

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

NASKAH PUBLIKASI



OLEH:

ERY AL RIDHO

NIM. I21109035

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

2013

NASKAH PUBLIKASI

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

Oleh :
ERY AL RIDHO
NIM. I21109035

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,

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

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

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

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

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

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

Ery Al Ridho¹, Rafika Sari², Sri Wahdaningsih³.

^{1,2,3}Program Studi Farmasi Fakultas kedokteran, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron (*electron donor*) kepada radikal bebas untuk menghambat reaksi radikal bebas. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah buah lakum (*Cayratia trifolia*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari buah lakum. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Buah lakum segar dimaserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak yang telah diuapkan pelarutnya kemudian dilakukan skrining fitokimia, hasil skrining fitokimia ekstrak menunjukkan positif mengandung flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Pada uji pendahuluan antioksidan secara KLT menggunakan fase diam silika gel F 254 dan fase gerak butanol : asam asetat: air (6:2:2), diperoleh hasil positif yang ditandai bercak berwarna kuning pucat setelah disemprot DPPH 0,2%. Ekstrak kental metanol buah lakum kemudian di uji aktivitas antioksidannya secara kuantitatif untuk memperoleh nilai IC₅₀ dari ekstrak menggunakan spektrofotometri UV pada λmaks 516 nm dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil pengukuran secara spektrofotometri menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah lakum mempunyai IC₅₀ sebesar 318,621 µg/mL, sedangkan vitamin C memiliki nilai IC₅₀ 2,97125µg/ml sehingga ekstrak metanol buah lakum memiliki aktivitas antioksidan yang lemah bila dibandingkan dengan vitamin C.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan, DPPH, Buah lakum, dan Ekstrak metanol.

ABSTRACT

Antioxidant is chemical compound that can give one or more electron (electron donor) to free radical which can obstruct free radical reaction. Lakum fruit (*Cayratia trifolia*) is one of the fruit which potentially as antioxidant. The aim of this research is to know antioxidant activity of lakum fruit (*Cayratia trifolia*). Antioxidant activity test was done by using DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrihydrazil) method. Fresh lakum fruit was macerate by using methanol. Methanol extract, which had been vaporized, was tested its phytochemical compound with phytochemical screening test. Phytochemical screening result show that extract of lakum fruit contained flavonoid, phenolic and triterpenoid compound. Extract followed by antioxidant activity preface test in a TLC (Thin Layer Chromatograph) manner with Silica Gel F 254 as stationary phase and combination of butanol : Acetate acid : water (6:2:2) as mobile phase. Antioxidant activity preface test by using KLT results yellow spot after sprayed DPPH 0,2 % . Methanol extract of lakum fruit was tested antioxidant activity quantitatively to get its IC₅₀ value by using Uv-Vis Spectrophotometri. Vitamin C was used as positive control. Spectrophotometri measurement result showed that lakum extract's IC₅₀ value was 318,621 µg/mL while vitamin C IC₅₀ value was less than lakum extract's IC₅₀ value (2,97125µg/ml). So methanol extract of lakum fruit had lower antioxidant activity than vitamin C.

Keyword : Antioxidant activity, DPPH, Lakum fruit, and Methanol extract.

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai gudang tumbuhan berkhasiat obat. Penggunaan berbagai jenis tumbuhan di Indonesia sebagai tanaman obat tradisional telah lama dikenal oleh masyarakat jauh sebelum perkembangan obat-obatan sintetik. Penggunaan obat-obatan tradisional kembali meningkat seiring dengan kesadaran masyarakat terhadap dampak yang ditimbulkan dari penggunaan obat-obatan sintetik sehingga masyarakat banyak yang beralih dari mengkonsumsi obat-obatan sintetik ke obat-obatan tradisional. Kekayaan alam tumbuhan di Indonesia meliputi 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia, 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat (jumlah ini merupakan 90% dari jumlah tumbuhan obat di Asia)¹.

Kalimantan Barat yang berada di garis khatulistiwa dengan iklim tropis yang dimilikinya memiliki berbagai jenis tumbuhan yang mungkin akan memiliki khasiat dan efek farmakologi yang sangat bermanfaat bagi perkembangan pengobatan alternatif. Penelitian mengenai aktivitas farmakologi tumbuhan yang terdapat di Kalimantan Barat perlu dilakukan sebagai salah satu usaha eksplorasi Pengobatan bahan alam sehingga dengan demikian akan banyak tumbuhan yang teridentifikasi dan memiliki data ilmiah yang lengkap.

