

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA VARIASI PENYARI EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) DENGAN MENGGUNAKAN METODE PEREDAMAN RADIKAL BEBAS 2,2-DIPHENIL-1-PICRYL HYDRASIL (DPPH)

Fadillah Maryam, Maria Ulfa, Burhanuddin Taebe, Ardy Tanfil
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi

ABSTRAK

Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) merupakan tanaman yang berasal dari suku zingiberaceae yang kaya akan manfaat. *Zingiber cassumunar* Roxb mengandung senyawa aktif yaitu suatu curcuminoid kompleks yang memiliki aktivitas anti inflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada beberapa variasi penyari ekstrak *Zingiber cassumunar* Roxb dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Kemampuan antioksidan diukur berdasarkan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang 515,4 nm setelah penambahan ekstrak dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Hasil pengukuran absorbansi IC₅₀ menyatakan bahwa ekstrak n-Heksantidak menunjukkan nilai aktivitas Antioksidan dengan nilai 234,66 ppm, ekstrak etil asetat memiliki nilai aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai 45,58 ppm sedangkan etanol memiliki nilai aktivitas Antioksidan lemah dengan nilai 188,95 ppm.

Kata kunci : Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb), Antioksidan, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

PENDAHULUAN

Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang baik untuk makanan maupun pengobatan seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang radikal bebas (Boer, 2000). Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron tidak berpasangan (Winarsi, 2007). Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan. Radikal bebas ini akan merebut elektron dari molekul lain yang ada di sekitarnya untuk menstabilkan diri. Radikal bebas erat kaitannya dengan kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Radikal bebas yang merusak tubuh ini dapat dinetralisir oleh senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat oksigen reaktif dan radikal bebas dalam tubuh. Senyawa antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektron bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan (Sashikumar, *et al.*, 2009). Tubuh

manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal bebas berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Rohdiana, 2001).

Pemanfaatan bahan alam yang mempunyai aktivitas biologis menjadi motivasi dilakukannya penelitian lebih lanjut, setelah senyawa-senyawa sintetik yang mempunyai aktivitas biologis seperti senyawa antioksidan sintetik butylated hydroxytoluen (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA) dan terbutylhydroxyquinone (TBHQ) dibatasi penggunaannya karena bersifat karsinogenik. Berbagai studi mengenai BHA dan BHT menunjukkan bahwa komponen ini dapat menimbulkan tumor pada hewan percobaan pada penggunaan dalam jangka panjang (Andarwulan, 1996). Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001).

Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan senyawa oksigen

reaktif, yang mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif seperti diabetes, kanker, inflamasi jaringan, kelainan imunitas, infark jantung dan penuaan dini (Middleton, *et al.*, 2000).

Dalam pengembangan dan penemuan obat baru, ada empat langkah utama, yaitu (1) melakukan skrining dari bahan alam (penapisan) untuk mencari komponen bioaktif; (2) modifikasi struktur dari bahan obat yang sudah digunakan untuk meningkatkan aktivitas atau mencari aktivitas baru; (3) melakukan penapisan skrining bahan-bahan kimia terhadap penyakit (menggunakan pemodelan hewan percobaan) dan (4) dari pendekatan modern desain obat dengan mendesain obat berbasis mekanisme fisiologi (Kardono, 2004).

Sebelumnya telah dilakukan penelitian skrining aktivitas komponen kimia ekstrak rimpang bangle terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv dengan medium LJ (Lowenstein-Jensen) yang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan dan etanol dari rimpang bangle pada konsentrasi 2% bersifat bakterostatik terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* (polontalo, 2011).

Kandungan kimia dari rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang telah ditemukan antara lain Senyawa minyak atsiri (terpinen-4-ol, sabinen), arilbutanoid (Dimetoksi fenil butadien (DMPBD) dan dimernya), fenilbutanoid ((*E*)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol), ((*E*)-4-(2',4',5'-trimethoxy-phenyl)but-3-en-1-ol dan (*E*)-4-(3',4',1-trimethoxy phenyl) but-3-en-1-ol)), kurkuminoid, dan seskuiterpen (zerumbon) (Chairul, 2009; Wanauppathamkul, 2003).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas 2,2 diphenil 1 picrylhidrasil (DPPH).

