. Antioxidant activity test by using UV-Vis spectrophotometry demonstrated that extract had low antioxidant activity with a value of IC₅₀ at 651,643 µg/mL, whereas vitamin C as positive control had high antioxidant activity with a value of IC₅₀ at 2,971 µg/ml.

Keyword : Antioxidant activity, DPPH, Lakum fruit, Chloroform extract.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa atau molekul yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya. Tubuh manusia sebenarnya dapat menghasilkan antioksidan tapi jumlahnya tidak mencukupi untuk menetralkan radikal bebas yang jumlahnya semakin menumpuk di dalam tubuh¹. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik seperti BHA (butil hidroksi anisol) dan BHT (butil hidroksi toluen) menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan². Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidase lipid pada makanan³.

Buah lakum (*Cayratia trifolia*) merupakan salah satu tanaman yang telah dikenal oleh masyarakat Kalimantan Barat yang tumbuh di hutan secara liar. Buah lakum hingga saat ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat Kalimantan Barat hanya sebatas olahan sirup, buah lakum memiliki potensi yang dapat dikembangkan dalam dunia kesehatan salah satunya sebagai antioksidan alami. Buah lakum diketahui memiliki kedekatan taksonomi dengan buah anggur (*Vitis vinifera*) yaitu termasuk dalam satu genus (*Vitis*). Buah anggur memiliki senyawa flavonoid seperti kuersetin, myrisetin, kaempferol, dan katekin yang memiliki aktivitas antioksidan⁴. Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi diduga buah lakum juga memiliki kandungan metabolit sekunder yang serupa dengan buah anggur yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan alami.

Penelitian aktivitas antioksidan dari buah lakum dengan menggunakan pelarut kloroform bertujuan untuk mengetahui nilai IC₅₀ senyawa antioksidan seperti terpenoid, isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi⁵. Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum dengan metode DPPH.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (Pyrex), *waterbath* (Memmert tipe WNB14), *hot plate* (Schott tipe D-55122), lampu UV 366 nm (Merck tipe 1.13203.0001), *rotary evaporator* (Heidolph tipe Hei-VAP) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu tipe 2450)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi buah lakum, vitamin C (Kalbe Farma kode bahan No.13AV01100), larutan metanol *p.a* (Merck kode bahan No.1.06009.2500), larutan kloroform *p.a* (Merck kode bahan No.1.02445.2500), as.asetat, akuades, pereaksi *Lieberman-Burchard*, pereaksi *Dragendroff*, pereaksi *Mayer*, serbuk Mg, larutan H₂SO₄ 2N, larutan NaOH 2N, larutan HCl 2 N, garam gelatin, lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck kode bahan No.1.05554.0001) dan kristal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) *p.a* (Sigma-Aldrich kode bahan No.D9132-1G).

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Kloroform Buah Lakum

Buah lakum yang telah dibersihkan dipisahkan dengan bijinya dan ditiriskan dengan cara diangin-anginkan. Diperoleh simplisia sebanyak 2000 g dan dilakukan maserasi menggunakan larutan kloroform sebanyak 5000 mL. Maserasi dilakukan selama 3 hari, setiap 24 jam pelarut diganti dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Kemudian filtrat disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga kental⁶.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Secara KLT

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan ekstrak kloroform sebagai penangkap radikal bebas dilakukan sesuai metode Demirezer dkk. dengan sedikit modifikasi⁷. Uji pendahuluan diawali dengan mengaktifkan plat KLT pada oven dengan suhu 105°C selama 10 menit. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄ dengan luas 2 x 10 cm dengan jarak elusi 8 cm. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi yaitu kloroform : metanol dengan perbandingan 1 : 4 sebanyak 2 mL. Bercak yang terbentuk diamati dengan sinar tampak, lampu UV 366 nm, dan pereaksi DPPH 0,2%. Senyawa aktif

penangkap radikal radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu.