Radikal bebas merupakan atom atau gugus yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan, seperti asap rokok, obat, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan lain-lain². Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron (*electron donor*) kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas tersebut dapat terhambat. Senyawa ini memiliki berat molekul yang kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal².

Buah lakum (*Vitis trifolia*) merupakan tanaman liar yang banyak terdapat di hutan Kalimantan Barat. Buah lakum memiliki kedekatan taksonomi dengan buah anggur (*Vitis vinifera*) yaitu termasuk dalam genus yang sama (*Vitis*). Berdasarkan penelitian oleh Xia dkk. (2010), buah anggur mengandung senyawa flavonoid seperti quersetin, myrisetin,

dan kaemferol yang memiliki aktivitas antioksidan³. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kumar dkk. (2012), kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun lakum yaitu steroid, terpenoid, flavonoid dan tanin⁴. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari lakum juga pernah dilakukan oleh Perumal dkk. (2012), pada ekstrak etanol seluruh bagian tanaman (bagian daun, batang dan akar) dengan IC₅₀ sebesar $74 \pm 0,83 \mu\text{g/mL}$ ⁵.

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. Sehubungan dengan itu maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari buah lakum. Hal ini didasarkan pada kedekatan taksonomi dan penelitian terdahulu dari tanaman lakum, sehingga kemungkinan besar buah lakum akan memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari buah lakum dilakukan menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dengan pelarut metanol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol buah lakum.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex), cawan krusibel (Pyrex), cawan penguap (Pyrex), desikator (Pyrex), lampu UV 366 nm (Merck tipe 1.13203.0001), oven (Modena tipe BO 3633), *rotary evaporator* (Heidolph tipe Hei-VAP), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu tipe 2450), dan *waterbath* (Mettler tipe WNB14).

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 metanol teknis, larutan n-butanol *p.a*, as.asetat, akuades, larutan FeCl₃ 1%, larutan NaCl 10%, 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 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) *p.a* (Sigma-Aldrich kode bahan No.D9132-1G).

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Lakum

Sampel berupa buah lakum segar dirajang dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol teknis. Simplisia segar buah lakum yang digunakan sebanyak 500 g dan pelarut metanol yang digunakan untuk maserasi adalah 4 liter. Maserasi dilakukan selama 3 hari, setiap 24 jam pelarut diganti dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Kemudian filtrat disaring dan dipekatkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Secara KLT

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan ekstrak metanol sebagai penangkap radikal bebas dilakukan sesuai metode Demirezer dkk. (2001) dengan sedikit modifikasi⁶. 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 9 cm. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi yaitu butanol : as. asetat : air (6:2:2) sebanyak 2 mL. Bercak yang terbentuk diamati dengan sinar tampak, lampu UV 366 nm, dan pereaksi DPPH 0,2%. Kromatogram diperiksa 30 menit setelah penyemprotan. Senyawa aktif penangkap radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu.

Pengukuran Absorbansi Peredaman Radikal Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Uji aktivitas antioksidan penangkap radikal ekstrak metanol dilakukan dengan metode DPPH sesuai yang digunakan Molyneux (2004) dengan sedikit modifikasi⁷. Sebanyak 1 mL ekstrak metanol dengan konsentrasi 50 µg/mL, 75 µg/mL, 100 µg/mL, 125 µg/mL dan 150 µg/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 larutan blanko (larutan DPPH

yang tidak mengandung bahan uji) dan kontrol positif vitamin C dengan konsentrasi 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL, dan 6 µg/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.

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

Keterangan :

A = Nilai absorbansi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Lakum

Ekstraksi buah lakum menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi dipilih karena prosesnya mudah dan tidak menggunakan suhu tinggi yang mungkin dapat merusak senyawa-senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang terdapat dalam simplisia buah lakum^{8,9}.