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Apakah ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas antioksidan?
2. Berapakah nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dari ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)?

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas 2,2 diphenil 1 picrylhidrasil (DPPH).

METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat Penelitian

Rencana penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2018 sampai selesai. Dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Aluminium foil, Mikropipet, Timbangan analitik, Peralatan gelas, Pipet tetes, Tabung reaksi, Rak tabung, Rotavapor, Seperangkat alat maserasi, Spektrofotometer UV Visibel, Vial.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Aquadest, Asam klorida (HCl), Asam sulfat (H₂SO₄) pekat, Besi klorida (FeCl₃), 2,2 Diphenil- 1 pikrilhidrasil (DPPH), Etanol 70%, Etil Asetat, Kertas saring, n-heksan, Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), Serbuk Mg.

3. Prosedur Penelitian

Pengambilan dan preparasi sampel rimpang bangle

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), yang tumbuh di daerah Sungguminasa Kab. Gowa. Tempat pengambilan sampel yaitu di pasar lokal yang dikenal dengan pasarsungguminasa. Rimpang bangle diambil yang masih segar kemudian, segera dipreparasi di laboratorium biologi farmasi STIFA Makassar. Rimpang bangle disortasi basah, dilakukan pencucian dengan air mengalir yang selanjutnya dipotong-potong kasar dan dikeringkan dalam lemari pengering khusus dengan suhu

40°C selama 3 hari. Setelah kering, Rimpang bangle dihaluskan dengan menggunakan blender atau mesin penggiling hingga menjadi serbuk kasar. kemudian, dihitung rendemendengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendamen \%} = \frac{\text{Bobot Sampel Kering}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100$$

Serbuk rimpang bangle yang diperoleh selanjutnya akan diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan berbagai variasi cairan penyeryang telah disiapkan selanjutnya diuji fitokimia dan aktivitas antioksidan

Proses ekstraksi

Simplisiasebanyak 3kg dimaserasi dengan menggunakan pelarut awal n-heksanselama 3 x 24 jam, dimana setiap 3x24 jam ekstrak cair disaring dan residunyadimaserasi kembali dengan menggunakan cairan penyari n-heksan yang baru. Proses maserasidibantu dengan pengadukan sesekali agar proses ekstraksi berlangsung denganmaksimal. Filtrat n-heksan hasil maserasi seluruhnya digabungkan kemudiandievaporasi dengan menggunakan alat penguap vakum pada suhu 30-40°Csehingga diperoleh ekstrak kental n-heksan. Dilakukan hal yang sama terhadap cairan penyari etil asetat dan etanol 70%.

Uji kualitatif fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak rimpang bangle. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi:

- a. Flavonoid
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah 1 gram serbuk Mg ditambah 1 mL asam klorida 2%. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung flavonoid
- b. Antosianin
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah beberapa tetes HCl 0,1 N. Apabila terjadi perubahan warna menjadi

merah, berarti sampel mengandung antosianin.

- c. Terpenoid
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah asam asetat glasial 1 mL ditambah 1 mL H₂SO₄. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung senyawa terpenoid
- d. Tanin
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah beberapa tetes FeCl₃1%. Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru tua, berarti sampel mengandung tanin.
- e. Alkaloid
Ekstrak kental dariberbagai ekstrak sebanyak 0,1 gdilarutkan dengan 10 mlkloroform amoniakal dan hasilnya di bagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabungpertama diuji dengan pereaksi Hager, tabung kedua ditambahkan dengan 5 mlasam sulfat (H₂SO₄) 2 N. Bagian asam dipisahkan kedalam 3 buah tabung reaksikemudian masing-masing diuji dengan tiga pereaksi alkaloid yaitu pereaksiDragendorff, pereaksi Meyer, dan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positifbila dengan pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan, endapan cokelatdengan pereaksi Wagner dan endapan merah hingga jingga dengan pereaksiDragendorff (Harborne, 1987)
- f. Kuinon
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah beberapa tetes NaOH.Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, berarti sampel mengandung kuinon.
- g. Saponin
Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah dengan 5 mL aqadest, apabila terbentuk busa dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCL 2 N maka hasil positif.

Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak rimpang bangle dengan masing-masing variasi cairan penyari diidentifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan campuran eluen dengan perbandingan

yang sesuai. Kemudian ekstrak rimpang bangle tersebut ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Kromatogram yang dihasilkan diamati bercaknya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan dilakukan penyemprotan pereaksi sesuai dengan senyawa yang ingin diidentifikasi, diberi tanda dan dihitung nilai Rf-nya.

Uji Aktivitas Antioksidan Pembuatan Kurva Standar Larutan DPPH

Pada tahap awal pengujian dibuat terlebih dahulu kurva kalibrasi untuk larutan DPPH. Sebanyak 5 mg DPPH dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan pelarut metanol hingga tanda batas. Larutan DPPH yang dibuat memiliki konsentrasi 100 ppm, kemudian diambil sejumlah larutan DPPH tersebut dan dilakukan pengenceran dalam labu ukur 10 mL sehingga didapat variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 517nm

Pembuatan Larutan DPPH

Untuk pembuatan larutan DPPH yang akan digunakan sebagai pereaksi pada sampel, diambil sebanyak 1 mg DPPH dilarutkan menggunakan metanol kedalam labu ukur 50 ml hingga tanda batas, sehingga konsentrasi DPPH yang digunakan adalah 20 ppm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Rimpang Bangle

Untuk uji aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang bangle, pertama-tama diambil sebanyak 4 mL rimpang bangle dimasukkan dalam botol vial, ditambahkan 2 mL larutan DPPH dalam metanol, kemudian campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Campuran yang telah diinkubasi dimasukkan dalam kuvet dan diukur serapannya menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs. DPPH Kontrol} - \text{Abs. DPPH Sisa}}{\text{Abs. DPPH Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs DPPH kontrol = Absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel.

Abs sisa DPPH = Absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN Pembuatan Ekstrak Rimpang Bangle Dengan Beberapa Variasi Penyari

Ekstraksi rimpang bangle dilakukan menggunakan metode maserasi secara berkesinambungan menggunakan beberapa variasi penyari yaitu n-Heksan, etil, dan etanol. Metode Maserasi dipilih karena dalam pengerjaannya prosesnya mudah dan tidak perlu menggunakan suhu tinggi yang kemungkinan dapat merusak beberapa senyawa kimia yang berefek sebagai antioksidan yang terdapat dalam simplisia rimpang bangle.

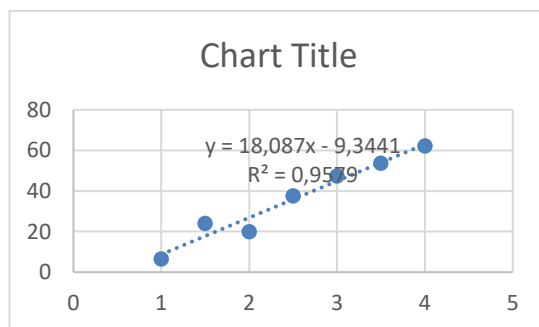
Skrining Fitokimia ekstrak dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan berbagai larutan pereaksi spesifik untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam simplisia rimpang bangle. Berdasarkan hasil skrining fitokimia untuk ekstrak n-Heksan rimpang bangle memiliki kandungan metabolit sekunder Terpenoid. Ekstrak etil asetat rimpang bangle memiliki kandungan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, kuinon, dan terpenoid. Sedangkan untuk ekstrak etanol rimpang bangle memiliki kandungan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, kuinon, dan terpenoid.

