

## KEMAMPUAN PENGHAMBATAN RADIKAL BEBAS EKSTRAK METANOL DAUN SEPAT (*Mitragynaspeciosa*)

Submitted : 12 Januari 2020

Edited : 15 Juni 2020

Accepted : 25 Juni 2020

Rakhmadhan Niah\*, Novia Ariani

Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin

Email : nia.rachma91@gmail.com

### ABSTRACT

*Leaves Sepat (Mitragynaspeciosa) is a plant of Kalimantan. These plants are often used traditionally to reduce blood sugar and antibacterial. The effectiveness is related with strong antioxidant activity in flavonoid compounds. Flavonoid compounds work through the mechanism of capturing free radicals, reducing oxidative stress. The purpose of this study was to measure the percentage of free radical inhibition in the hand sanitizer of methanol extract of leaves Sepat (Mitragynaspeciosa). Sample extraction by maceration method using methanol. Qualitative analysis of chemical compounds with certain eluents using Thin Layer Chromatography (TLC). The antioxidant activity test using the DPPH immersion method (1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazil) measured absorption at a wavelength of 517 nm. The largest percentage of free radical inhibition was obtained in a hand sanitizer concentration of 80 ppm, which is 51.07 ppm.*

**Keywords :** *Leaves Sepat, DPPH, HandSanitizer*

### PENDAHULUAN

Radikal bebas yang tinggi didalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan fungsi ginjal dan organ lain. Penyakit diabetes, stres oksidatif yang diperantarai hiperglikemia memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit<sup>(1)</sup>. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh<sup>(2)</sup>. Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan<sup>(3)</sup>. Antioksidan merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal maupun berasal dari asupan luar tubuh. Salah satu sumber senyawa antioksidan

adalah tanaman dengan kandungan senyawa flavonoid yang tinggi. Salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid adalah Daun Sepat (*Mitragyna Speciosa*)<sup>(4)</sup>.

Daun sepat (*Mitragynaspeciosa*) merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di Kalimantan Selatan. Secara empiris daun sepat digunakan sebagai antioksidan yang pada tumbuhannya terdapat senyawa flavonoid<sup>(5)</sup>. Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui IC<sub>50</sub> ekstrak metanol daun sepat adalah 34.70 µg/mL<sup>(6)</sup>. Selain itu, ekstrak daun sepat juga berpotensi sebagai antibakteri, terutama bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak daun sepat yang digunakan pada zona hambat dan zona bunuh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 24-30%<sup>(7,8)</sup>. Ekstrak daun sepat diduga berpotensi dibuat sediaan *hand sanitizer*. Sediaan tersebut mudah diaplikasikan dan dalam dipasarkan dengan

harga terjangkau. Namun sediaan *hand sanitizer* pada umumnya menyebabkan kulit kering dan iritasi. Salah satu cara mengatasi hal tersebut adalah membuktikan bahwa ekstrak daun sepat yang dibuat *hand sanitizer* memiliki aktivitas antioksidan. Hal tersebut dikarenakan, sediaan yang memiliki aktivitas antioksidan dapat melindungi kulit.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain blender (Philips HR 2115 Blender tango Plastik), vorteks (lokal), rotary evaporator (Heidolph Instrument Laborota 4000), spektrofotometer UV-Vis (U-2800 Hitachi), timbangan analitik (Ohaus), dan alat gelas (Pyrex). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sepat daerah Barabai Kalimantan Selatan. Bahan lain yang digunakan yaitu metanol p.a (Merck), kuarsetin, dan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) (Sigmaaldrich).

### Penyiapan Simplisia

Tahap pendahuluan adalah dengan melakukan pengolahan simplisia. Simplisia tersebut dihaluskan hingga lolos mesh 60. Serbuk kering ditimbang dengan menghitung rendemen simplisia. Serbuk simplisia diuji secara analisis kualitatif/Skrining Fitokimia<sup>(9)</sup>. Serbuk daun kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak kental yang diperoleh dihitung persentase rendemennya<sup>(10)</sup>.

### Identifikasi kandungan kimia Flavonoid (kuersetin)

#### Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Buat fase gerak n-heksan : etil asetat (6:4). Untuk fase diam, potong silica gel dengan ukuran 10x6cm. Elusikan fase gerak hingga jenuh. Ambil 10 mg ekstrak metanol daun sepat dan larutkan dalam 1 ml metanol. Totolkan

ekstrak dan kuersetin dengan bantuan pipa kapiler di titik yang berbeda. Elusikan dengan fase gerak yang sudah jenuh. Setelah mencapai garis maksimum, keringkan lalu lihat hasil pada UV 254 nm dan 366 nm. Hitung nilai Rf pada masing-masing titik.

