

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
AKAR, KULIT BATANG DAN DAUN TANAMAN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Ness.) DENGAN METODE
LINOLEAT – TIOSIANAT**

Sri Wardatun

Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan.

Email : umi.rafifa@yahoo.com

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Salah satu tumbuhan obat tradisional Indonesia yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.). Pengujian antioksidan dari ekstrak etanol akar, kulit batang dan daun sambiloto dilakukan menggunakan metode Linoleat-Tiosianat dengan vitamin E sebagai kontrol positif. Warna yang terbentuk diukur secara spektrofotometri pada λ 479 nm. Tiga ekstrak dengan daya antioksidan terbesar terdapat pada ekstrak akar dengan konsentrasi 0,25% sebesar 79,37%, ekstrak kulit batang dengan konsentrasi 0,5% memiliki daya antioksidan 75,93%, dan ekstrak daun memiliki daya antioksidan sebesar 76,63%, sedangkan vitamin E memiliki daya antioksidan 75,37%.

Kata kunci : Sambiloto, antioksidan, metode linoleat-tiosianat

PENDAHULUAN

Obat tradisional digunakan oleh masyarakat secara luas sejak zaman dahulu dan saat ini pemakaiannya semakin digalakkan untuk tujuan pencegahan, pengobatan suatu penyakit dan meningkatkan daya tahan tubuh. Dalam penggunaannya sehari-hari kebanyakan masih berdasarkan pengalaman dan pengetahuan yang diperoleh secara turun-temurun (secara empirik).

Seiring dengan perkembangan zaman, pemakaian obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang pesat. Saat ini, obat-obatan tradisional kembali dilirik masyarakat sebagai salah satu alternatif pengobatan, disamping obat-obat modern yang sudah beredar di pasaran. Alasannya, obat tradisional jauh lebih murah, selain itu lebih aman digunakan, dan khasiat beberapa jenis obat tradisional pun tidak kalah dibandingkan obat-obat modern (Prapanza & Marianto, 2003)

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tanaman obat, salah satunya

adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.). Sambiloto adalah salah satu jenis tanaman yang mengandung senyawa aktif dan sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat (Muliawati, 2002).

Sambiloto memiliki khasiat antara lain untuk menyembuhkan gatal-gatal, keputihan, antipiretik, dan diuretik (Heyne, 1987) serta mengobati beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes, tekanan darah tinggi dan reumatik (Harti dkk, 1991). Di Indonesia, penyakit degeneratif cenderung meningkat disebabkan karena adanya perubahan gaya hidup masyarakat salah satunya adalah menyukai makanan yang berkadar lemak tinggi, hal tersebut dapat menimbulkan radikal bebas yang berdampak pada kerusakan sel, sehingga timbul penyakit tersebut (Limyati dan Essay, 2003).

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat

reaktif karena kehilangan satu atau lebih elektron yang bermuatan listrik, dan untuk mengembalikan keseimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Dalimartha & Moeryati, 1998).

Di dalam tubuh sendiri terdapat mekanisme antioksidan atau antiradikal bebas (Dyatkiko dkk., 2000), yang berfungsi melindungi tubuh terhadap serangan radikal bebas, yang dibentuk oleh beberapa enzim antioksidan dalam tubuh seperti superoksida dismutase, katalase dan glutasion peroksidase. Radikal bebas ini bisa dipunahkan oleh enzim antioksidan tubuh tetapi memerlukan bantuan mineral Zn, Cu, dan Se. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa flavonoid, fenol, polifenol, kurkuminoid dan tanin (Leswara dan Katrin, 1998). Senyawa golongan polifenol dapat menghambat reaksi peroksidasi dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya berbagai penyakit kronis seperti diabetes, kanker dan gangguan hati serta dapat menghambat radikal bebas karena sifat antioksidannya. Senyawa antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga dapat menghentikan kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, sebagai penangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Dyatkiko dkk., 2000).