Hasil dari proses maserasi berupa maserat yang diperoleh sebanyak 3,6 Liter dari 4 liter pelarut metanol. Maserat yang diperoleh berwarna ungu 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 metanol dapat dilakukan dibawah titik didihnya yaitu pada suhu 55°C. Proses ini dilakukan pada suhu tersebut untuk menjaga senyawa aktif yang terkandung tidak rusak karena pemanasan. Hasil proses maserasi ekstrak metanol buah lakum diperoleh rendemen dari ekstrak metanol adalah 5,322%.

Skrining fitokimia ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji tabung yaitu mereaksikan sampel dengan larutan pereaksi spesifik untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Berikut merupakan tabel (1) hasil skrining fitokimia buah lakum.

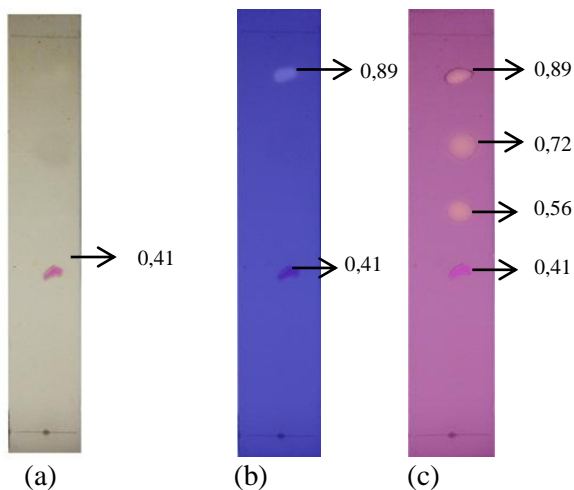
Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Ket
Alkaloid	Mayer & Dragendorff	Tidak terbentuk endapan putih dan merah bata	-
Flavonoid	HCL pekat dan Mg	Merah Tua	+
Saponin	Aquades	Tidak terbentuk busa	-
Triterpen	Lieberman-Burchad	Merah tua	+
Fenolik	FeCl ₃	Biru hitam	+
Tanin	FeCl ₃ dan Gelatin	Tidak terbentuk endapan	-

Berdasarkan hasil pemeriksaan skrining fitokimia diketahui bahwa ekstrak metanol buah lakum memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, triterpenoid dan fenolik.

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 metanol buah lakum yang telah ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dengan menggunakan mikropipet, dilusi menggunakan fase gerak butanol, asam asetat dan air (BAA) dengan perbandingan (6:2:2). Berikut adalah gambar hasil kromatogram dari ekstrak metanol buah lakum.



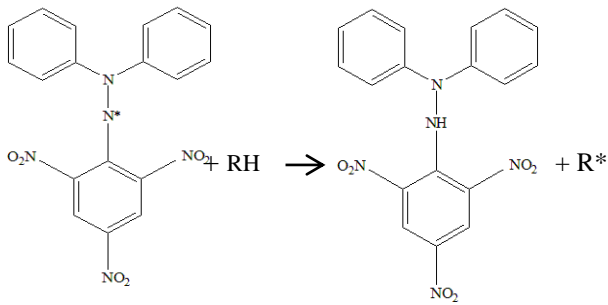
Gambar 1. Kromatogram Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Secara KLT. (a) Penampakan secara Visual, (b) dengan sinar UV 366 nm, (c) dengan larutan DPPH 0,2%.

Pada gambar di atas hasil pemisahan plat kromatogram dihasilkan 4 spot yang memisah dengan nilai Rf 0,89; 0,72; 0,56; dan

0,41. Pengamatan hasil kromatografi pada gambar 1 di atas dilakukan dengan 3 cara yaitu secara visual, fisika dan juga kimia. Menurut gandar dan rohman (2009) bercak pada pemisahan KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna sehingga untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia maupun fisika¹⁰. Pengamatan secara fisika yang dilakukan untuk menampakkan bercak pada penelitian ini adalah dengan menggunakan sinar Ultraviolet 366 nm. Pengamatan dengan menggunakan sinar UV pada 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.