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Uji aktivitas antioksidan penangkap radikal ekstrak kloroform dilakukan dengan metode DPPH sesuai yang digunakan Molyneux dengan sedikit modifikasi⁸. Tahap awal yang dilakukan adalah pengukuran panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan DPPH. Selanjutnya sebanyak 1 mL ekstrak kloroform dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$, 75 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$ dan 150 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan kedalam 2 mL DPPH 0,1 mM. Campuran selanjutnya dikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit ditempat gelap. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada λ_{maks} 516 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk kontrol positif vitamin C dengan konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$, 3 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, dan 6 $\mu\text{g/mL}$. λ_{maks} yang digunakan untuk vitamin C adalah 515 nm. Larutan blanko terdiri dari 2 mL DPPH 0,1 mM dan 1 mL metanol *p.a.* Data hasil pengukuran absorbansi dianalisa persentase aktivitas antioksidannya menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A= Nilai absorbansi

Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} ekstrak kloroform buah lakum didapat dari hasil perhitungan dengan menggunakan persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier diperoleh dengan memasukkan konsentrasi sampel uji sebagai absis (sumbu x) dan nilai persen inhibisi DPPH sebagai ordinatnya (sumbu y) yang selanjutnya akan didapat nilai r (koefisien relasi). Dari data tersebut maka akan diperoleh persamaan $y = bx + a$, dimana a sebagai intersep, b sebagai *slope*, dan nilai koefisien regresi linier dinyatakan sebagai r.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Kloroform Buah Lakum

Ekstraksi buah lakum dilakukan dengan metode maserasi yaitu sebanyak 2000 g simplisia buah lakum dimaserasi menggunakan pelarut kloroform sebanyak 5000 mL. Metode maserasi ini dipakai karena merupakan ekstraksi cara dingin sehingga tidak menggunakan suhu tinggi yang dapat merusak senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang terdapat dalam sampel buah lakum. Ekstraksi dilakukan selama 3 hari ditandai filtrat tak berwarna. Proses ekstraksi selama 3-5 hari sudah baik untuk mendapatkan kandungan aktif dari simplisia⁶.

Hasil dari proses maserasi berupa maserat yang diperoleh sebanyak 5000 mL berwarna hijau yang kemudian dipekatkan. Pemekatan maserat dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang dilengkapi dengan pompa *vacum*, dengan adanya pompa *vacum* pada *rotary evaporator* maka penguapan pelarut dapat dilakukan dibawah titik didih pelarut dan proses penguapan dapat berlangsung lebih cepat. Penguapan pelarut kloroform dapat dilakukan dibawah titik didihnya yaitu pada suhu 45°C. Proses ini dilakukan pada suhu tersebut untuk menjaga senyawa aktif yang terkandung tidak rusak karena pemanasan. Hasil Maserasi dari ekstrak kloroform buah lakum dapat dilihat pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil Maserasi Ekstrak Kloroform Buah Lakum

Simplisia	Pelarut	Warna Ekstrak Kental	Berat Ekstrak Kental	Rendemen (% b/b)
2000 g	Kloroform 5000 mL	Hijau tua	7,25 g	0,3625

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan uji tabung yaitu mereaksikan sampel dengan larutan pereaksi spesifik untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Tabel 2 berikut merupakan hasil skrining fitokimia buah lakum.

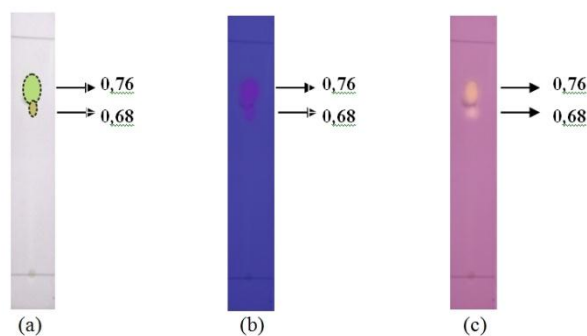
Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Keterangan
Alkaloid	Mayer	Hijau Kekuningan	-
	Dragendorff	Endapan Merah Kecoklatan	+
Flavonoid	HCL pekat	Hijau	+
Saponin	Aquades	Tidak berbusa	-
Triterpenoid/ Steroid	Lieberman- Burchad	Hijau (Steroid)	+
Fenolik	FeCl ₃	Hijau kekuningan	+
Tanin	Gelatin	Endapan Putih	+

Berdasarkan hasil skrining fitokimia diketahui bahwa ekstrak kloroform buah lakum memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik dan tanin.

Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Secara KLT

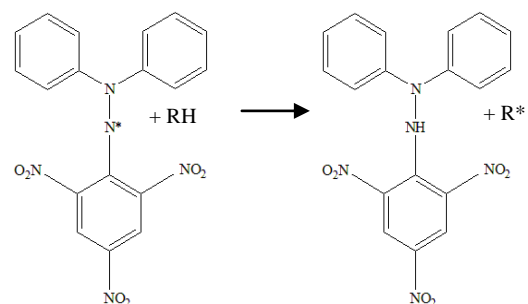
Uji pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa aktif di dalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan dalam meredam radikal bebas (DPPH). Ekstrak kloroform buah lakum yang telah ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dengan menggunakan mikropipet, dielusi menggunakan fase gerak kloroform : metanol dengan perbandingan (1:4). Berikut adalah gambar hasil kromatogram dari ekstrak kloroform buah lakum.



Gambar 1. Kromatogram Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Secara KLT. (a) Penampakan secara Visual, (b) dengan sinar UV 366 nm, (c) dengan larutan DPPH 0,2%.

Pengamatan secara visual dilakukan terlebih dahulu dengan melihat hasil pemisahan pada plat dan terlihat terdapat dua spot. Spot pertama berwarna coklat kehijauan dengan noda yang kecil dan spot

kedua berwarna hijau dengan noda lebih besar. Pengamatan selanjutnya adalah dengan menggunakan sinar UV. Pengamatan UV dengan menggunakan panjang gelombang 366 nm akan menghasilkan noda bercak yang berpendar, dengan latar belakang yang gelap, sehingga spot yang dapat berpendar (berfluoresensi) dapat terlihat secara visual. Hal tersebut disebabkan oleh adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom pada spot. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan hasil emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali semula sambil melepaskan energi. Hasil yang diamati menunjukkan warna merah muda pada kedua spot tersebut. Bercak disinari UV menghasilkan berfluoresensi merah jambu, maka dapat diperkirakan senyawa tersebut adalah antosianin⁵. Berdasarkan pernyataan diatas diduga senyawa yang ada pada kedua bercak tersebut merupakan golongan flavonoid yaitu antosianin. Uji selanjutnya dilakukan dengan penyemprotan larutan DPPH 0,2%. Setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2%, uji aktivitas antioksidan secara kualitatif ini menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning dengan latar ungu. Terbentuknya bercak kuning setelah penyemprotan DPPH 0,2 % disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen di dalam ekstrak kloroform buah lakum, sehingga dapat mengakibatkan molekul DPPH tereduksi yang diikuti dengan hilangnya warna ungu dari larutan DPPH. Struktur DPPH dan DPPH tereduksi hasil reaksi dengan antioksidan dapat dilihat pada gambar 2 berikut⁹.



Gambar 2. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Prakash, 2001)

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis

Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum pada penelitian ini menggunakan metode DPPH yang telah digunakan oleh Molyneux dengan sedikit modifikasi⁸. Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*).

