

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) DENGAN METODE 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH)

Barly Sugara, Adam M. Ramadhan, Arsyik Ibrahim

*Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS, Fakultas Farmasi,
Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur*

Email: barly.ff011@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan nilai IC_{50} ekstrak etanol dan fraksi (n-heksan dan etil asetat) dari ekstrak rimpang temu kunci. Penentuan potensi aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan besarnya korelasi dihitung dengan persamaan regresi. Hasil penelitian pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan, ekstrak etanol rimpang temu kunci diperoleh nilai IC_{50} sebesar 112,342 ppm. Aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksana diperoleh nilai IC_{50} sebesar 164,006 ppm dan aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat diperoleh nilai IC_{50} sebesar 162,224 ppm.

Kata kunci : Aktivitas antioksidan, DPPH, IC_{50} , *Boesenbergia pandurata*

ABSTRACT

*The aim of this research were determined IC_{50} value of ethanol extract and its fraction (n-hexane and ethyl acetate) from ethanol extract of *Boesenbergia pandurata* rhizome. DPPH methode was used to determine the radical scavenging activity and the correlation was measured using a linear regrestion equation. The result of this research showed that ethanol extract was obtained IC_{50} value is 112,342 ppm. All of the fractioned was tested its antioxidant activity, n-hexane and ethyl acetate fraction showed antioxidant activity with IC_{50} values of 164,006 and 162,224 ppm.*

Key words: Antioxidant Activity, DPPH, IC_{50} , *Boesenbergia pandurata*.

PENDAHULUAN

Radikal bebas diartikan sebagai molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya sehingga relatif tidak stabil. Untuk mendapatkan kestabilannya, molekul yang bersifat reaktif tersebut mencari pasangan elektronnya, sehingga disebut juga sebagai Reactive Oxygen Species (Pinell SR dalam Ardie, 2011). Senyawa yang dapat menstabilkan radikal bebas adalah antioksidan. Senyawa ini dapat menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Hudson, 1990). Meningkatnya penelitian dalam menemukan antioksidan alami untuk kosmetik, makanan, atau obat-obatan untuk menggantikan antioksidan sintesis, disebabkan penggunaan antioksidan sintesis telah dibatasi karena efek samping yang dimiliki. Selain itu antioksidan alami lebih dipertimbangkan karena lebih aman, stabil, dan efek antioksidan yang lebih baik (Zheng et al., 2001).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif

oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsih, 2007).

Rimpang temu kunci merupakan salah satu rimpang yang banyak digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat sebagai peluruh dahak atau untuk menanggulangi batuk, penambah nafsu makan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Ekstrak etanol rimpang temu kunci diketahui memiliki kandungan utama senyawa golongan flavonoid dan minyak atsiri. Telah banyak senyawa-senyawa dari golongan tersebut yang dilaporkan sebagai antioksidan alami yang potensial (Buhler dan Miranda, 2000). Sehingga penelitian ini untuk mengungkap daya antioksidan ekstrak dan fraksi dari rimpang temu kunci.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) yang diperoleh dari Samarinda, Kalimantan Timur, DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil), etil asetat, etanol 96%, kloroform, metanol, n-heksan, H₂SO₄ pekat, FeCl₃, HCl 2%, asam asetat anhidrat, reagen dragendorf, reagen meyer, serbuk Mg, dan HCl pekat.

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: almari pengering, corong Buchner, vacuum rotary evaporator, neraca analitik, spektrofotometer UV-VIS (Halo Db-20S UV-VIS by Dynamica), mikropipet 100-1000µL, blue tip, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis.

Prosedur Penelitian

Pembuatan simplisia

Sampel temu kunci yang telah dikumpulkan disortir kemudian dibersihkan dan ditimbang beratnya sebanyak 5 kg, kemudian dirajang kecil-kecil dan dikeringkan menggunakan oven hingga diperoleh simplisia temu kunci kering. Kemudian ditimbang berat keringnya yaitu diperoleh 1334 gram dan dilakukan penghalusan menjadi serbuk simplisia.

