

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

NASKAH PUBLIKASI



OLEH :

**MUHAMMAD DEKY SATRIA
NIM. I21109004**

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

2013

NASKAH PUBLIKASI

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

Oleh :
MUHAMMAD DEKY SATRIA
NIM. I21109004

Telah Dipertahankan Di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal : 19 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

Bambang Wijianto, M.Sc., Apt.
NIP. 198412312009121005

Indri Kusharvanti, M.Sc., Apt.
NIP. 198303112006042001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

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

Lulus tanggal : 19 Desember 2013
No. SK Dekan FK Untan : 3540/UN22.9/DT/2013
Tanggal : 16 Oktober 2013

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

**ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY FROM EXTRACT n-HEXANE
OF LAKUM FRUITS (*Cayratia trifolia*) BY USING DPPH
(2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL) METHOD**

¹Muhammad Deky satria, ²Rafika Sari, ³Sri Wahdaningsih
^{1, 2, 3}. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Buah lakum (*Cayratia trifolia*) adalah salah satu tumbuhan yang diduga dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Siplisia buah lakum dimaserasi selama lima hari dengan pelarut n-heksan, maserat yang didapat kemudian di evaporasi dan ekstrak yang diperoleh di uji skrining fitokimia menggunakan uji tabung. Dilakukan uji pendahuluan terhadap sampel menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase gerak kloroform dan metanol (3:1) dan fase diam silika gel 60 F254, selanjutnya kromatogram disemprot menggunakan DPPH 0,2 %. Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak n-heksan buah lakum dilakukan dengan metode spektrofotometri visibel menggunakan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) konsentrasi 0,1 mM dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 516 nm. Hasil uji tabung memberikan hasil positif mengandung triterpenoid. Hasil uji pendahuluan menunjukkan adanya bercak kuning dengan latar belakang ungu pada plat KLT silika gel 60 F254 ketika disemprot larutan DPPH 0,2 % dengan nilai Rf sebesar 0,72. Hasil uji aktivitas menghasilkan nilai IC₅₀ sampel yaitu 3.158,928 µg/mL, sedangkan nilai IC₅₀ vitamin C sebagai kontrol positif yaitu 2,9712 µg/mL. Jadi dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan buah lakum lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C, namun masih berpotensi sebagai antioksidan.

Kata Kunci: antioksidan, ekstrak n-heksan, DPPH, buah lakum

ABSTRACT

Antioxidant is chemical compound that can muffle free radical. Lakum fruit is one of plant which is assumed can be used as antioxidant. Lakum fruit simplicia was macerated for five days by using n-hexane and then evaporated. Phytochemical test conducted on extract by using tube test. Preface test was done on extract by using Thin Layer Chromatography test with chloroform and methanol (3:1) as mobile phase and Silica gel 60 F254 as stationary phase. After that, chromatogram was sprayed with DPPH 0,2%. Antioxidant activity test from lakum fruit n-hexane extract was done by using visible spectrophotometri with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) in 0,1 mM concentration. This test was done with UV-Vis spectrophotometer on 516 nm. Tube test showed that n-hexane extract of lakum fruit contained triterpenoid. Preface test showed there was yellow spot with purple background in Silica gel 60 F254 plat when it was sprayed by DPPH 0,2%. Rf value of that spot was 0,72. IC₅₀ value of lakum fruit extract was 3.158,928 µg/mL, while vitamin C IC₅₀ value as control positive is 2,9712 µg/mL. According to that result, it can be concluded that antioxidant activity of lakum fruit was lower than vitamin C.

Keyword: Antioxidant, n-hexane extract, DPPH, lakum fruit

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman tanaman yang melimpah termasuk tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat. Pemanfaatan obat-obatan yang bersifat alami telah menjadi

pilihan bagi masyarakat Indonesia. Berbagai jenis tanaman di Indonesia yang telah digunakan secara empiris di masyarakat, tetapi belum dapat dimanfaatkan secara optimal.

Berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, aterosklerosis, rematik, jantung koroner dan katarak disebabkan oleh adanya senyawa radikal bebas¹. Untuk mengatasi hal tersebut, telah digunakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, yaitu senyawa yang dapat menangkap radikal bebas². Pemberian antioksidan diharapkan dapat memperlambat dan mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif. Pada saat ini penggunaan antioksidan sintetis mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan sintetis seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) ternyata bersifat toksik dan karsinogenik. Oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru³.