Tahap awal pengukuran peredaman radikal bebas pada uji ini, diawali dengan membuat larutan DPPH dengan konsentrasi sebesar 0,1 mM dalam metanol. Senyawa DPPH adalah radikal stabil dalam larutan metanol¹⁰. Larutan DPPH yang dihasilkan berwarna ungu gelap. Larutan harus disimpan pada wadah yang terlindung dari sinar matahari untuk mencegah dekomposisi. Tahap selanjutnya yang dilakukan setelah pembuatan larutan DPPH 0,1 mM adalah pengukuran panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan DPPH yang digunakan sebagai blanko. Blanko berfungsi untuk melihat konsentrasi radikal bebas dari larutan DPPH sebelum penambahan senyawa uji dimana nilai absorbansinya digunakan sebagai faktor pengurang dari larutan DPPH yang telah ditambahkan senyawa uji sehingga akan didapat nilai % inhibisi. Pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH yang digunakan sebagai blanko dalam pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum ini dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil λ_{maks} spektra UV-Vis larutan DPPH 0,1 mM yang

digunakan untuk pengujian ekstrak kloroform buah lakum yaitu 516 nm dengan absorbansi maksimum sebesar 0,961.

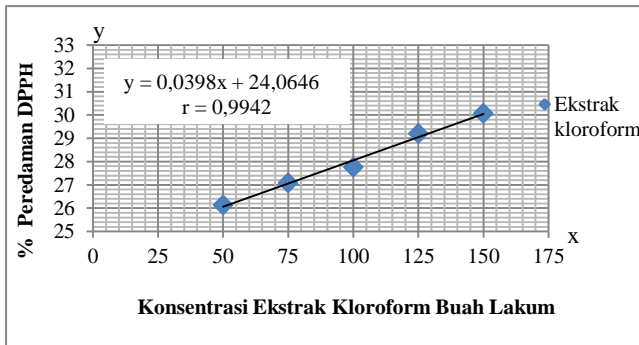
Tahap kedua yang dilakukan adalah pembuatan larutan induk sampel dari ekstrak kloroform buah lakum, larutan sampel induk yang dibuat kemudian diencerkan dengan variasi seri kadar. Tujuan dari pembuatan variasi kadar ini bertujuan untuk memberi gambaran mengenai aktivitas antioksidan dari senyawa uji. Setelah penambahan senyawa uji ke dalam larutan DPPH, terjadi penurunan absorbansi DPPH dibandingkan dengan blanko. Menurut hukum *Lambert-Beer*, ada korelasi sebanding antara konsentrasi dengan absorbansi, jika terjadi penurunan konsentrasi maka absorbansi spektrum sinar dari larutan tersebut juga akan mengalami penurunan. Turunnya absorbansi menandakan berkurangnya konsentrasi radikal bebas dari DPPH. Berkurangnya konsentrasi radikal bebas dari DPPH dikarenakan adanya reaksi dengan senyawa antioksidan yang mengakibatkan molekul DPPH tereduksi dan diikuti dengan berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH. Nilai absorbansi dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum dapat dilihat pada tabel 3 berikut.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Aktivitas Antioksidan	Persamaan	IC ₅₀ (µg/mL)
Blanko	0,961	0		
50	0,70974	26,145	$y = 0,0398x + 24,0646$ $r = 0,9942$	651,643
75	0,70076	27,080		
100	0,69418	27,764		
125	0,68036	29,202		
150	0,67204	30,068		

Dari tabel diatas didapat nilai IC₅₀ ekstrak kloroform buah lakum berdasarkan perhitungan adalah sebesar 651,643 µg/mL. Ekstrak kloroform buah lakum tergolong antioksidan yang lemah. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 µg/mL, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan⁸. Nilai koefisien korelasi yang bernilai positif tersebut menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kloroform buah lakum maka semakin

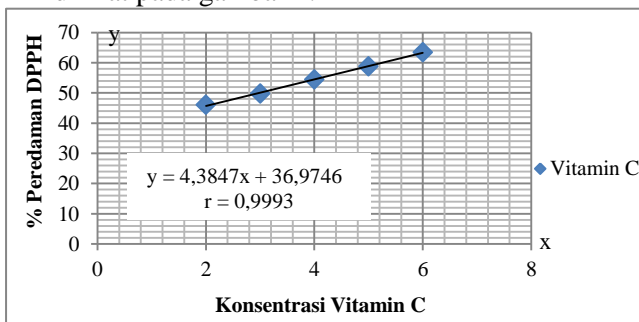
besar aktivitas antioksidannya. Kurva regresi linier pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak buah lakum ditunjukkan pada gambar 3 berikut :



