

Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)

Tan Tanando Tanzaq^{*}, Ruth Ditya Agustina, Kemala Endar Setiawati, Intan Martha Cahyani
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”
Jl. Letjend Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Semarang 50193
^{*}email : Eze22tan@gmail.com

Abstract

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas serta menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul lainnya yang bersifat reaktif. Kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) mengandung flavonoid dan alkaloid yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari kayu secang yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} dan memiliki nilai persentase daya hambat pada konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 150 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$. Kayu secang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang secara kualitatif menunjukkan bahwa sampel positif mengandung antioksidan dan uji secara kuantitatif menunjukkan hasil nilai IC_{50} yaitu 74,4395 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong dalam kategori antioksidan kuat.

Kata kunci : Kayu Secang., Antioksidan, DPPH.

PENDAHULUAN

Pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi mengakibatkan perubahan pola hidup masyarakat yang semakin dinamis. Hal tersebut tentunya tidak terlepas dari berbagai dampak negatif yang tidak diinginkan, diantaranya adalah meningkatnya faktor-faktor resiko penyebab timbulnya penyakit. Salah satu pemicu utamanya adalah radikal bebas (Budilaksono *et al*, 2014). Selain itu, kondisi lingkungan yang tidak sehat akibat polusi udara dan radiasi matahari juga dapat menyebabkan timbulnya radikal bebas (Kumalaningsih, 2006).

Menurut Widowati (2011), bahaya radikal bebas antara lain dapat menyerang lipid, protein/enzim, karbohidrat, DNA dalam sel atau jaringan. Bila jumlah radikal bebas dalam tubuh terus meningkat, sistem pertahanan antioksidan tubuh tidak efektif lagi untuk meredam

dampak senyawa radikal bebas. Oleh karena itu diperlukan antioksidan untuk membantu sistem pertahanan tubuh (Utari, 2017).

Secang merupakan tanaman yang sudah lama banyak digunakan sebagai obat tradisional. Kayu secang mengandung lima senyawa aktif yang terkait dengan flavonoid yaitu brazilin, brazilein, 3'-O-metilbrazilin, sappanin, chalcone, dan sappancalcone yang dapat digunakan sebagai antioksidan primer maupun antioksidan sekunder. Adanya komponen brazilin dalam kayu secang mempunyai efek melindungi tubuh dari keracunan akibat radikal kimia (Rina, 2012). Kayu secang memiliki daya antioksidan yang handal dengan indeks antioksidan yang lebih tinggi daripada antioksidan komersial (BHT dan BHA) sehingga potensial sebagai agen penangkap radikal bebas (Sugiyanto, 2013).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vitro* yang bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang. Sebagai variabel terikat adalah persentase peredaman radikal bebas DPPH dan sebagai variabel bebas adalah konsentrasi ekstrak etanol kayu secang.

a. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kayu secang, aqua destilata, etanol 96%, metanol p.a., vitamin C murni, HCl_(p), serbuk magnesium, n-butanol p.a., asam asetat glacial p.a., HCl_(p), FeCl₃, Bi(NO₃)₃·5H₂O, NaOH, K₄Fe(CN)₆, KI, HgCl₂, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

b. Alat

Alat yang digunakan meliputi alat gelas (Pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph), spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu).

c. Prosedur Penelitian

Pengumpulan Bahan dan Penyiapan Bahan

Serbuk kayu secang didapatkan dari Temu Kencono, Gunung pati, Semarang.

Ekstraksi Kayu Secang

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, serbuk kayu secang sebanyak 200 g ditambahkan 2 L pelarut etanol 96% dan dimaserasi 3 x 24 jam pada suhu kamar, sambil sesekali diaduk. Filtrat hasil maserasi disaring dan ditampung di dalam wadah. Filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan rotary vacuum evaporator.

Identifikasi Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang

Uji pendahuluan kandungan alkaloid dilakukan dengan menambahkan HCl 2 N dan pereaksi dragendroff pada sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan coklat; Flavonoid diuji

dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat pada sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna merah orange. Uji saponin dilakukan penambahan akuadest, kemudian dipanaskan, dan ditambahkan HCl 1% kemudian dilakukan pengadukan pada sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya busa stabil. Uji tannin dilakukan penambahan aquadest dan FeCl₃ 1% pada sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna biru kehitaman. Uji fenolik dilakukan penambahan FeCl₃ 1% pada sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna larutan hitam atau biru. Uji polifenol dilakukan penambahan K₄Fe(CN)₆ dan FeCl₃ pada sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna larutan hitam atau biru.