Agar obat tradisional dapat dipertanggungjawabkan secara medik maka perlu dilakukan pengujian ilmiah tentang khasiat, keamanan, dan standar kualitasnya (Ma'at, 2000). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan dalam ekstrak sambiloto. Metode penentuan yang digunakan adalah metode spektrofotometri. Hasil penentuan diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam penggunaan sambiloto sebagai antioksidan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Akar, kulit batang dan daun tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.), amil alkohol, ammonium tiosianida 30%, asam linoleat, akuades, besi (III) klorida, dapar fosfat 0,05 M, etanol 75%, besi (II) sulfat 0,02 M dalam asam klorida 3,5%, asam klorida pekat, asam klorida 1%, metanol, serbuk magnesium, vitamin E (α -tokoferol).

Alat

Cawan porselin, gelas piala, pengayak mesh 40, botol gelap, pipet volumetri, desikator, *grinder*, kompor listrik, tabung reaksi, timbangan listrik (O-Haus), oven, spektrofotometer UV-Vis (Genesys).

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak Sambiloto

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan 500 g simplisia kering masing-masing akar, kulit batang dan daun yang telah diayak (dihitung terhadap % kadar air), dimaserasi dengan etanol dengan perbandingan 1:5, menggunakan bejana tertutup sambil diaduk secara manual selama tiga jam, kemudian diendapkan selama satu malam dan disaring dengan kertas saring kasar kemudian dikentalkan dengan *rotavapor* pada suhu 30°C (sampai kental) kurang lebih selama delapan jam selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kering.

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif digunakan vitamin E (α -tokoferol) dengan konsentrasi 0,25%. Sebanyak 0,25 g Vitamin E ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan etanol 75%, kemudian dipipet sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam botol gelap dengan volume 25 mL. Setelah itu ditambahkan 4 mL asam linoleat dalam etanol 75%, 8 mL dapar fosfat 0,05 M dan 3,9 mL akuades. Botol gelap ditutup dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu

40°C, dan didiamkan selama 24 jam. Kontrol negatif adalah 4 mL asam linoleat dalam etanol 75%, 8 mL dapar fosfat 0,05 M dan 3,9 mL air suling tanpa penambahan α -tokoferol.

Pengujian Antioksidan

Ekstrak kering akar, kulit batang dan daun sambiloto yang telah diperoleh, dilarutkan dengan etanol 75%. Larutan dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 0,1; 0,25 dan 0,5% (dihitung terhadap % kadar air ekstrak). Masing-masing larutan uji diambil sebanyak 4 mL, dimasukkan ke dalam botol gelap dan ditambahkan 4 mL asam linoleat dalam etanol (75%), 8 mL dapar fosfat 0,05 M dan 3,9 mL akuades. Botol gelap ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C lalu didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam larutan uji, kontrol positif dan kontrol negatif diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya ditambahkan 9,7 mL etanol (75%), 0,1 mL ammonium tiosianat (30%), kemudian dikocok homogen dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,1 mL Fe(II) sulfat 0,02 M dalam HCl (3,5%) dan dikocok kembali sampai homogen. Warna merah yang terjadi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 479 nm dengan dua kali ulangan. Pengukuran tersebut dilakukan setiap 24 jam selama 10 hari (Kikuzaki *et al.*, 1999).

Rancangan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol akar, kulit batang dan daun sebagai antioksidan alami terhadap radikal bebas yang dibentuk oleh asam linoleat serta menyimpulkan hasil percobaan, maka digunakan metode eksperimental rancangan acak lengkap (RAL), dengan 11 perlakuan dan dua ulangan. Pengujian data dilakukan berdasarkan analisis ragam untuk RAL. Apabila uji F menunjukkan adanya pengaruh ($F_{0.05} < F_h < F_{0.01}$), uji

lanjut Duncan dilakukan untuk melihat perbedaan antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak yang diperoleh baik daun, kulit batang dan akar berwarna hijau kehitaman- coklat dengan aroma yang khas dan berasa pahit. Setelah dipekatkan dengan *rotavapor* ekstrak daun menjadi hijau kehitaman, kulit batang tetap berwarna hijau dan akar berwarna coklat

Dalam penelitian ini substrat yang digunakan adalah asam linoleat. Asam linoleat akan dioksidasi oleh oksigen yang terdapat dalam botol gelap tersebut. Proses oksidasi asam linoleat dikatalisis oleh cahaya, suhu, pH, oksigen, ion logam dan radikal lipid. Oleh karena itu, inkubasi asam linoleat dikondisikan pada suhu 40°C agar suhu tinggi dapat mengkatalisis oksidasi asam linoleat.