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Ekstrak Kloroform Buah Lakum

Kurva diatas dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan kedalam larutan DPPH maka semakin besar nilai % peredaman DPPH. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak kloroform buah lakum mampu mendonorkan atom H-nya untuk meredam radikal DPPH. Persamaan regresi liniernya yaitu $y = 0,0398(x) + 24,0646$; dengan nilai (r) atau koefisien relasinya sebesar 0,9942. Nilai b (0,0398) adalah kemiringan garis, makin besar nilai b makin curam kemiringan garis. Nilai a (24,0646) sebagai intersep dan merupakan titik di mana garis berpotongan dengan sumbu y.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C. Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air. Penggunaan kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak kloroform buah lakum jika dibandingkan dengan Vitamin C yang tergolong antioksidan sangat kuat. Hubungan aktivitas antioksidan dan konsentrasi vitamin C dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Kurva Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Hasil pengukuran vitamin C sebagai kontrol positif diperoleh persamaan regresi linier $y = 4,3847x + 36,9746$ dengan nilai koefisien korelasi 0,9993. Vitamin C sebagai kontrol positif mempunyai nilai IC_{50} sebesar 2,971 $\mu\text{g/ml}$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, golongan senyawa yang diduga memberikan aktivitas antioksidan dalam penelitian ini adalah flavonoid, alkaloid, steroid, fenolik dan tanin. Dibandingkan aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum dengan Vitamin C menunjukkan lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak kloroform buah lakum. Faktor yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan yaitu senyawa flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak kloroform buah lakum berada dalam keadaan tidak murni yang dalam artian berikatan dengan gugus lain, misalnya glikosida. Glikosida adalah senyawa yang tersebar luas di dalam tanaman⁵. Glikosilasi dapat menurunkan aktivitas antioksidan flavonoid. Hal tersebut mengakibatkan flavonoid tidak dapat mendonasikan hidrogen dan elektron untuk menangkal radikal bebas dikarenakan terjadinya halangan sterik. Adanya perubahan bentuk atom -H menjadi gugus metil (-CH₃) melalui reaksi metilasi juga dapat menurunkan aktivitas antioksidan, karena pengurangan atom -H yang merupakan sumber proton untuk penangkapan radikal bebas¹¹.

Hasil KLT menunjukkan senyawa yang terdeteksi yaitu antosianin ditandai dengan warna merah jambu saat disinari lampu UV 366 nm⁵. Antosianin merupakan glikosida dan pigmen warna pada tanaman dimana aktivitas antioksidannya tidak sebaik bentuk aglikonnya yaitu antosianidin¹². Adanya kemungkinan senyawa flavonoid yang ada di dalam ekstrak kloroform merupakan senyawa antioksidan sekunder, yang mekanisme pengikatannya melalui pengikatan logam. Flavonoid selain bersifat sebagai antioksidan primer, juga berfungsi sebagai pengkelat logam¹³.

Alkaloid diduga turut bertanggung jawab dalam memberikan aktivitas antioksidan. Senyawa alkaloid, terutama indol, memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas

secara efisien tetapi senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama¹⁴. Senyawa steroid diduga juga turut memberikan aktivitas antioksidan. Penelitian terhadap senyawa steroid yang terdapat pada ekstrak etanol 80% dari *Inonotus obliquus* mampu meredam radikal DPPH, namun tidak sebaik sebagai penangkap radikal superoksida¹⁵.