Salah satu tanaman yang berpotensi mengandung senyawa antioksidan adalah tanaman lakum yang merupakan tanaman yang hidup liar di hutan. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah yang telah masak dan yang telah dibuang bijinya. Buah lakum diduga memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkalkan radikal bebas. Hal yang mendasari pemikiran tersebut adalah karena kemiripan taksonominya dengan tanaman anggur yang memiliki genus yang sama dan memiliki kandungan senyawa fenolat, yaitu senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan⁴. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari lakum juga pernah dilakukan pada ekstrak etanol seluruh bagian tanaman (bagian daun, batang dan akar) memiliki senyawa yang beraktivitas sebagai antioksidan dengan IC_{50} sebesar $74 \pm 0,83 \mu\text{g/mL}$ ⁵. Aktivitas antioksidan tidak hanya diperankan oleh golongan senyawa yang bersifat polar, namun juga dapat diperankan oleh golongan senyawa yang bersifat non-polar, diantaranya adalah golongan senyawa flavonoid non-polar, alkaloid dan triterpenoid. Glikosida flavonoid dalam bentuk aglikon yang bersifat non-polar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bentuk glikonnya yang bersifat polar⁶.

Senyawa-senyawa non-polar yang terkandung dalam sampel dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang bersifat non-polar pula, salah satunya adalah n-heksan. Pelarut n-heksan merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non-polar karena

memiliki beberapa keunggulan, diantaranya karena pelarut ini bersifat relatif stabil, mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat.

Beberapa penelitian mengenai kandungan kimia dan manfaat buah lakum (*Cayratia trifolia*) sebagai obat masih sangat terbatas. Berdasarkan uraian diatas, penelitian mengenai aktivitas antioksidan hanya pada bagian akar, batang dan daun sementara penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari buah lakum masih belum dilakukan. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan dari buah lakum dengan menggunakan pelarut n-heksan.

Pengujian potensi antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode ini mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya mudah, sederhana, cepat, reproduksibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel. Metode DPPH digunakan untuk memberikan informasi mengenai potensi antioksidan golongan senyawa yang diuji terhadap suatu radikal bebas yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} dengan vitamin C sebagai kontrol positifnya.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah lampu UV 366 nm (Merck tipe 1.13203.0001), dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu tipe 2450). Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah lakum, vitamin C (Kalbe Farma kode bahan No.13AV01100), larutan metanol *p.a* (Merck kode bahan No.1.06009.2500), larutan n-heksan teknis, 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).

Pembuatan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Proses ekstraksi dilakukan terhadap simplisia buah lakum. Sampel 2000 Gram, dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut n-heksan teknis 8000 mL, kemudian ditutup dengan aluminium foil. Maserasi dilakukan selama 5 hari, setiap 24 jam pelarut diganti dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan

residunya. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan disaring. Kemudian ekstrak n-heksan tersebut dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental⁷.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara KLT

Uji pendahuluan sebagai antioksidan penangkap radikal dilakukan dengan modifikasi yakni dengan cara kromatogram hasil KLT disemprot dengan larutan 0,2 % DPPH dalam metanol. Namun sebelum dilakukan penotolan pada lempeng KLT atau fase diam, terlebih dahulu lempeng diaktifkan pada oven dengan suhu 105°C selama 15 menit. Ekstrak metanol buah lakum ditotolkan pada lempeng KLT, yaitu silika gel 60 F₂₅₄ dengan luas 2 x 10 cm menggunakan pipa kapiler ukuran kecil, pada jarak kira-kira 1 cm dari bagian bawah. Penotolan dilakukan 2-3 kali total dan dibiarkan sampai kering. Lempeng yang telah ditotoli dikeringkan sebentar kemudian elusi dalam chamber pengelusi KLT dengan menggunakan fase gerak yang sesuai. Jarak elusi 8 cm, setelah dikembangkan sampai batas pengembangan, elusi dihentikan, lalu lempeng diambil dan diangin-anginkan sampai kering. Lempeng KLT kemudian disemprotkan dengan larutan DPPH. Senyawa aktif penangkap radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu⁸.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara KLT

Analisis hasil uji pendahuluan secara KLT dilihat dari perubahan warna. Uji positif apabila lempeng KLT menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2 %⁸.