Uji Aktivitas penangkapan radikal DPPH

Secara Kualitatif, pengujian antioksidan dilakukan dengan metode KLT dengan eluen n-butanol : asam asetat glacial : air (4:1:5) (Markham, 1988) dan penampak bercak larutan DPPH 0,07 mM. Secara Kuantitatif, larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,07 mM dengan pelarut metanol p.a. Skrining panjang gelombang maksimal dilakukan pada rentang 400-600 nm.

Larutan stok vitamin C murni dibuat dengan konsentrasi 100 µg/mL, selanjutnya dibuat seri dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL.

Larutan sampel ekstrak etanol kayu secang dibuat konsentrasi 1250 µg/mL, selanjutnya dibuat seri dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250 µg/mL. Larutan stok vitamin C dan larutan sampel ekstrak etanol kayu secang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516,10 nm. Data yang diperoleh berupa absorbansi yang kemudian digunakan untuk menghitung persentase penangkapan radikal DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\%P = \left[\frac{C - S}{C} \right] \times 100\% \text{-----(1)}$$

Keterangan: %P = persentase penangkapan radikal DPPH; C = absorbansi larutan kontrol; S = absorbansi larutan uji/standar

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Serbuk Simplisia kayu secang

Penyerbukan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan simplisia, sehingga akan mempermudah kelarutannya dalam proses ekstraksi.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kayu Secang; Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi yaitu 16,63 gram dengan hasil rendemen 8,31%.

Identifikasi Fitokimia Ekstrak Etanol Kayu Secang

Identifikasi fitokimia ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji tabung yaitu dengan mereaksikan sampel dengan larutan pereaksi spesifik untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak etanol kayu secang menunjukkan positif mengandung flavonoid.

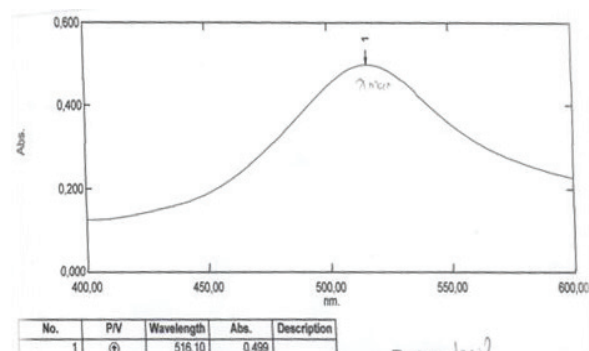
Uji Kualitatif Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang

Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif menggunakan metode KLT dengan eluen *n*-butanol : asam asetat glacial : air (4:1:5) (Markham, 1988) dan penampak bercak larutan DPPH 0,07 mM. Noda pada lempeng KLT yang diamati pada lampu UV 254 nm menunjukkan noda berwarna kuning pucat, yang menunjukkan sampel positif mengandung antioksidan.

Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimal Larutan DPPH 0,07 mM

Hasil penentuan panjang gelombang maksimal DPPH 0,07 mM pada nilai absorbansi tertinggi yaitu pada λ 516,10 nm, sehingga pengujian sampel dan

kontrol positif dilakukan pada λ 516,10 nm (Gambar 1).



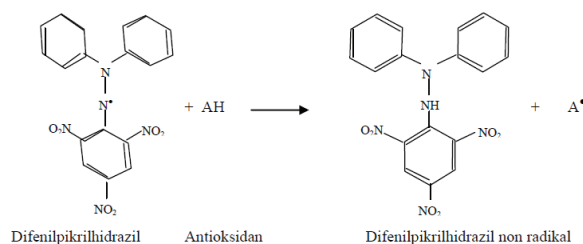
Gambar 1. Grafik Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH 0,07 m

Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, 2005). Metode penangkapan radikal DPPH digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa antioksidan untuk mengurangi radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen.