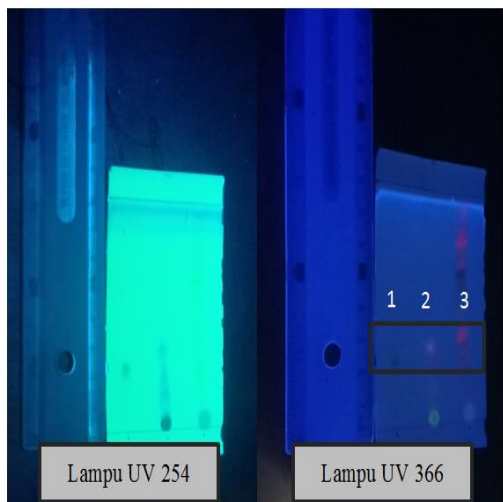
### Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Hand Sanitezer

DPPH (1,1-diphenyl 2 picrylhydrazyl) dibuat larutan stok 80 ppm. Buat konsentrasi sampel sediaan *hand sanitizer* 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm. Masing-masing sampel uji diambil 2 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tambahkan larutan DPPH sebanyak 2 mL, kemudian dikocok dan diinkubasi selama  $\pm 15$  menit. Hitung serapan menggunakan spektrometer UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm<sup>(11)</sup>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengatasi kerusakan akibat radikal bebas yang dapat berperan mencegah berbagai macam penyakit. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, hasil determinasi menunjukkan species dari daun kayu sepat adalah *Mitragynaspeciosa*. Daun sepat dikeringkan menggunakan oven dengan suhu yang konstan. Pengeringan dilakukan untuk mencegah terjadinya reaksi enzimatik (aktivitas mikroba) dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama dan lebih tidak mudah rusak sehingga komposisi kimianya tidak mengalami perubahan. Serbuk daun kayu sepat yang didapat sebanyak 300 gram. Susut pengeringan yang diperoleh dari pengolahan simplisia

tersebut adalah 0,67 %. Susut pengeringan tersebut menjadi indikator tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Adapun ekstrak kental yang diperoleh adalah ekstrak metanol daun sepat sebesar 17,00%.



Gambar 1. Hasil KLT Ekstrak Metanol Daun Sepat

Skrining fitokimia profil senyawa yang dilakukan meliputi uji alkaloid, antrakinon, polifenol, tanin dan uji saponin. Digunakan uji fitokimia karena dapat mendeteksi komponen bioaktif yang tidak terbatas hanya pada metabolit sekunder saja, tetapi terhadap metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional, seperti protein dan peptida<sup>(12)</sup>. Pengujian polifenol menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya perubahan warna ekstrak menjadi warna hijau kehitaman setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$ , warna positif pada pengujian karena terbentuknya kompleks  $\text{Fe}^{3+}$  dengan fenol<sup>(13)</sup>. Analisis kuantitatif juga dilakukan menggunakan KLT, untuk menganalisis kandungan flavonoid. Uji kualitatif menggunakan parameter Rf (*retardation factor*). Fase diam yang digunakan pada percobaan ini adalah

*silica gel*, karena sedikit bersifat asam. Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah n-heksan dan etil asetat yang cenderung bersifat nonpolar. Plat silica gel yang digunakan pada KLT ini sebelumnya dipanaskan terlebih dahulu dalam oven dengan suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 15 menit yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat. Larutan perbandingan yang digunakan adalah senyawa kuersetin 0,1%. Kuersetin adalah salah satu zat aktif di kelas flavonoid yang secara biologis amat kuat. Eluen yang memberikan hasil pemisahan terbaik pada KLT yaitu n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 6 : 4. Hasil elusi dapat dilihat pada gambar 1.

Pada titik noda ekstrak metanol daun sepat (no 2) dan Sediaan *hand sanitizer* (no 3) dan titik noda kuarsetin (no 1) menghasilkan nilai yang sama, yaitu 0,02875. Walaupun dari gambar terlihat no 2 dan 3 lebih tinggi, hal tersebut dikarenakan jarak awal penotolan yang berbeda, sehingga fisik gambar terlihat berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sepat mengandung kuersetin. Penelitian dilanjutkan dengan membuat sediaan *hand sanitizer* dengan formulasi seperti pada tabel 1<sup>(13)</sup>.

Formulasi sediaan tersebut sudah dievaluasi dari penelitian sebelumnya<sup>(13)</sup>. Oleh karena itu, penelitian dilanjutkan dengan menguji kemampuan penghambatan radikal bebas sediaan tersebut. Absorbansi sampel pada spektro UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm dengan volume sampel yang digunakan 0,5 mL dan DPPH sebanyak 3,5 mL<sup>(14)</sup>.