Pembuatan ekstrak

Potongan kecil simplisia sebanyak 750 gram diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi yaitu dengan cara merendam seluruh bagian serbuk kering dengan pelarut etanol 96%. Dari hasil ekstraksi tersebut diperoleh residu dan larutan ekstrak temu kunci, kemudian disaring ampasnya dan disisihkan, bagian ekstrak cair hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Sisa pelarut selanjutnya diuapkan di atas *water bath* untuk memperoleh ekstrak kering.

Penentuan rendemen

Ditimbang temu kunci segar, temu kunci yang telah dikeringkan (simplisia), dan ekstrak etanol 96% hasil maserasi. Selanjutnya, dicatat dan dihitung jumlah rendemen sesuai dengan rumus perhitungan rendemen ekstrak yaitu berat ekstrak (g) dibagi dengan berat sampel kering sebelum ekstraksi (g) dikali 100%, sehingga diperoleh nilai persen (%) rendemen.

Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder

Alkaloid.

Larutan ekstrak dibagi menjadi 2 bagian dan ditambahkan HCl 2% lalu pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes dan bagian lainnya ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid

Flavonoid.

Dilarutkan ekstrak dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 0.2 g bubuk Mg, kemudian ditambahkan HCl pekat, hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua.

Polifenol.

Identifikasi senyawa polifenol dengan menggunakan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa polifenol dan tanin

Steroid.

Identifikasi senyawa steroid dengan menambahkan larutan ekstrak dengan kloroform lalu ditambahkan dengan asam asetat anhidrat. Selanjutnya campuran kedua larutan ini ditetesi asam sulfat pekat. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecokelatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, menunjukkan adanya triterpenoid.

Penentuan aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH

Larutan DPPH 40 µg/mL dibuat dengan melarutkan 4 mg serbuk DPPH dalam metanol pada labu takar 100,0 mL, kemudian divorteks. Ekstrak etanol temu kunci dilarutkan dalam metanol dalam konsentrasi 0,1% b/v dan dilakukan seri pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 20 µg/mL, 40 µg/mL, 60 µg/mL, 80 µg/mL, 100 µg/mL, 120 µg/mL, dan 140 µg/mL. Sebanyak 2,0 mL sampel uji tiap-tiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup dan ditambahkan 2,0 mL DPPH 40 µg/mL, divorteks selama 1 menit hingga campuran homogen dan didiamkan selama 30 menit. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm yg didapatkan dari uji pendahuluan. Dilakukan pula pembacaan absorbansi kontrol negatif yaitu tanpa penambahan larutan uji. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$(\%) = \frac{(Abs.kontrol - Abs.sampel)}{Abs kontrol} \times 100\%$$

Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan aktivitas antioksidan rata-rata (y) dari suatu seri replikasi pengukuran sehingga diperoleh harga IC50 yaitu konsentrasi bahan uji yang diperlukan untuk menangkap 50% radikal DPPH selama 30 menit (operating time), atau jeda waktu yang dibutuhkan oleh bahan uji untuk mereduksi radikal DPPH dengan sempurna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol 96% temu kunci yang diperoleh dari proses ekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan rendemen ekstrak sebanyak g. Hasil uji kualitatif dari identifikasi komponen fitokimia ekstrak etanol dan fraksi temu kunci sebagai berikut:

Tabel 1. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil			Reaksi Positif
		Ekstrak Etanol 96%	Fraksi EtOAc	Fraksi n-Heksan	
Flavonoid	HCl + serbuk Mg	+	+	+	Larutan merah tua
Polifenol	FeCl ₃ 10%	+	+	+	Larutan biru/hijau/hitam
Alkaloid	Meyer	-	-	-	Endapan putih
	Dragendorff	-	-	-	Endapan jigga
Steroid	Lieberman-Burchard	-	-	-	Cincin kebiruan/coklat