Hasil skrining juga menunjukkan terdapat senyawa yang tersari berupa golongan fenolik dan tanin. Aktivitas antioksidan pada senyawa fenolik dan tanin dikarenakan kedua senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Senyawa fenol ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Aktivitas peredaman radikal bebas senyawa fenol dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil yang dimiliki oleh senyawa fenol maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa fenolik dan tanin terdapat pada ekstrak kloroform buah lakum tetapi yang tersari jumlahnya kecil, sehingga tidak dapat memberikan efek antioksidan yang maksimal. Selain buah bagian lain dari tanaman lakum diduga memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan evaluasi farmakognosi dari daun tanaman lakum menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tanin, steroid dan karbohidrat¹⁶. Batang tanaman lakum yang diekstraksi menggunakan pelarut kloroform mengandung senyawa tanin dan flavonoid¹⁷. Akar tanaman lakum yang diekstraksi dengan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol menunjukkan adanya senyawa steroid, flavonoid dan alkaloid¹⁸.

KESIMPULAN

Ekstrak kloroform buah lakum memiliki aktivitas antioksidan pada uji pendahuluan secara KLT ditandai dengan terbentuknya warna kuning pucat pada bercak ketika disemprot dengan larutan DPPH 0,2 %. Nilai IC₅₀ ekstrak kloroform buah lakum tergolong antioksidan yang sangat lemah yaitu 651,643 µg/mL dan nilai

IC₅₀ vitamin C tergolong sebagai antioksidan sangat kuat yaitu 2,971 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hernani dan Raharjo M. 2005. *Tanaman berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadya, Jakarta. Hal 99.
2. Rohdiana D. 2001. Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh. *Majalah Jurnal Indonesia* 12, (1), 53-58.
3. Sunarni T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 2001, 53-61.
4. Xia En-Qin, Deng Giu-Fang, Li Hua-Bin. 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 622-646.
5. Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Penerbit ITB. Bandung. Hal 7-8; 49.
6. DepKes RI. 1986. *Sediaan Galenika*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal 10-12.
7. Demirezer LO, Kruuzum-Uz A, Bergere I, Schiewe HJ, and Zeeck A. 2001. The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source : Antraquinones and Tannin from *Roots of Rumex patientia*, *Phytochemistry*. 58: 1213-1217
8. Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology* 26(2):211-219.
9. Prakash A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories-Analytical Progress. Volume 19. Number 2. Hal 194.

10. Sunarni T, Pramono T, dan Asmah T. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook f & Th). *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol. 18, No. 3: 111-116.
11. Mikamo E, Y. Okada, A. Semma, Y. Otto, dan Morimoto I. 2000. Studies On Structural Correlation-Ship with Antioxidant Activity of Flavonoids. *Jpn. J. Food Chem.* 7(2): 93-101.
12. Kahkonen MP dan Heinonen M. 2003. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J Agric Food Chem* 51: 628-633.
13. Gordon MH. 1990. The mechanism of antioxidant activity in vitro. *In: Hudson BJB (ed). Food Antioxidants*. London : Elseviere Appl. Sci. pp 1-8.
14. Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara, Sains*, Vol. 15, No. 1: 48-52.
15. Cui Y, Kim D, Park K. 2003. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 96. Hal 78-95.
16. Kumar D, Jyoti G, Sunil K, Renu A, Tarun K, and Ankit G. 2012. Pharmacognostic evaluation of *cayratia trifolia* (Linn) Leaf. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2012)6-10.
17. Singh S, Mann R, dan Sharma KR. 2012. Phytochemical Analysis and Pharmacognostical Standardization of stem of *Cayratia trifolia* (Linn.) Domin. *Int J Pharm Sci Res.* 3(11); 4503-4506.
18. Batra S, Batra N, dan Nagori BP. 2013. Preliminary Phytochemical Studies and Evaluation of Antidiabetic Activity of Roots of *Cayratia trifolia* (L.) Domin in Alloxan Induced Diabetic Albino Rats. *J App Pharm Sci.* 2013; 3 (03): 097-100.