Metabolit Sekuder	Ekstra k Etanol	Ekstr ak Etil	Ekstrak n-Heksan
-------------------	-----------------	---------------	------------------

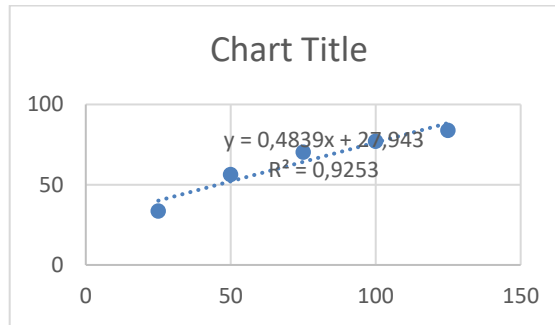
Alkaloid	+	+	-
(Mayer)	+	+	-
(Wagner)	-	-	-
(Dragendorff)	-	-	-
Antosianin	+	+	-
Flavonoid	+	+	-
Kuinon	-	-	-
Saponin	-	-	-
Tanin	+	+	+
Terpenoid			

Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Dipilih metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dipilih karena metode ini adalah metode paling sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit saja sampel untuk melakukan evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam yang terkandung sehingga dapat digunakan secara luas untuk menguji kemampuan suatu senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron. Konsentrasi yang digunakan pada percobaan ini untuk ekstrak n-Heksan yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Dari kelima konsentrasi tersebut didapati rata-rata % penghambatan untuk konsentrasi 100 ppm adalah 30,91, untuk konsentrasi 200 ppm adalah 48,31, untuk konsentrasi 300 ppm adalah 59,86, untuk konsentrasi 400 ppm adalah 72,29, dan untuk konsentrasi 500 ppm adalah 75,71. Ekstrak etil asetat

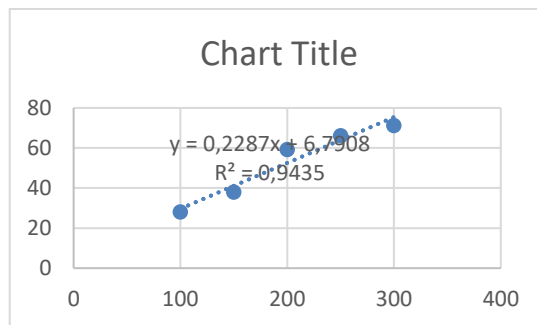
konsentrasi yang digunakan adalah 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm. Dari kelima konsentrasi tersebut didapati rata-rata % penghambatan untuk konsentrasi 25 ppm adalah 33,63 ppm, untuk konsentrasi 50 ppm adalah 56,37 ppm, untuk konsentrasi 75 ppm adalah 70,29 ppm, untuk konsentrasi 100 ppm adalah 77,10 ppm, dan untuk konsentrasi 125 ppm adalah 83,76 ppm. Ekstrak etil asetat konsentrasi yang digunakan adalah 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, dan 300 ppm. Dari kelima konsentrasi tersebut didapati rata-rata % penghambatan untuk konsentrasi 25 ppm adalah 28,05 ppm, untuk konsentrasi 50 ppm adalah 38,07 ppm, untuk konsentrasi 75 ppm adalah 59,21 ppm, untuk konsentrasi 100 ppm adalah 66,09 ppm, dan untuk konsentrasi 125 ppm adalah 71,23 ppm. Berdasarkan nilai rata-rata % penghambatan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin kecil nilai aktivitas antioksidan.



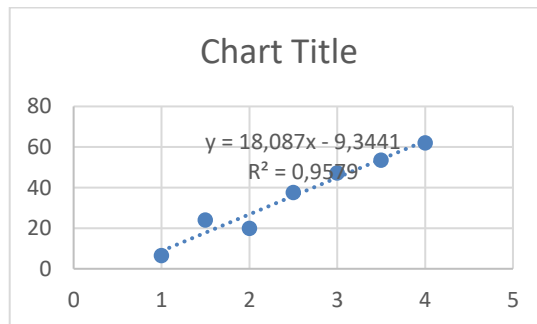
Kurva 1.1 Hasil Absorbansi Ekstrak n-Heksan



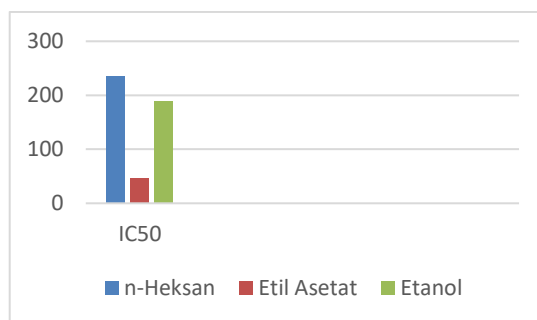
Kurva 1.2 Hasil Absorbansi Ekstrak Etil Asetat