Setelah diinkubasi selama 24 jam dilakukan pengukuran kompleks feritiosianat yang berwarna merah menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum yang dicari pada kisaran 450-550 nm. Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) yang diperoleh sebesar 479 nm. Adapun reaksi yang terjadi adalah:



Pada uji potensi antioksidan, dibuat beberapa larutan antara lain kontrol negatif, kontrol positif dan larutan uji ekstrak akar, kulit batang dan daun pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5%. Kontrol positif dan larutan uji dengan berbagai konsentrasi menghambat laju oksidasi (hidroperoksida), tetapi kontrol negatif sama sekali tidak dapat menghambat laju oksidasi, oleh sebab itu absorbansi (A) pada kontrol negatif menentukan maksimal terbentuknya hidroperoksida.

Daya antioksidan menggambarkan besarnya potensi masing-masing ekstrak untuk berperan sebagai antioksidan. Dapat dikatakan, semakin besar konsentrasi,

semakin besar pula aktivitas antioksidannya terhadap proses oksidasi asam linoleat. Absorban kontrol positif dan larutan uji dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan daya antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa absorban kontrol positif dan larutan uji setelah diinkubasi selama 10

hari semakin menurun yang berbanding terbalik dengan daya antioksidan.

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa daya antioksidan untuk kontrol positif adalah sebesar 75,37% hampir setara dengan ekstrak daun 0,5%, ekstrak kulit batang 0,5% dan ekstrak akar 0,25%

Tabel 1. Serapan larutan selama 10 hari

Absorban Hari ke	Kontrol +	Kontrol -	Daun (%)			Kulit Batang (%)			Akar (%)		
			0,10	0,25	0,50	0,10	0,25	0,50	0,10	0,25	0,50
1	0,145	0,516	0,458	0,298	0,141	0,255	0,255	0,372	0,134	0,129	0,118
2	0,188	0,673	0,591	0,321	0,179	0,321	0,319	0,428	0,169	0,137	0,144
3	0,185	0,67	0,589	0,305	0,178	0,321	0,319	0,425	0,169	0,143	0,143
4	0,179	0,619	0,549	0,299	0,156	0,287	0,293	0,388	0,155	0,124	0,129
5	0,161	0,587	0,515	0,281	0,137	0,271	0,281	0,367	0,149	0,122	0,127
6	0,135	0,505	0,44	0,251	0,128	0,248	0,245	0,315	0,141	0,121	0,115
7	0,125	0,47	0,414	0,231	0,123	0,225	0,225	0,285	0,123	0,119	0,114
8	0,125	0,48	0,417	0,231	0,115	0,225	0,235	0,275	0,122	0,101	0,112
9	0,126	0,495	0,425	0,237	0,113	0,231	0,235	0,284	0,121	0,105	0,107
10	0,117	0,475	0,405	0,221	0,111	0,213	0,223	0,27	0,116	0,098	0,103

Tabel 2. Daya antioksidan selama 10 hari

Daya antioksidan Hari	Kontrol + (%)	Daun (%)			Kulit batang (%)			Akar (%)		
		0,10	0,25	0,50	0,10	0,25	0,50	0,10	0,25	0,50
1	71,90	11,24	42,25	72,67	50,58	50,58	38,71	74,03	75,00	77,13
2	72,07	12,18	52,30	73,40	52,30	52,60	57,24	74,89	79,64	78,60
3	72,39	12,09	54,48	73,43	52,09	52,39	57,65	74,78	78,66	78,66
4	71,08	11,31	51,70	74,80	53,63	52,67	59,54	74,96	79,97	79,16
5	72,57	12,27	52,13	76,66	53,83	52,13	59,95	74,62	79,22	78,36
6	73,27	12,87	50,30	74,65	50,89	51,49	60,32	72,08	76,04	77,23
7	73,40	11,91	50,85	73,83	52,13	52,13	64,91	73,83	74,68	75,74
8	73,96	13,13	51,88	76,04	53,13	51,04	74,55	74,58	78,96	76,67
9	74,55	14,14	52,12	77,17	53,33	52,53	74,30	75,56	78,79	78,38
10	75,37	14,74	53,47	76,63	55,16	53,05	75,93	75,59	79,37	78,32