Pada pengamatan secara UV dari hasil kromatogram gambar 1 hanya bercak pada Rf 0,89 yang dapat terdeteksi menggunakan lampu UV 366 nm, sedangkan bercak pada Rf 0,56 dan 0,72 tidak tampak secara UV, hal ini karena senyawa tersebut kemungkinan memiliki panjang gelombang dibawah rentang panjang gelombang UV 200-400 nm sehingga senyawa yang panjang gelombangnya berada dibawah 200 nm tidak akan berfluoresensi ketika disinari dengan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm¹⁰. Pengamatan secara kimia adalah dengan menggunakan pereaksi kimia tertentu seperti pada penelitian ini yang menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,2% untuk mendeteksi bercak pada uji pendahuluan aktivitas antioksidan.

Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada hasil pemisahan kromatografi di atas yaitu pada Rf 0,55; 0,72; dan 0,89. Pada ketiga nilai Rf tersebut setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2%, menunjukkan hasil positif sebagai antioksidan yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pucat dengan latar ungu setelah disemprot dengan pereaksi semprot DPPH 0,2%. Terbentuknya bercak kuning setelah penyemprotan DPPH 0,2% disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen di dalam ekstrak metanol buah lakum, sehingga dapat mengakibatkan molekul DPPH tereduksi yang diikuti dengan perubahan warna ungu dari larutan DPPH menjadi kuning bening¹¹. Struktur DPPH dan DPPH tereduksi hasil reaksi dengan antioksidan dapat dilihat pada gambar 2.



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

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH dengan Spektrofotometer UV-Vis

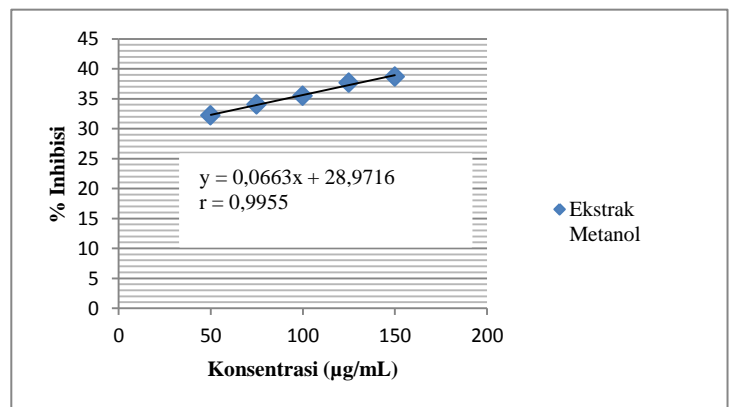
Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron ⁷.

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 IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi⁷. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam ¹². Pada tabel 3 berikut merupakan hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum secara spektrofotometri.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% inhibisi	Persamaan (y = bx + a)	IC (µg/mL)
Blanko	0,961	0		
50	0,65154	32,201		
75	0,63405	34,021	y = 0,0663x + 28,9716	318,62
100	0,62008	35,475	r = 0,9955	
125	0,59908	37,660		
150	0,58933	38,675		

Nilai IC_{50} ekstrak metanol buah lakum didapat dari hasil perhitungan persamaan regresi linier pada tabel 3 di atas, dimana persamaan regresi dari ekstrak metanol yang didapat pada tabel 3 di atas adalah $y = 0,0663x + 28,9716$ dan $r = 0,9955$. Koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai IC_{50} , sedangkan koefisien x pada persamaan ini adalah konsentrasi dari ekstrak yang akan dicari nilainya, dimana nilai dari x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Nilai $r = 0,9955$ yang mendekati +1 (bernilai positif) menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin besar aktivitas antioksidannya hal ini dapat dilihat dari kurva hubungan konsentrasi ekstrak metanol buah lakum terhadap persen inhibisi pada gambar 3 berikut ⁷.

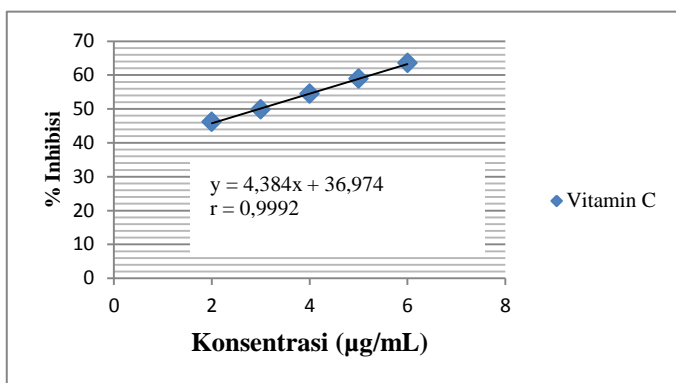


Gambar 3. Kurva Regresi Linier Ekstrak Metanol Buah Lakum

Nilai IC₅₀ ekstrak metanol buah lakum berdasarkan hasil perhitungan yang didapat adalah sebesar 318,621 µg/mL. Menurut Molyneux (2004), bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 µg/mL, dimana zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan⁷.