Kurva 1.3 Hasil Absorbansi Ekstrak Etanol



Kurva 1.4 Hasil Absorbansi Ekstrak Asam Askorbat



Tabel 1.1 Perbandingan Nilai IC₅₀

Dari kurva regresi linier yang didapatkan diperoleh nilai IC₅₀ dengan perbandingan untuk Ekstrak n-Heksan 234,66 ppm, untuk Ekstrak Etil Asetat 45,58 ppm, untuk Ekstrak Etanol 188,95 ppm, dan

untuk Asam Askorbat 3,28 ppm. Dimana diketahui semakin tinggi nilai IC₅₀ semakin kecil aktivitas antioksidan.

KESIMPULAN

Dari hasil pengukuran absorbansi IC_{50} menyatakan bahwa ekstrak n-Heksan tidak menunjukkan nilai aktias Antioksidan dengan nilai 234,66 ppm, ekstrak etil asetat memiliki nilai aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai 45,58 ppm sedangkan etanol memiliki nilai aktivitas Antioksidan lemah dengan nilai 188,95 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Amzu, dan Haryanto. 1990. Pelestarian pemanfaatan tumbuhan obat di Indonesia. Bogor:Seminar Nasional Pelestarian Pemanfaatan Tumbuhan Obat
- Andarwulan. 1996. Aktivitas Antioksidan dari Daun Sirih (*Piper betle* L). Teknologi dan Industri Pangan.
- Apriandi, Azwin., 2011. "Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-Ipong (*Fasciolaria salmo*)", skripsi, Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Chairul. 2009. Phagocytosis Effectivity Test of Phenylbutanoid Compounds Isolated from Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Rhizome. Biodiversitas. Volume 10 No.1. Hal: 40-43
- Dewi, Rizqiana. 2012. "Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksisitas Metabolit Sekunder Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) Dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) ", Skripsi, Bogor : Program studi strata satu Institut Pertanian Bogor.
- Ditjen POM. 1986. Sediaan Galenika. Departemen Kesehatan RI, Indonesia, Jakarta.
- Fessenden. 1982. Kimia Organik Jilid 2, Jakarta: Erlangga.
- Kartika, 2010. "Profil Kimiawi dari Formulasi Ekstrak Meniran, Kunyit, dan Temulawak Berdasarkan Aktivitas Antioksidan Terbaik." Skripsi, Bogor :Institut Pertanian Bogor.
- Kardono, L.B.S. 2004. Developing Drugs and Pharmaceuticals Small and Medium Scale Enterprises: An Indonesian Case Study, 2nd International symposium on Current Trend on Drug Discovery Research, Lucknow, India. Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological Reviews.
- Molyneux, Philip. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, artikel, Songklanakar J. Sci. Technol, Vol. 26 No. 2 Mar.-Apr.
- Muchtadi,. 2013. Antioksidan & Kiat Sehat di Usia Produktif. Alfabeta. Bandung.
- Polontalo, M. R. 2011. Skrining Aktivitas Komponen Kimia Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Rohdiana, D. 2004. Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh. Majalah Indonesia. Jurnal Indonesia.
- Sasikumar, J.M., Maheshu, V., dan Jayadev, R., 2009, In Vitro Antioxidant Activity of Methanolic Extracts of *Berberis tinctoria* Lesch. Root and Root Bark, India Journal of Herbal Medicine and Toxicology.
- Triyem. 2010. "Aktivitas Antioksidan dari Kulit Batang Manggis Hutan (*Garcinia cf. Bancana* Miq)" tesis, Jakarta: Universitas Indonesia.
- Wanappathamkul, S. 2003. Plaitanoid. The Innovation Development Fund. Thailand.
- Wijayakusuma, H., S. Dalimartha, A.S. Wirian, T. Yaputra, dan B. Wibowo. 1996. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid 2. Pustaka Kartini. Jakarta
- Winarsi, H., 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius.