Pengukuran Absorbansi Peredaman Radikal Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 1 mL ekstrak yang telah dilarutkan dalam metanol dengan berbagai konsentrasi 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, dan 600 µg/mL ditambahkan ke dalam 2 mL campuran metanol dan DPPH. Selanjutnya larutan dikocok dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar dan diletakkan di tempat yang gelap. Larutan ini

selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu 516 nm. Perlakuan yang sama dilakukan juga pada larutan blanko dan kontrol positif vitamin C⁹.

Data hasil pengukuran absorbansi digunakan untuk menghitung % inhibisi dengan menggunakan rumus:

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

Selanjutnya dilakukan perhitungan IC₅₀ yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi dari ekstrak uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50 persen melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa (sampel) uji (x) dengan persen inhibisi (y) dari seri replikasi pengulangan. Dimana akan didapat persamaan $y = bx + a$ dengan a sebagai intersep, b sebagai *slope*, dan nilai koefisien regresi linier (r) ± 1 yang selanjutnya dihitung dan diperoleh nilai IC₅₀⁹.

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 0,05 mg/ml, kuat apabila nilai IC₅₀ 0,05-0,10 mg/ml, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 0,10-0,15 mg/ml, dan lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 0,15-0,20 mg/ml¹⁰.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum dengan Maserasi

Maserasi dipilih sebagai proses ekstraksi dikarenakan mudah pengerjaannya, hasil yang didapat lebih banyak sehingga diharapkan dapat diperoleh rendemen yang lebih banyak. Senyawa antioksidan pada umumnya mudah rusak dengan ekstraksi cara panas, sehingga dengan ekstraksi cara dingin seperti maserasi ini diharapkan dapat mencegah terjadinya kerusakan senyawa-senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan.

Maserasi dilakukan didalam wadah kaca untuk mengurangi interaksi yang mungkin terjadi antara sampel dengan wadah. Proses maserasi dilakukan selama 1x24 jam dan berlangsung 5 hari, dilakukan penggantian larutan penyari tiap 24 jam dengan tujuan menghindari penjejukan. Ekstrak yang

dihasilkan pada awal ekstraksi berwarna kekuningan dan warna ini semakin menjadi bening pada hari kelima. Selanjutnya dipisahkan antara maserat dengan pelarutnya dengan cara evaporasi dan diperoleh rendemen sebesar 0,105 % b/b.

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksan buah lakum dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel (2). Hasil Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia	Metode Pengujian	Hasil
Alkaloid	Mayer	-
	Dragendorf	-
Flavonoid	Uji Wiltater sianidin (SerbukMg + HCl)	-
Tanin	+ FeCl ₃ 1%	-
Saponin	+ Air dan HCl	-
Triterpenoid		+
Steroid	Uji Lieberman Burchard	-
Fenolik	+ FeCl ₃ 1%	-

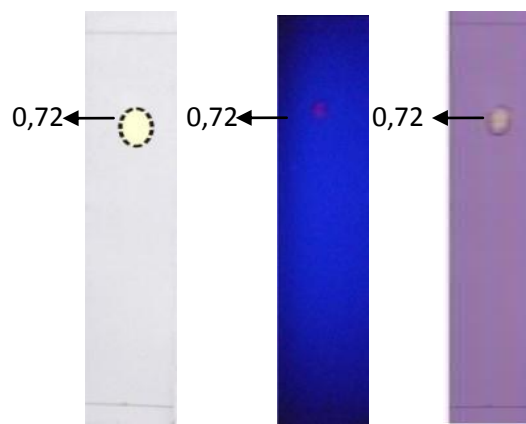
Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan buah lakum positif mengandung triterpenoid. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat pada ekstrak n-heksana bersifat non polar. Triterpenoid adalah golongan senyawa terpenoid, yang merupakan senyawa metabolit sekunder dengan kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik, yaitu skualena¹¹. Melihat dari sifat kelarutannya di dalam larutan penyari, diduga senyawa triterpenoid yang terdeteksi di dalam sampel bersifat non-polar. Perubahan warna yang terjadinya dikarenakan reaksi oksidasi pada golongan triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara KLT Menggunakan Larutan DPPH 0,2 %