Nilai IC₅₀ Ekstrak metanol buah lakum jika dilihat pada kurva gambar 3 di atas berada diluar konsentrasi dimana konsentrasi tertinggi dari ekstrak 150 µg/mL hanya mampu menghambat 38,675% radikal DPPH, sedangkan nilai IC₅₀ ekstrak yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal DPPH berdasarkan perhitungan adalah 318,621 µg/mL sehingga nilai IC₅₀ ekstrak metanol berada diluar kurva, dengan demikian kurva ekstrak metanol buah lakum tergolong kurva ekstrapolasi¹³.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air². Penggunaan kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak metanol buah lakum jika dibandingkan dengan vitamin C. Apabila nilai IC₅₀ sampel sama atau mendekati nilai IC₅₀ kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan yang sangat kuat. Pada Gambar 4 berikut merupakan kurva regresi linier dari vitamin C yang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis



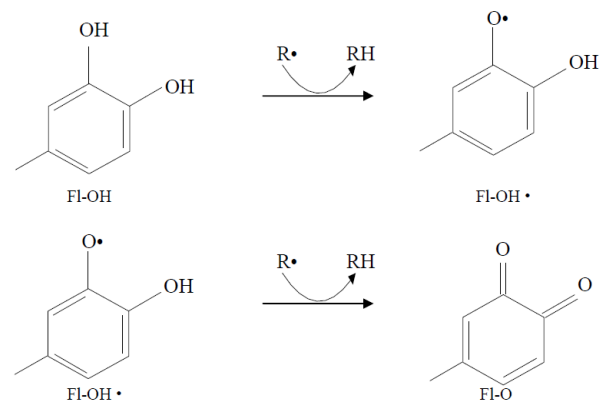
Gambar 4. Kurva Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Menurut Molyneux (2004), menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 µg/mL. dimana zat

tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan⁷. Dari hasil perhitungan didapat nilai IC₅₀ vitamin C adalah 2,97125 µg/mL, sedangkan nilai IC₅₀ dari ekstrak adalah sebesar 318,621 µg/mL sehingga buah lakum memiliki aktivitas antioksidan yang lemah bila dibandingkan dengan vitamin C.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang didapat, Golongan senyawa yang diduga berpotensi sebagai antioksidan didalam ekstrak metanol buah lakum diantaranya adalah flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Senyawa fenolik, flavonoid dan triterpenoid pada strukturnya mengandung gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas, sehingga senyawa fenolik, flavonoid, dan triterpenoid berpotensi sebagai antioksidan.

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas, dimana R• merupakan senyawa radikal bebas, FI-OH merupakan senyawa flavonoid sedangkan FI-OH• merupakan radikal flavonoid¹⁴. Reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa flavonoid seperti dalam Gambar 5 berikut.



Gambar 5. Mekanisme Peredaman Radikal oleh Flavonoid (Kandaswami dan midelton, 1997).

Buah lakum tergolong antioksidan yang lemah. Lemahnya aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol buah lakum disebabkan oleh beberapa faktor, faktor yang pertama adalah senyawa flavonoid

yang terdapat dalam ekstrak metanol buah lakum dalam keadaan tidak murni diduga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol buah lakum masih berikatan dengan gugus glikosida. Faktor kedua yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum diduga senyawa yang terdapat dalam ekstrak adalah flavonoid golongan flavonon.

Faktor pertama yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol buah lakum adalah senyawa flavonoid masih dalam bentuk ekstrak yang tidak murni sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kemungkinan masih berikatan dengan gugus glikosida karena gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Menurut Fukumoto dan Mazza (2000) Aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan akan menurun dengan adanya gugus glikosida¹⁵. Senyawa flavonoid di alam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikon flavonoid. Menurut Harborne (1987) bahwa flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal/ aglikon flavonoid, oleh karena itu untuk menganalisis flavonoid lebih baik untuk menghidrolisis glikosida yang terikat pada flavonoid tersebut sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang mungkin terdapat dalam ekstrak asal¹⁶.