**Tabel 1.** Komposisi Sediaan Hand Sanitizer Ekstrak Metanol Daun Sepat

Komposisi	F1	F 2	F 3	F 4
Ekstrak Metanol Sepat	20 ppm	40 ppm	60 ppm	80 ppm
CMC-Na	3 g	3 g	3 g	3 g
Propilen Glikol	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL
Metil Paraben	100 mg	100 mg	100 mg	100 mg
Propil Paraben	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg
Aquadest	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL

**Tabel 2.** Hasil Persentasi Hambat Radikal Bebas Sediaan *Hand Sanitizer* Ekstrak Daun Sepat

Sampel	Absorbansi	% Inhibisi
<b>DPPH</b>	0,932 nm	0
<b><i>Hand Sanitizer 20 ppm</i></b>	1,027 nm	-
<b><i>Hand Sanitizer 40 ppm</i></b>	0,799 nm	14,27
<b><i>Hand Sanitizer 60 ppm</i></b>	0,632 nm	32,19
<b><i>Hand Sanitizer 80 ppm</i></b>	0,456 nm	51,07

Sedangkan hasil pengukuran absorbansi Hand Sanitizer dapat dilihat pada tabel 2. Hasil penelitian tabel 2 menunjukkan semakin besar konsentrasi yang digunakan, maka persentasi hambat radikal bebas juga akan semakin besar. Hasil tersebut menunjukkan *hand sanitizer* 80 ppm memiliki % Inhibisi 51,07 %, yang berarti dengan konsentrasi sekitar 80 ppm, sudah dapat ditemukan nilai  $IC_{50}$ . Namun konsentrasi yang digunakan pada pembuatan sediaan tersebut, lebih besar dari pada konsentrasi pada penelitian sebelumnya<sup>(6)</sup>. Hal ini diduga komposisi sediaan seperti CMC-Na dan Propilen glikol memiliki peran dalam mengurangi kemampuan antioksidan sediaan *hand sanitizer*.

Penelitian ini menunjukkan dengan konsentrasi ekstrak metanol sepat sebesar 80 ppm atau 0,08 g/L atau 0,8 % dapat memberikan aktivitas antioksidan. Hal tersebut diduga ketika sediaan *hand sanitizer* ekstrak metanol daun sepat dibuat sebagai sediaan antibakteri dengan konsentrasi 20-

30%<sup>(7,8)</sup> memiliki potensi sediaan yang dapat dikembangkan menjadi *hand sanitizer* berdaya antibakteri sekaligus memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi kulit. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait potensi antibakteri *hand sanitizer* dan antioksidan pada konsentrasi 20-30%.

## SIMPULAN

Sediaan Hand Sanitizer Ekstrak Metanol Daun Sepat memiliki persentase hambat radikal bebas sebesar 51,07 % pada sediaan *hand sanitizer* 80 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ganesan, P., Chandini, S., & Bhaskar, N. Antioxidant Properties Of Methanol Extract And Its Solvent Fractions Obtained From Selected Indian Red Seaweeds. *Bioresource Technology*. 2018, 99, 2717–2723.
- Badarinath, A., Rao, K., Chetty, C., Ramkanth, S., Rajan, T., & Gnanaprakash, K. A Review on In-vitro

- Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations. International Journal of PharmTech Research. 2010, 1276–1285.
3. Mandal, S., Yadav, S., & Nema, R. Antioxidants. A Review Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2009, 102–104.
  4. Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). Universitas Indonesia. 2016, 2.
  5. Adhayanti, I., Abdullah, T., & Romantika, R. Uji Kandungan Total Polifenol Dan Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Kulit Pisang Raja. *Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*. 2018,14(1), 39–45.
  6. Niah, R., & Kumalasari, E. Profil Senyawa Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sepat (*Mitragynaspeciosa*) Dan Daun Dadangkak (*Hydrolea Spinosa* L.). Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 2019, 4(2), 391-399.
  7. Husnani, H., Suhaimi, S., Puspasari, H., & Sari, Y. Uji Daya Hambat Ekstrak Kental Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Sebagai Penyebab Jerawat. Medical Sains. 2020, 4(2), 95-100.
  8. Munawwarah, L., Ramadhan, A. M., & Ardana, M. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sapat (*Mitragyna speciosa* Korth.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. In Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. 2016, Vol. 4, pp. 180-186.
  9. Ariani, N., & Niah, R. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca forma typica*) Terhadap *Shigella dysenteriae* Dan *Salmonella typhi*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 2018, 3(2), 312-317.
  10. Niah, R. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Daun Karamunting (*Melastoma Malabathricum* L.) Terhadap *Salmonella Typhi*. Jurnal Insan Farmasi Indonesia. 2018, 1(1), 113-121.
  11. Febrianti, D. R., & Niah, R. Analisis Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Anona muricata* L.) Pada Mencit Jantan Secara In Vivo. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 2018, 3(2), 304311.
  12. Agustin, D. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Terhadap Zona Hambat Pertumbuhan *Streptococcus Pyogenes* Sebagai Sumber Belajar Biologi, Doctoral Dissertation, University Of Muhammadiyah Malang. 2018.
  13. Gunawan, Tiffany. Optimasi Formula Hand Sanitizer Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dengan Gelling Agent CMC-Na dan Humektan Propilen Glikol. Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma. 2017.
  14. Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok Towatana, N., et al. Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From Garcinia Plant. FEMS. 2007.