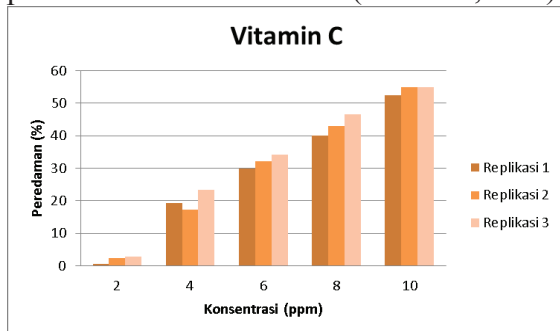
Sebagai pembanding yang berfungsi sebagai kontrol positif dari sampel yang mengandung senyawa antioksidan digunakan vitamin C.

Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang 516,10 nm yang merupakan panjang

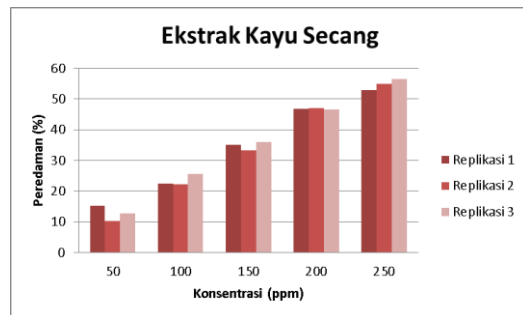


gelombang maksimum DPPH, dengan konsentrasi DPPH 0,07 mM. Adanya

aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat (Permana,2003).



Gambar 2. Reaksi peredaman DPPH dengan senyawa antioksidan baku vitamin C (Molyneux, 2004).



Gambar 3. Reaksi peredaman DPPH dengan senyawa antioksidan ekstrak etanol kayu secang (Molyneux, 2004).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dinyatakan dalam persentase inhibisinya terhadap radikal DPPH. Persentase inhibisi ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Besarnya aktivitas penangkapan radikal ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH.

Hasil uji menunjukkan ekstrak etanol kayu secang aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 74,44 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} ekstrak etanol kayu secang lebih besar dari baku vitamin C yang mempunyai nilai IC_{50} 3,04 $\mu\text{g/ml}$. Hasil ini dapat disebabkan oleh kayu secang yang dianalisa dalam bentuk ekstrak, dimana masih mengandung berbagai macam kandungan lain selain antioksidan. Nilai IC_{50} yang ditunjukkan pada ekstrak kayu secang ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu secang mempunyai aktivitas antioksidan yang termasuk golongan kuat karena mempunyai nilai IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/ml}$ (Molyneux, 2004).

Tabel 2. Nilai IC_{50} Vitamin C dan ekstrak etanol kayu secang.

Pengujian	Nilai IC_{50}			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata
Vitamin C	3,1369	3,0192	2,9538	3,0366
Ekstrak Etanol Kayu Secang	75,2689	74,5321	72,5174	74,4395

KESIMPULAN

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang secara kualitatif menunjukkan bahwa sampel postif mengandung antioksidan dan uji secara kuantitatif dengan metode DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ yaitu 74,4395 µg/mL yang tergolong dalam kategori antioksidan kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Ditjen Belmawa Ristek Dikti sebagai pemberi dana hibah pelaksanaan proyek kreativitas mahasiswa sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Budilaksono, W., Sri W., Andhi F., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
- Hanani, E., Mun'im, A., N. Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* SP dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2, 3, 130
- Kumalaningsih, S., 2006, Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Tubus Agrisarana, Surabaya
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., ITB, Bandung
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrilhidrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Techn*, 26 (2), 211-219
- Permana, D., N. Hj. Lajis, Faridah Abas, A. Ghafar othman, Rohaya Ahmad, Mariko Kitajama, Hiromitsu Takayama, Nario Aimi, Cl, 2003, Antioxidative Constituents Of Hedotis Diffusa Wild, *Natural Product Sciences*, 9(1), 7-9
- Rina, O., Chandra U. W., N. Ansori, 2012, Efektifitas Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) sebagai Bahan Pengawet Daging. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. ISSN 1410-5020. 12 (3): 181-186
- Sugiyanto, R.N. Shofy R.P., Ferina S.D., dan Gusti M.A.S., 2013, Aplikasi Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) dalam Upaya Prevensi Kerusakan DNA Akibat Paparan Zat Potensial Karsinogenik melalui MNPCE ASSAY, Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
- Utari, F. D., Sumirat, Muhammad, D., 2017, Produksi Antioksidan dari Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) menggunakan Pengering Berkelembapan Rendah. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 6 (3): 1-4
- Widowati, W., 2011, Uji Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Kedokteran Maranatha*. 11 (1): 23-