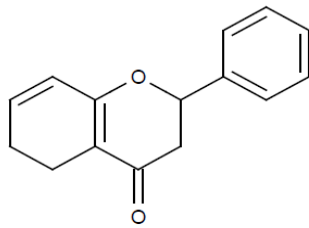
Berdasarkan hasil reaksi skrining fitokimia, dimana setelah dilakukan pengujian *wilstater* dengan menggunakan HCl dan Mg, ekstrak metanol yang semula berwarna ungu kemudian berubah warna menjadi warna merah tua setelah pengujian *wilstater* tersebut. Warna asal ekstrak yang semula berwarna ungu diduga masih mengandung gugus glikosida sedangkan warna merah ekstrak setelah dilakukan uji *wilstater* menandakan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak sudah berada dalam bentuk aglikonnya. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, sehingga mudah dideteksi dalam¹⁶. Adanya gugus OH yang termetilasi atau terikat dengan glikosida, menyebabkan flavonoid tersebut -

tidak dapat teridentifikasi dengan pereaksi yang bersifat basa seperti Mg, amoniak, NaOH, AlCl₃, dan sitroborat^{17, 12}. Untuk itu perlu dilakukan hidrolisis glikosida dari flavonoid glikosida. Mekanisme reaksi hidrolisis glikosida dari flavonoid yang mungkin terjadi pada pengujian *wilstater* dengan menggunakan reagen HCl dan Mg.

Penambahan HCl bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon flavonoid dengan cara menghidrolisis o-glikosil. Glikosil yang terhidrolisis ini akan tergantikan dengan atom H⁺ dari asam yang memiliki sifat keelektronegatifan yang kuat. Serbuk Mg yang ditambahkan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah. Ion magnesium ini diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak sehingga muncul larutan yang berwarna merah.

Faktor kedua yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum yaitu diduga senyawa yang terkandung didalam ekstrak metanol buah lakum kemungkinan adalah flavonoid golongan flavonon. Dugaan bahwa terdapat senyawa flavonon didalam ekstrak metanol buah lakum adalah ini berdasarkan hasil skrining fitokimia dari ekstrak metanol buah lakum. Dugaan ini juga diperkuat oleh Harborne (1987), bahwa senyawa flavonon memiliki ciri khas berwarna merah kuat bila direaksikan dengan Mg/HCl¹⁶.

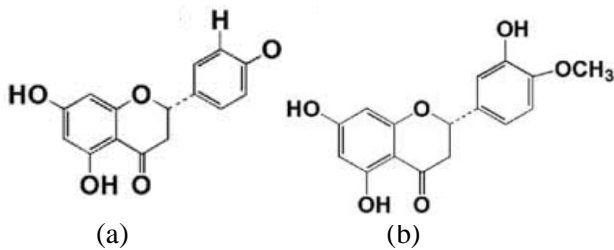
Senyawa flavonon menurut Burda dan Oleszek tahun 2001 pada umumnya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah¹⁸. Faktor yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan pada senyawa flavonon pada umumnya disebabkan oleh gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonon hanya sedikit dan pada cincin C flavonon tidak memiliki ikatan ganda pada ikatan 2-3 gugus 4-okso, sehingga kemungkinan besar untuk menstabilkan struktur senyawanya yang kehilangan elektron dari proses donor hidrogen dalam struktur senyawa flavonon tidak terjadi dengan demikian senyawa golongan flavonon pada umumnya memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lemah¹⁸. Pada Gambar 6 berikut merupakan struktur senyawa flavonon¹⁷.



Flavanones

Gambar 6. (a) Struktur senyawa flavanon (Mabry dkk., 1970).

Tidak semua senyawa golongan flavanon memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Senyawa flavanon yang memiliki aktivitas antioksidan kuat diantaranya adalah naringenin, hesperitin. Naringenin dan hesperitin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dimana IC_{50} dari senyawa naringenin adalah 2,73 $\mu\text{g/ml}$, dan hesperitin adalah 3,13 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat ini karena pada strukturnya senyawa naringenin dan hesperitin memiliki banyak gugus hidroksil yang banyak pada struktur senyawanya, hal ini dapat dilihat pada gambar 19 berikut¹⁹.