% daya antioksidan dihitung berdasarkan rumus sbb:

$$\% \text{ Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorban kontrol negatif} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban kontrol negatif}} \times 100\%$$

Hasil analisis statistik dengan uji Duncan ($\alpha=0,01$) diperoleh bahwa potensi antioksidan dari ekstrak daun 0,5%, ekstrak kulit batang 0,5% dan akar pada konsentrasi (0,1; 0,25; dan 0,5%) tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Berdasarkan hasil tersebut ekstrak daun pada konsentrasi 0,5%, ekstrak kulit batang pada konsentrasi 0,5% dan ekstrak akar pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5% memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibanding vitamin E dan memiliki kemampuan sebagai antioksidasi yang lebih baik dibanding ekstrak daun dan kulit batang sambiloto pada konsentrasi yang lebih rendah

SIMPULAN DAN SARAN

SIMPULAN

1. Daya antioksidan ekstrak etanol daun pada konsentrasi 0,5%, memiliki daya antioksidan sebesar 76,63%, ekstrak kulit batang pada konsentrasi 0,5% memiliki daya antioksidan 75,93%, dan ekstrak akar pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5% masing-masing memiliki daya antioksidan 75,59; 79,37; dan 78,32%. Sedangkan daya antioksidan vitamin E sebesar 75,37%.
2. Ekstrak etanol daun pada konsentrasi 0,5%, ekstrak kulit batang pada konsentrasi 0,5% serta ekstrak akar pada konsentrasi 0,1; 0,25 dan 0,5% memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan aktivitas antioksidan vitamin E.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan dan menentukan kadarnya.

DAFTAR PUSTAKA

Dalimartha, S. dan S.Moeryati. 1998. Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan

Diet Suplemen. *Trubus Agrawidya*. Jakarta.Hal: 120-125.

Dyatmiko, W., M.H Sentosa dan A.F. Hafid. 2000. *Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dalam Sistem Molekuler dan Seluler Sari Rimpang Tanaman Obat Zingiberaceae*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Pusat Penelitian Obat Tradisional Universitas Airlangga. Surabaya.

Harti, S., S. Zuraina dan E.Sukarti, 1991. *Survey Produsen Jamu Gendong di Surabaya*. Pusat Penelitian Obat Tradisional Unika Widya Mandala. Surabaya.

Heyne, K. 1987 *Tumbuhan Berguna Indonesia..* Jilid 3. Yayasan Sarana Wana jaya. Jakarta.

Limiyati, A.D dan Y.S. Essay. 2003. Uji Antioksidan, Antiradikal Bebas Dan Penentuan EC 50 Ekstrak Diklorometana Serta Ekstrak Metanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burn.F.Ness.). *Jurnal Obat Bahan Alam*.Vol.1. No.2. Surabaya.

Leswara, D. dan N. Katrin. 1998. Perbandingan Daya Antioksidan Beberapa Jenis Benalu Menggunakan Metode Spektrofotometri. *Warta Tumbuhan Obat*. Jakarta. Vol 4. Hal 10-12.

Kikuzaki, H., S.Hara., K.Yayoi. dan N. Nakatani. 1999. Antioxidative Phenylpropanoids From Berries Of *Pimenta dioica*. *Journal Of Phytochemistry*. 52 : 1307-1312.

Maat. 2001 Manfaat Tanaman Obat Asli Indonesia Bagi Kesehatan. Lokakarya Pengembangan Agribisnis Berbasis Biofarmaka. Jakarta

Muliawati, E.S. 2002. Kajian Tingkat Serapan Hara, Pertumbuhan dan Produksi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) pada Beberapa Komposisi Media Tanam dan Tingkat Penyiraman. *Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan aromatik APINMAP*. Bogor. Hal 251-252.

Prapanza, I. dan L.A Marianto, S.P. 2003. *Khasiat dan Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Penyakit*. Agromedia .