Uji pendahuluan dilakukan untuk identifikasi awal suatu komponen senyawa yang terdapat didalam suatu sampel, sehingga memberikan gambaran untuk proses uji selanjutnya. Pengujian sebagai antioksidan penangkapan radikal dilakukan sesuai metode Demirezer dkk. (2010) dengan sedikit modifikasi dengan cara kromatogram hasil

kromatografi lapis tipis disemprot dengan larutan DPPH 0,2 % dalam metanol.

Fase diam yang digunakan pada KLT adalah silika gel 60 F254 dan fase gerak yang digunakan adalah campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan 3:1. Pemilihan fase gerak adalah dengan pertimbangan sifat kepolaran dari fase diam dan sampel. Perbandingan hasil KLT setelah ditotolkan ekstrak dengan setelah disemprot DPPH 0,2 % dapat dilihat pada gambar 1.

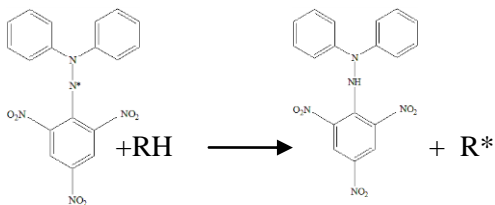


Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (a) Pengamatan Secara Visual (b) Pengamatan dibawah sinar UV 366 nm (c) Pengamatan Setelah disemprotkan DPPH

Saat pengamatan secara visual terlihat bercak berwarna kuning pada plat KLT. Hasil deteksi menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm, bercak pada plat hasil kromatografi terdeteksi dengan fluoresensi merah dan nilai Rf-nya sebesar 0,72. Nilai Rf tersebut berada dalam rentang nilai Rf yang menunjukkan maksimalnya pemisahan yaitu antara 0,2 - 0,8¹².

Berdasarkan hasil penyemprotan kromatogram hasil KLT dengan larutan DPPH 0,2 % dalam metanol, memberikan hasil uji positif sebagai antioksidan dengan menghasilkan bercak kuning yang terjadi secara spontan dengan latar belakang ungu pada satu bercak dan nilai Rf-nya sama dengan pengamatan secara visual maupun pengamatan di bawah sinar UV 366 nm yaitu 0,72. Terbentuknya bercak kuning setelah penyemprotan DPPH 0,2 % disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen didalam ekstrak n-heksan buah lakum, sehingga dapat mengakibatkan molekul

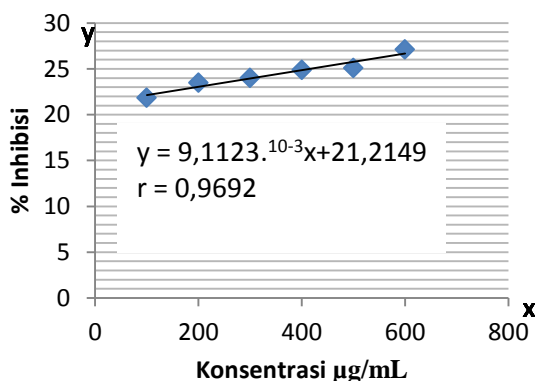
DPPH tereduksi yang diikuti dengan menghilangnya warna ungu dari larutan DPPH².



Gambar 2. Reduksi DPPH dari Senyawa Antioksidan.