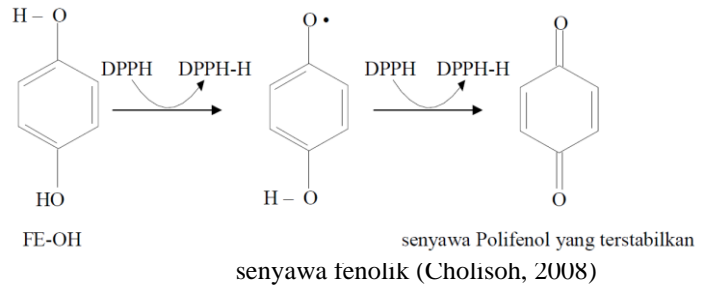


Gambar 7. (a) Struktur senyawa naringenin, (b) struktur senyawa hesperitin (Di majo dkk., 2005)

Senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak metanol buah lakum juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan hal ini karena pada strukturnya terdapat gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga radikal senyawa fenolik dapat meredam radikal bebas. Lemahnya aktivitas antioksidan senyawa fenolik dalam ekstrak metanol buah lakum kemungkinan senyawa fenolik ini masih terikat dengan gugus glikosida.

Menurut Harborne (1987), bahwa senyawa fenolik sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida, jadi dengan adanya

gugus glikosida yang berikatan dengan senyawa fenolik menyebabkan aktivitas antioksidan senyawa fenolik dalam ekstrak metanol buah lakum ini lemah¹⁶. Mekanisme dari senyawa fenolik dalam meredam radikal bebas dapat dilihat pada gambar 8 berikut²⁰.

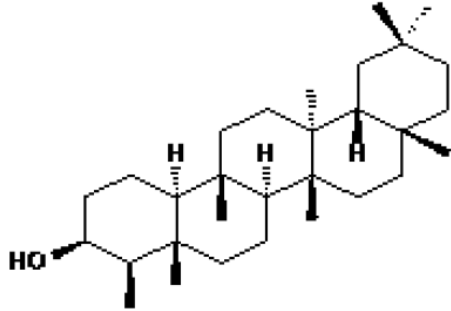


Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang tersusun atas 6 unit isoprene (C_{30} hidrokarbon)¹⁶. Senyawa golongan triterpenoid yang terdapat didalam ekstrak metanol buah lakum diduga memiliki aktivitas antioksidan, dimana senyawa triterpenoid pada strukturnya memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas. Hal ini berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ismarti (2011), bahwa senyawa triterpenoid pada kulit batang meranti merah (*Shorea singkawang* (Miq).Miq) yang diuji dengan radikal DPPH memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 82 ppm²¹.

Senyawa triterpenoid yang terdapat dalam ekstrak metanol buah lakum memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Faktor yang mungkin menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan senyawa triterpenoid diduga karena senyawa triterpenoid yang terdapat dalam ekstrak metanol buah lakum masih dalam bentuk tidak murni seperti halnya pada senyawa flavonoid dan fenolik yang terikat dengan glikosida dan juga pada struktur senyawanya kemungkinan senyawa triterpenoid tidak memiliki banyak gugus hidroksil sehingga senyawa triterpenoid ini tidak dapat mendonorkan banyak atom hidrogennya untuk meredam radikal bebas.

Salah satu senyawa triterpenoid yang terdapat dalam daun lakum adalah triterpenoid epifriedelanol²². 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 7 berikut²³.



Gambar 9. Struktur senyawa triterpenoid epifriedelanol (Fei-Fei, 2012).

Penelitian lain mengenai uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH pada pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya juga telah dilakukan. Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak kloroform buah lakum yang dilakukan oleh Sulandi (2013), didapat IC_{50} sebesar 651,6582 $\mu\text{g/mL}$, dimana metabolit sekunder yang terkandung yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik dan tannin²⁴. Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak n-heksan buah lakum yang dilakukan oleh Satria (2013), didapat nilai IC_{50} sebesar 3.158,928 $\mu\text{g/mL}$ dimana kandungan metabolit sekunder pada ekstrak n-heksan buah lakum hanya triterpenoid²⁵.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan adalah flavonoid dan fenolik sedangkan senyawa triterpenoid tidak berpotensi sebagai antioksidan karena nilai IC_{50} dari triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak n-heksan diatas 1000 $\mu\text{g/mL}$ ⁷. aktivitas antioksidan ekstrak metanol yang lemah ini disebabkan karena senyawa tersebut masih dalam keadaan tidak murni, sehingga perlu dilakukan fraksinasi dengan harapan agar didapat nilai IC_{50} dari senyawa spesifik yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat bila dibandingkan dengan ekstrak yang tidak murni.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol buah lakum memiliki aktivitas sebagai antioksidan, hal ini dapat

dilihat dari hasil uji pendahuluan secara KLT dimana bercak yang dihasilkan ketika disemprot dengan pereaksi DPPH 0,2 % warna bercak tersebut berubah menjad kuning keputihan. Nilai IC_{50} Ekstrak metanol adalah 318,621 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan nilai IC_{50} vitamin C adalah 2,971 $\mu\text{g/mL}$, sehingga ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan yang lemah bila dibandingkan dengan vitamin C.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Departemen Kehutanan Republik Indonesia. 2010. (<http://www.dephut.go.id>) diakses tanggal 9 maret 2013.
- [2] Winarsi,H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- [3] Xia, En-Qin., Deng, Giu-Fang., Li, Hua-Bin. 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol.Sci.*11: 622-646
- [4] Kumar,D.,Jyoti,G., Sunil, K., Renu, A., Tarun, K., Ankit, G. 2012. Pharmacognostic evaluataion of *Cayratia trifolia* (Linn) Leaf.*Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.
- [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] Demirezer,L.O., Kruuzum-Uz., A, Bergere., I, Schiewe., H.J, and Zeeck, A. 2001. The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source :Antraquinones and Tannin from *Roots of Rumex patientia*, *Phytochemistry*.
- [7] Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radikal diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.

- [8] Ansel, H.C., 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Jakarta: Penerbit UIPress, hal. 605-606, 608.
- [9] Voigt,R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S. Yogyakarta: UGM Press,. Hal 561; 567-569; 577.
- [10] Gandjar, G.H, dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- [11] Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories-Analytical Progress. Volume 19. Nomor 2.Hal 1-4.
- [12] Robinson, T., 1983. *The Organic Constituents of Higher Plants Their Chemistry and Interrelationships*, 5th Ed., 200, Cordus Press., North Amherst.
- [13] Sudjana. 2002. *Metoda Statistika*. Tarsito : Bandung
- [14] Kandaswami, C and Middleton, E. 1997. *Flavonoids as antioxidant*, In F. Shahidi (Ed). *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign Illions : AOCS Press.
- [15] Fukumoto, LR dan mazza g. 2000. *Assesing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds*. *J agric food* 48 (8):3597-3604
- [16] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung : Penerbit ITB.
- [17] Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoid*, 50, 52, Springer-Verlag, Berlin.
- [18] Burda dan oleszek W. 2001. *Antioxidant and antiradical activities of flavonoid*. *J agric food chem* 49 (6):2774-2779.
- [19] Danila Di Majo a, Marco Giammanco a, Maurizio La Guardia, Elisa Tripoli, Santo Giammanco , Enrico Finotti. 2005. *Flavanones in Citrus fruit: Structure–antioxidant activity relationships*. *Food Research International* (2005) 1161–1166
- [20] Cholisoh, Z. 2008. *Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (Archidendron jiringa)*. *Jurnal Fakultas Farmasi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [21] Ismarti. 2011. *Isolasi triterpenoid dan uji antioksidan dari fraksi etil asetat kulit batang meranti merah (shorea singkawang (miq).miq)*. *Artikel*. Program studi kimia pascasarjana universitas andalas
- [22] Gupta AK, Sharma M. 2007 *Review on indian medical plants*. New Delhi. *Indian Council of Medical Research*. P. 879-882
- [23] Fei-Fei Li , ZhiQin Guo , XingYun Chai , PengFei Tu. 2012. *Triterpenoids from the stems of Casearia velutina Bl*. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*.
- [24] Sulandi, Aji. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil)*. *Skripsi*
- [25] Satria, M.D. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksan dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil)*. *Skripsi*.