Keterangan : (+) positif
(-) negatif

Berdasarkan identifikasi fitokimia ekstrak dan fraksi temu kunci yang terdapat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa flavonoid dan polifenol yang memiliki potensi aktivitas antioksidan. Hasil positif mengandung senyawa flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi merah tua. Warna merah tua pada larutan disebabkan terbentuknya garam flavilium (Achmad,1986). Identifikasi golongan senyawa polifenol dengan penambahan pereaksi FeCl₃ pada sampel uji menimbulkan perubahan warna menjadi larutan hitam yang menandakan sampel uji positif mengandung senyawa polifenol. Hasil uji polifenol ditandai dengan terjadinya reaksi antara senyawa polifenol dan ferri klorida membentuk kompleks senyawa.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi temu kunci dengan menggunakan metode DPPH untuk mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Kemampuan penangkapan radikal berhubungan dengan kemampuan komponen senyawa dalam menyumbangkan elektron atau hidrogen. Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan akan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa antioksidan. Konsentrasi DPPH pada akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkap radikal (Naik dkk., 2003).

Tabel 2. % Aktivitas Peredaman Radikal DPPH

Sampel	Nilai IC ₅₀ (μ g/mL)	Kategori Daya Antioksidan
Ekstrak Etanol	112,342	Sedang
Fraksi Etil Asetat	162,224	Lemah
Fraksi n-Heksan	164,006	Lemah

Menurut Jun dkk, (2003) tingkat kekuatan antioksidan adalah kuat (IC₅₀ <50 ppm), aktif (IC₅₀ 50-100 ppm), sedang (IC₅₀ 101-250), lemah (IC₅₀ 250-500) dan tidak aktif (IC₅₀ >500ppm). Nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% temu kunci memiliki nilai IC₅₀ yang lebih kecil kadarnya dibandingkan dengan nilai IC₅₀ dari fraksi etil asetat dan n-

heksan namun dalam penggolongan kategori kekuatan antioksidan, ekstrak etanol 96% temu kunci masuk dalam kategori sedang. Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi pada ekstrak etanol 96% temu kunci dibandingkan dengan fraksinya memungkinkan adanya sinergi antar senyawa-senyawa berpotensi sebagai antioksidan yang apabila dilakukan fraksinasi maka senyawa-senyawa tersebut berkurang aktivitasnya.

KESIMPULAN

Temu kunci memiliki kandungan senyawa-senyawa antioksidan seperti polifenol dan flavonoid yang dapat dimanfaatkan secara luas dibidang kesehatan. Dengan konsentrasi hambat radikal bebas yang cukup kecil dimiliki oleh ekstrak temu kunci yaitu 112,342 ppm dan fraksi etil asetat 162,224 ppm serta fraksi n-heksan 164,006 ppm berpotensi untuk dimanfaatkan secara luas sebagai bahan kefarmasian.

SARAN

Diperlukan penelitian lanjutan untuk tingkatan fraksinasi hingga isolasi senyawa. Serta upaya dalam pegujian aktivitas dan pengembangan formulasi sediaan yang berasal dari senyawa aktif yang terkandung dalam rimpng temu kunci.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. Kimia Organik Bahan Alam. Karnunika, Jakarta.1986
- Ardie, Ari Muhandari. 2011. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan. *Medicinus* 24(1).
- Buhler, D.R., and Miranda, C., 2000, Antioxidant activities of Flavonoid, Department of Enviromental and Molecular Toxicology Oregon State University, Oregon.
- Hudson, B. J. F, 1990, *Food Antioxidants*, Elsevier Applied Science, New York.
- Jun, M.H.Y., J., Fong, X., Wan, C.S., Yang, C.T., Ho. 2003. Camparison of Antioxidant Activities of Isoflavones Form Kudzu Root (*Pueraria labata* O). *Journal Food Science Institute of Technologist*. 68:2117-2122.
- Naik, G.H., Priyadarsini, K.I., Satav, J.G., Banavalikar, M.M., Sohoni, D.P., Biyani, M.K., and Mohan H., 2003, Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in ayurvedic medicine, *Phytochemistry*, 63 (1): 97-104
- Syamsuhidayat, S. S., Hutapea, J.R., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*, Depkes RI, Jakarta, 92-93.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. Kanisius: Yogyakarta.
- Zheng W, Wang SY. 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J Agric Food Chem* 49:5165-5170.