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis

Dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan buah lakum dengan beberapa konsentrasi, yaitu 100 ppm; 200 ppm 300 ppm; 400 ppm; 500 ppm; dan 600 ppm. Tujuan dari pembuatan variasi konsentrasi ini adalah untuk mendapatkan persamaan regresi linear, sehingga diperoleh nilai IC₅₀ dari ekstrak n-heksan dan selanjutnya akan diperoleh gambaran mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak n-heksan buah lakum. Kurva regresi linier pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak n-heksan buah lakum ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan Buah Lakum

Berdasarkan kurva diatas, peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan besarnya % inhibisi, setelah dibuat persamaan regresi diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 3.158,928 µg/mL, artinya aktivitas antioksidannya sangat lemah. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ kurang dari 200 µg/mL, bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi

sebagai zat antioksidan¹⁰. Jika nilai IC₅₀ lebih dari 1000 µg/mL maka dapat dikatakan zat tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Hal ini dikarenakan pada saat uji pendahuluan dengan Penyemprotan DPPH 0,2 % pada kromatogram hasil KLT memberikan hasil yang positif yaitu dengan terbentuknya bercak kuning pucat dengan latar belakang ungu secara spontan pada plat, yang berarti sampel uji memiliki aktivitas antioksidan. Pada hasil uji pendahuluan sampel uji menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup baik, namun pada hasil uji dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Diduga penyebabnya adalah proses pelarutan ekstrak pada 2 pelarut yang berbeda, dimana pada uji pendahuluan, ekstrak n-heksan buah lakum dilarutkan kedalam pelarut n-heksan teknis sehingga terlarut cepat dan sempurna, namun pada uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis, ekstrak n-heksan buah lakum dilarutkan terlebih dahulu kedalam metanol *p.a* yang memiliki polaritas yang berbeda.

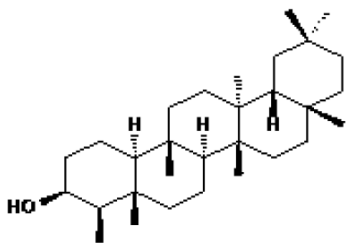
Jika dilakukan analisa terhadap kurva diatas, dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ yang diperoleh berada diluar kurva, hal ini dikarenakan nilainya lebih besar dibandingkan dengan jumlah konsentrasi. Namun nilai IC₅₀ tersebut dapat diketahui dengan mengekstrapolasikan kurva regresi linear dengan cara memasukkan jumlah peningkatan konsentrasi yang diinginkan kedalam persamaan regresi linear ($y = bx + a$) yang telah diperoleh. Cara mengekstrapolasikan kurva adalah dengan menghubungkan garis linear yang terbentuk melalui nilai (r) positif yaitu 0,9692, yang artinya garis linear tersebut mengarah naik keatas.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mikamo dkk., (2000), gugus samping yang berikatan pada suatu senyawa tertentu dapat mengakibatkan penghambatan aktivitas antioksidan, sehingga diduga pada senyawa triterpenoid terdapat gugus samping yang dapat mengakibatkan penghambatan aktivitas antioksidan. Hal tersebut mengakibatkan triterpenoid tidak dapat mendonasikan hidrogen dan elektron untuk menangkal radikal bebas. Pengubahan atom -H menjadi gugus metil (-CH₃) melalui reaksi metilasi dapat menurunkan aktivitas antioksidan, yang disebabkan

pengurangan atom -H yang merupakan sumber proton untuk penangkapan radikal bebas. Heim (2001) menyatakan kemampuan mendonasikan hidrogen dan elektron pada triterpenoid berbanding lurus dengan jumlah gugus hidroksil yang ada didalam molekul triterpenoid. Jadi lemahnya aktivitas antioksidan yang diperoleh karena jumlah gugus hidroksil dari triterpenoid yang sedikit.

Senyawa triterpenoid dapat memberikan aktivitas antioksidan dikarenakan senyawa triterpenoid memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion hidrogen. Ion hidrogen hanya memiliki satu buah proton dan tidak memiliki elektron, sehingga dalam penelitian ini elektron radikal yang terdapat pada atom nitrogen di senyawa DPPH berikatan dengan ion hidrogen sehingga menghasilkan DPPH yang tereduksi¹³. Hal ini berdasarkan juga pada penelitian yang dilakukan oleh Cui dkk., (2003), bahwa senyawa triterpenoid pada ekstrak etanol 80% *Inonotus obliquus* yang diuji dengan radikal DPPH memiliki aktivitas antioksidan. Faktor lain yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan senyawa triterpenoid diduga karena senyawa triterpenoid tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, sehingga senyawa triterpenoid tidak bisa menstabilkan struktur senyawanya akibat kehilangan elektron dari proses donor atom hidrogen.

Salah satu senyawa triterpenoid yang terdapat dalam daun lakum adalah triterpenoid epifriedelanol¹⁴. Senyawa triterpenoid epifriedelanol yang terdapat didalam daun lakum kemungkinan juga akan terdapat dalam buah lakum. Senyawa triterpenoid epifriedelanol pada strukturnya memiliki gugus hidroksil. Gugus hidroksil yang terdapat pada struktur triterpenoid epifriedelanol dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas. Struktur senyawa triterpenoid epifriedelanol dapat dilihat pada gambar 4 berikut¹⁵.

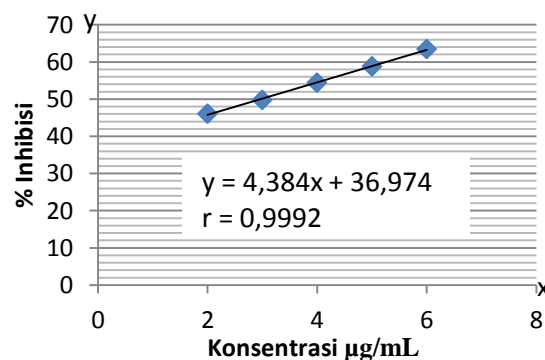


Gambar 4. Struktur senyawa triterpenoid epifriedelanol (Fei-Fei, 2012).

Berdasarkan gambar 4, struktur senyawa triterpenoid hanya memiliki satu gugus hidroksil bebas. Efektivitas antioksidan tergantung banyaknya gugus hidroksil bebas, sehingga diduga senyawa triterpenoid yang diperoleh memiliki efektivitas antioksidan yang lemah¹⁶.

Senyawa triterpenoid merupakan golongan metabolit sekunder yang didapatkan dari proses biosintesis. Biosintesis Metabolit sekunder merupakan produk samping dari hasil proses metabolisme primer. Berdasarkan pada macam-macam senyawa antara sebagai sumber prekursor, maka biosintesis metabolit sekunder dapat dikelompokkan menjadi beberapa jalur. Khususnya senyawa terpenoid dibiosintesis melalui jalur asam mevalonat. Senyawa triterpenoid dihasilkan melalui penggabungan ekor dan ekor dari unit C-15 atau C-20¹⁷. Menurut Harborne (1987), secara umum proses biosintesis senyawa triterpenoid dengan jalur mevalonat terdapat pada bagian daun tanaman, sehingga diduga lemahnya aktivitas antioksidan disebabkan kurangnya penyebaran senyawa triterpenoid yang bersifat non polar didalam buah lakum.

Hasil pengukuran absorbansi kemudian diolah dengan cara yang sama seperti perhitungan yang dilakukan pada ekstrak n-heksan buah lakum. Diperoleh nilai IC₅₀ dari kontrol positif vitamin C setelah perhitungan adalah sebesar 2,9712 µg/mL. Kurva regresi linier pengujian aktivitas antioksidan dari vitamin C ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Kurva Regresi Linier Pengujian Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Berdasarkan kurva diatas, peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan besarnya % peredaman. Setelah dibuat persamaan regresi diperoleh nilai IC₅₀ yang kecil, artinya aktivitas antioksidannya sangat kuat. Melihat nilai IC₅₀

dari ekstrak n-heksan buah lakum dengan nilai IC₅₀ dari vitamin C, menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan.

Penelitian lain yang menguji aktivitas antioksidan buah lakum telah dilakukan, yaitu dengan menggunakan ekstrak metanol, yang menunjukkan hasil lebih baik dibandingkan dengan ekstrak kloroform dan n-heksan. Pada penelitian tersebut ekstrak kloroform buah lakum memberikan nilai IC₅₀ sebesar 651,6582 µg/mL dengan hasil skrining fitokimianya positif terdapat senyawa steroid, alkaloid, flavonoid, fenolik, dan tannin¹⁸. Penelitian lain yang menggunakan ekstrak metanol buah lakum memberikan nilai IC₅₀ yang jauh lebih baik yaitu sebesar 318,621 µg/mL dengan hasil skrining fitokimianya positif terdapat senyawa triterpenoid, flavonoid, dan fenolik¹⁹. Jadi berdasarkan pengujian menggunakan pelarut metanol, kloroform, dan n-heksan diduga golongan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada buah lakum diperankan oleh golongan senyawa yang bersifat polar seperti flavonoid dan fenolik.

Berdasarkan hasil yang diperoleh melalui nilai IC₅₀, aktivitas antioksidan pada ekstrak n-heksan buah lakum sangat lemah, namun masih berpotensi jika dilakukan peningkatan konsentrasi sampel uji. Karena aktivitas antioksidan dari senyawa teriterpenoid yang terkandung didalam ekstrak n-heksan buah lakum tergolong lemah maka perlu dilakukan uji aktivitas farmakologi selain uji aktivitas antioksidan, seperti uji antibakteri.

KESIMPULAN

Ekstrak n-heksan buah lakum memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah namun masih berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ dari ekstrak n-heksan buah lakum berdasarkan pengukuran peredaman radikal bebas menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis adalah sebesar 3.158,928 µg/mL. Golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak n-heksan buah lakum adalah triterpenoid,

DAFTAR PUSTAKA

[1.] Silalahi J. 2006. *Antioksidan Dalam Diet dan Karsinogenesis*. Cermin Dunia Kedokteran. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

- [2.] Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories- Analytical Progress. Volume 19. Number 2. Hal 1-4.
- [3.] Zuhra, C.F., Tarigan, J.B., dan Sihotang, H. 2006. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. ISSN 1907-5537 Vol. 3, No. 1. Hal: 7.
- [4.] Yanita. 2011. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kadar Senyawa Fenolat Total Pada Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera* Linn.Var, Red Globe) dan Anggur Hijau (*Vitis vinifera* Linn. Var. Chinsiang). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Padang.
- [5.] Perumal, P.C., Sophia, D., Raj, C.A., Ragavendran, P., Starlin, T., Gopalakrishnan, V.K. 2012. In Vitro Antioxidant Activities and HPTLC Analysis of Ethanolic Extract of *Cayratia trifolia* (L.). *Asian Pacific Journal of tropical disease*. S952-S956.
- [6.] Pokornya J., Yanishlieva N and Gordon M .2001. *Antioxidants in food. Practical Applications*.1-123. Wood Publishing Limited. Cambridge. England.
- [7.] Voigt, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S., Yogyakarta: UGM Press., Hal 561; 567-569; 577.
- [8.] Demirezer, L.O., Kruuzum-Uz., A, Bergere., I, Schiewe., H.J, & Zeeck, A. 2001. The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source: Antraquinones and Tannin from *Roots of Rumex patientia*, *Phytochemistry*. Gupta AK, Sharma M. 2007. *Review On Indian Medical Plants*. New Dehli. Indian Council Of Medical Research. P. 879-882.
- [9.] Mosquera, Oscar. M, Yaned, M.C, Diana, C.B, Jaime, N. 2009. *Antioxidant Activity of twenty five plants from Colombian biodiversity*. Braz. J. Pharmacogn. Volume 19. Nomor 2A, Hal 382-387.

- [10.] Molyneux P. 2004. The use of the stable free radikal diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology* 26 (2): 211-219.
- [11.] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.
- [12.] Gandjar, G.H., dan Rohman, A. 2009. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- [13.] Gurav, S., Deshkar, N., Gulkari, V., Duragkar, N., dan Patil, A. 2007. Free Radical Scavenging Activity of *Polygala chinensis* Linn,n *Pharmacologyonline*, 2: 245-253.
- [14.] Gupta AK, Sharma M. 2007. *Review On Indian Medical Plants*. New Dehli. Indian Council Of Medical Research. P. 879-882.
- [15.] Fei-Fei Li, ZhiQin Guo, XingYun Chai, PengFei Tu. 2012. Triterpenoids from the stems of *Casearia velutina* Bl. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*.
- [16.] Cahyadi, W. 2008. *Analisis dan Aspek Kesehatan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- [17.] Dewick, P. M. 1999. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. John Wiley and Sons Ltd. England.
- [18.] Sulandi, A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- [19.] Ridho, A. E. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak.