

AKTIVITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN PIDADA MERAH (*SONNERATIA CASEOLARIS L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Herwinda S dan Muh. Amir M

*Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman,
Samarinda, Kalimantan Timur
email: Herwindasuprianto@yahoo.com*

ABSTRACT

A research has been conducted with a title "The activity of extract and fractions of Sonneratia leaf (Sonneratia caseolaris L.) as an antioxidant. This research aims to know the activity of extract and fractions of Sonneratia leaves as an antioxidant against the free radical DPPH. The Sonneratia leaves powder was extracted using maceration tool with methanol solvent. The methanolic extract fractioned with n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol solvents. Testing of antioxidant activity is performed with the DPPH method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) by spectrophotometry. Absorbance measurement was conducted with spectrophotometry at the wave length 516 nm. Data was analyzed with linear regression to obtain values of IC₅₀. The result of research showed that the extract and fractions of Sonneratia leaves have activity as an antioxidant with the IC₅₀ value of methanolic extract was 21,62 ppm, n-hexane fraction was 82,36 ppm, ethyl acetate fraction was 13,41 ppm, and n-butanol fraction was 13,04 ppm. The test samples which provide the best antioxidant activity is the fraction of n-butanol.

Keywords : *Sonneratia caseolaris L., Antioxidant, DPPH*

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadamkan efek spesies oksigen reaktif (Lautan, 1997). Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat melindungi tubuh (bagian tubuh) dari senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas merupakan spesies kimia yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga dapat menyerang senyawa-senyawa lain seperti DNA, membran lipid, dan protein (Halliwell, 1999).

Tumbuhan pidada merah merupakan salah satu tumbuhan khas Kalimantan khususnya Kalimantan Selatan yang bagian daunnya secara empiris digunakan masyarakat sebagai obat luka serta penghilang bekas luka pada kulit. Daun pidada merah mengandung asam lemak, sterol, hidrokarbon, dan dua flavonoid yaitu luteolin dan luteolin 7-O-β-glukosida (Sadhu, 2006).

Luka adalah rusaknya kesatuan atau komponen jaringan dimana secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang. Jaringan yang cedera (luka) menstimulasi keluarnya berbagai macam mediator kimiawi seperti histamin, serotonin, eicasonoids dan nitrit oksida (NO) (DeLaune, 1998). Jika mediator-mediator tersebut, terutama nitrit oksida, dikeluarkan secara berlebihan maka akan terjadi inflamasi yang berkepanjangan dan dapat memperlambat penyembuhan luka. Nitrit oksida merupakan radikal endogen yang terbentuk dari proses inflamasi atau peradangan. Antioksidan yang terkandung dalam pidada merah diduga mampu menekan produksi nitrit oksida sehingga dapat mencegah terjadinya inflamasi berkepanjangan dan dapat mempercepat penyembuhan luka.

Berdasarkan uraian di atas, telah dilakukan penelitian mengenai aktivitas ekstrak dan fraksi daun pidada merah (*Sonneratia caseolaris L.*) sebagai antioksidan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang diteliti adalah simplisia kering daun pidada merah. Pelarut untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah metanol, n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Bahan kimia lainnya adalah DPPH sebagai radikal bebas untuk uji antioksidan.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bejana maserasi, *rotary evaporator* (büchi *rotavapor* R-200), *waterbath* (Wisebath), timbangan analitik (Mettler toledo AL204), cawan porselin, labu ukur (Pyrex[®]), corong pisah (Pyrex[®]), mikro pipet (Socorex), tabung reaksi bertutup (Pyrex[®]), *vortex* (*Health H-VM-400*), Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer*) dan alat penunjang lainnya.

Prosedur Pengumpulan dan Penyiapan Sampel

Daun pidada merah diperoleh dari tepi Sungai Mahakam Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Daun pidada merah segar dikumpulkan kemudian disortasi basah. Setelah itu, daun dicuci dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan didalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari. Selanjutnya daun pidada merah kering disortasi kering dan dipotong kecil-kecil menjadi serbuk simplisia.

Prosedur Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk simplisia dimasukkan kedalam bejana maserasi dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Proses ekstraksi dengan metode maserasi berlangsung selama kurang lebih 4 hari. Maserat (hasil maserasi) disaring menggunakan kertas saring dan ditampung kedalam wadah. Maserat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan penguapan di atas *water bath* hingga diperoleh ekstrak metanol kering.

Ekstrak metanol difraksinasi secara bertingkat dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan n-butanol. Ekstrak metanol dilarutkan dengan aquades kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dan dilakukan penggojogan/pemisahan menggunakan prosedur corong pisah. Setelah itu, didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksana (lapisan atas) dan lapisan air (lapisan bawah). Selanjutnya fraksi n-heksana dipisahkan dan ditampung untuk diuapkan pelarutnya, sedangkan fraksi air dimasukkan kembali kedalam corong pisah untuk dilanjutkan pada proses fraksinasi berikutnya. Untuk mendapatkan fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol dilakukan perlakuan yang sama pada proses fraksinasi n-heksana.

Prosedur Kerja Uji Antioksidan

Ekstrak dan fraksi daun pidada merah dibuat dalam konsentrasi 500 ppm sebagai larutan baku induk (stok), dari larutan stok dibuat larutan uji dengan 5 seri konsentrasi. Selanjutnya, disiapkan larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm.

Larutan uji dengan berbagai seri konsentrasi sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH 40 ppm dalam tabung reaksi bertutup lalu dihomogenkan dan didiamkan di tempat gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah itu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 516 nm menggunakan Spektrofotometer *UV-Visible*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

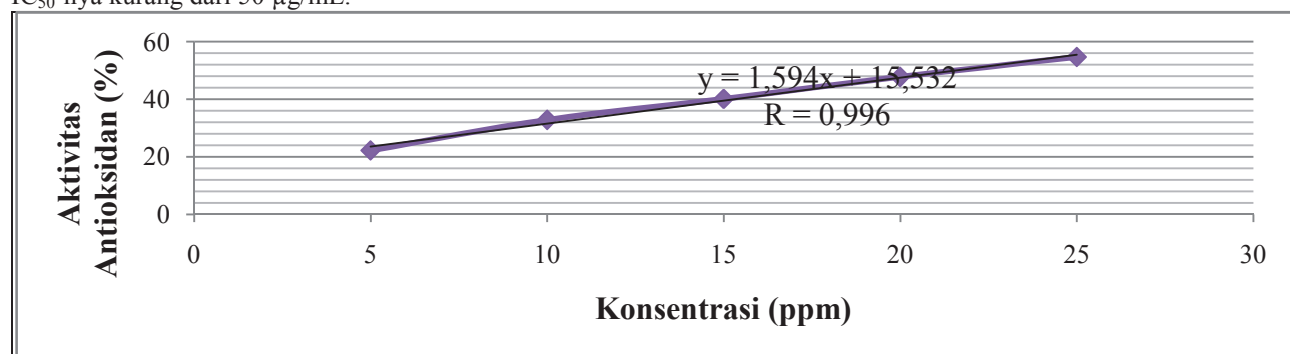
Ekstrak Metanol

Ekstrak metanol dibuat dalam 5 (lima) seri konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Adapun hasil dari peredaman radikal DPPH oleh ekstrak metanol daun pidada merah dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pidada Merah

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
Kontrol DPPH	0,660	-	$y = b(x) + a$ $y = 1,594(x) + 15,532$ $r = 0,996$	21,62
5	0,514	22,17		
10	0,444	32,78		
15	0,396	40,05		
20	0,345	47,68		
25	0,299	54,59		

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun pidada merah adalah 21,62 ppm. Hal ini menandakan bahwa ekstrak metanol daun pidada merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC₅₀-nya kurang dari 50 µg/mL.



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pidada Merah

Berdasarkan gambar 1 dapat dilihat bahwa dengan menghubungkan konsentrasi (x) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak metanol maka didapat nilai intersep (a) = 15,532 dan slope (b) = 1,594 serta resultan (r) = 0,996. Kemudian nilai a dan b tersebut dimasukkan kedalam persamaan garis regresi linier dan diperoleh persamaan regresi linier dari ekstrak metanol adalah $y = 1,594(x) + 15,532$.

Fraksi n-Heksana

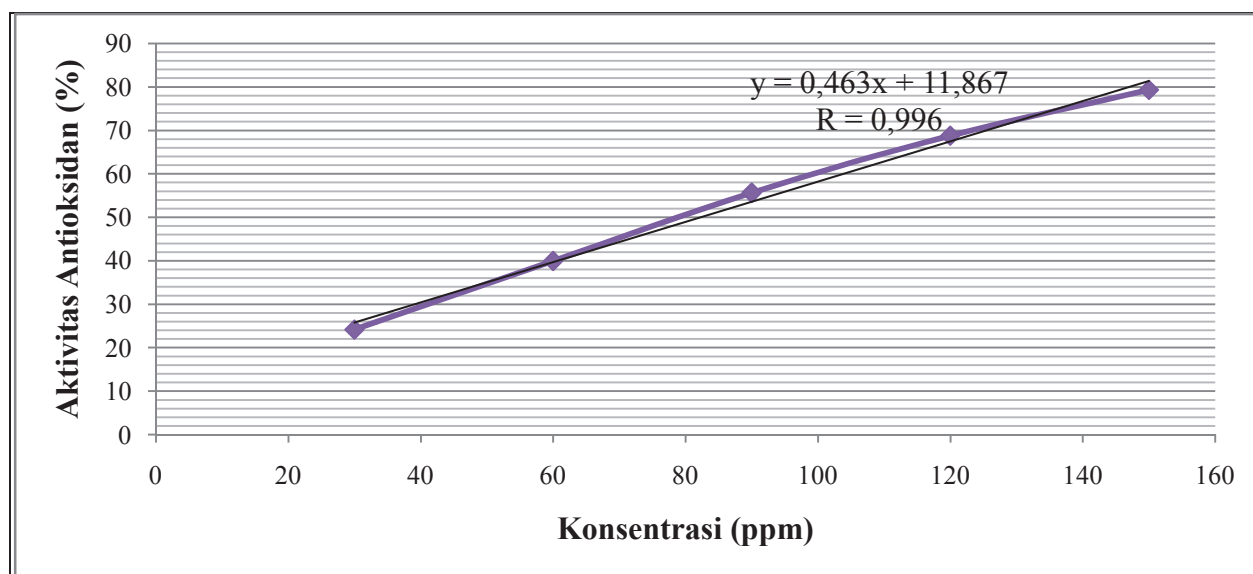
Ekstrak fraksi n-heksana dibuat dalam 5 (lima) seri konsentrasi yaitu 30, 60, 90, 120, dan 150 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksana daun pidada merah untuk memperoleh nilai IC_{50} disajikan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Daun Pidada Merah

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Regresi Linier	IC_{50} (ppm)
Kontrol DPPH	0,529	-	$y = b(x) + a$ $y = 0,463(x) + 11,867$ $r = 0,996$	82,36
30	0,401	24,19		
60	0,318	39,94		
90	0,235	55,64		
120	0,165	68,75		
150	0,109	79,27		

Tabel 2 menunjukkan bahwa IC_{50} fraksi n-heksana adalah 82,36 ppm. Hasil tersebut didapatkan melalui persamaan regresi linier $y = 0,463(x) + 11,867$. IC_{50} menandakan bahwa fraksi n-heksana daun pidada merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan kuat jika IC_{50} -nya bernilai 50 – 100 $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas antioksidan selalu meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hubungan antara nilai aktivitas antioksidan fraksi n-heksana dengan variasi konsentrasi ditunjukkan oleh Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi dengan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksana Daun Pidada Merah

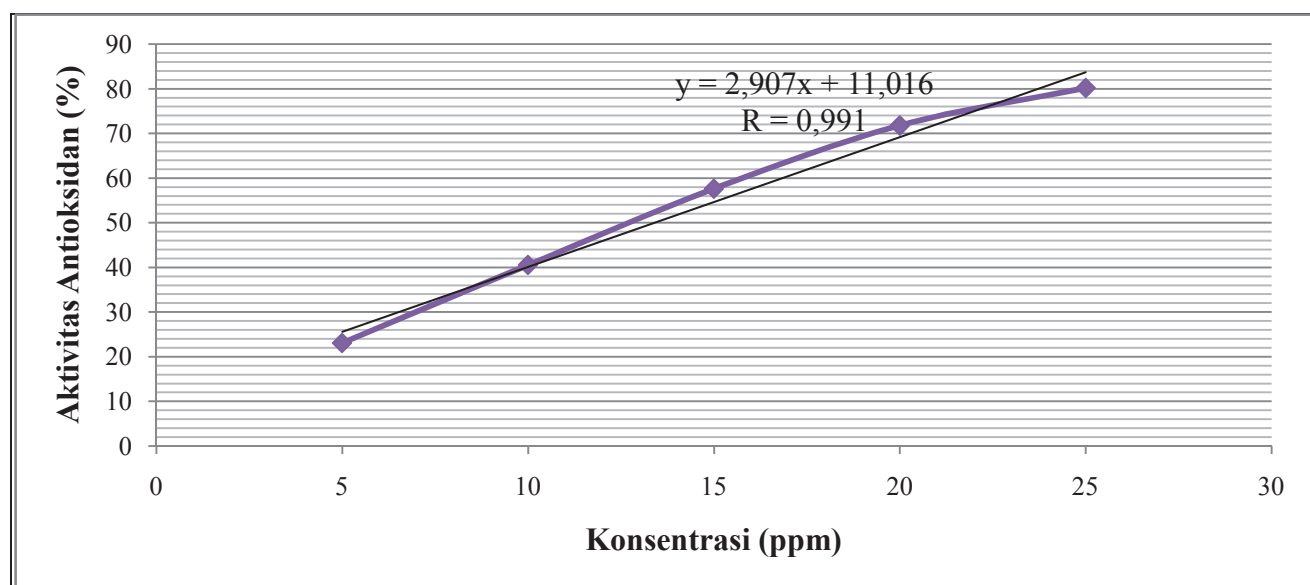
Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula kandungan zat antioksidannya, sehingga semakin banyak DPPH yang dihambat oleh ekstrak tersebut dan semakin sedikit DPPH yang tersisa, oleh karena itu aktivitas antioksidannya semakin besar.

Fraksi Etil Asetat

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun pidada merah dilakukan dengan metode DPPH dalam 5 (lima) seri konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm ($\mu\text{g/mL}$). Data penelitian yang diperoleh berupa absorbansi yang kemudian di hitung menggunakan rumus persentase aktivitas antioksidan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari tiap-tiap konsentrasi. Nilai absorbansi dan persentase aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun pidada merah dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3 berikut.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Pidada Merah

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
Kontrol DPPH	0,504	-	$y = b(x) + a$ $y = 2,907(x) + 11,016$ $r = 0,991$	13,41
5	0,388	23,08		
10	0,299	40,54		
15	0,214	57,61		
20	0,142	71,76		
25	0,100	80,16		



Gambar 3. Grafik Hubungan Konsentrasi dengan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Pidada Merah

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai IC₅₀ fraksi etil asetat daun pidada merah adalah 13,41 ppm. Konsentrasi tersebut menunjukkan konsentrasi fraksi etil asetat yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50 % atau mampu meredam radikal bebas sebesar 50 %. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Fraksi etil asetat daun pidada merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC₅₀-nya kurang dari 50 µg/mL.

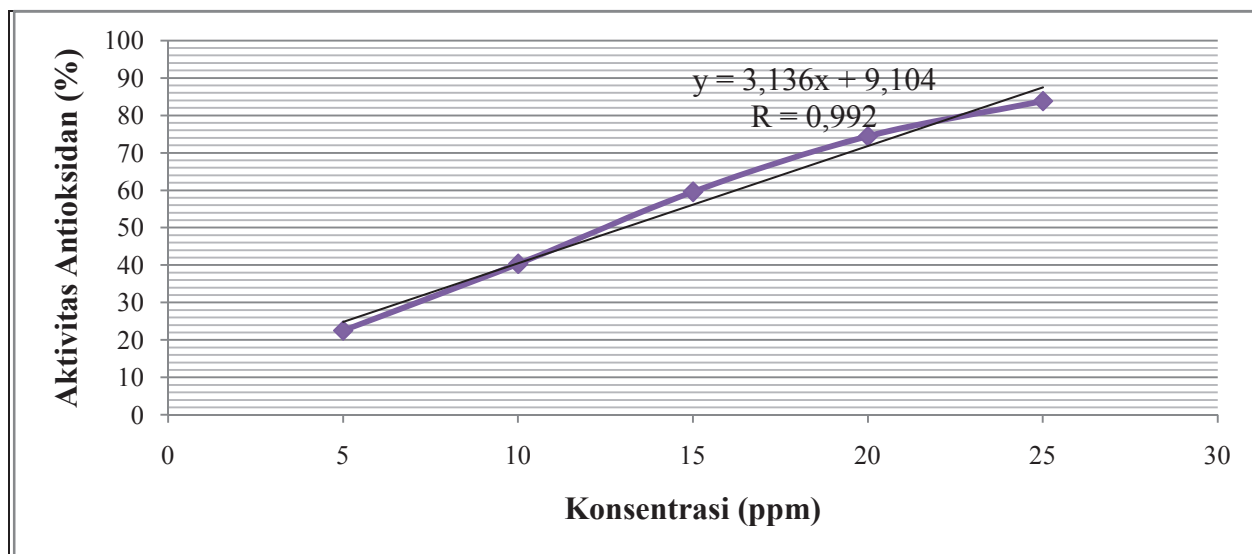
Fraksi n-Butanol

Konsentrasi yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan fraksi n-butanol adalah 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Dari pengujian ini diperoleh nilai absorbansi dan persen aktivitas antioksidan dari tiap konsentrasi yang ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Daun Pidada Merah

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	Aktivitas Antioksidan (A)	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
Kontrol DPPH	0,557	-	$y = b(x) + a$ $y = 3,136(x) + 9,104$ $r = 0,992$	13,04
5	0,432	22,50		
10	0,332	40,33		
15	0,225	59,60		
20	0,142	74,45		
25	0,090	83,84		

Berdasarkan tabel 4 diketahui konsentrasi fraksi n-butanol yang dapat menghambat 50 % DPPH adalah 13,04 ppm. Fraksi n-butanol daun pidada merah memiliki sifat sebagai antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC₅₀-nya bernilai kurang dari 50 µg/mL. Fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun pidada merah yang lainnya. Hal ini diduga karena kandungan senyawa antioksidan pada daun pidada merah telah mengalami pengelompokkan berdasarkan sifat kelarutannya saat melalui proses fraksinasi.



Gambar 4. Grafik Hubungan Konsentrasi dengan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Daun Pidada Merah

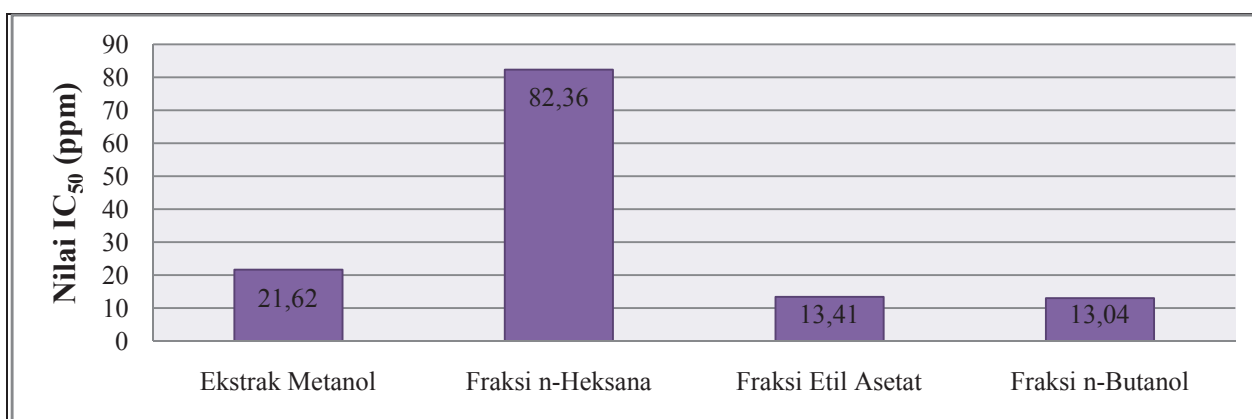
Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi n-butanol maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Persamaan regresi linier memiliki nilai b yang positif, sehingga menunjukkan bahwa kurva nilai persen aktivitas antioksidan merupakan kurva peningkatan. Koefisien b merupakan koefisien arah regresi linier dan menyatakan perubahan rata-rata variabel y untuk setiap perubahan variabel x. Dari persamaan regresi, diperoleh koefisien korelasi (r) dengan nilai 0,992 dengan nilai koefisien regresi (b) yaitu 3,136.

Berdasarkan perhitungan persamaan regresi linier dari setiap ekstrak dan fraksi, maka nilai IC_{50} dari ekstrak dan fraksi daun pidada merah dapat disajikan datanya seperti yang tercantum pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Nilai IC_{50} Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah

No.	Sampel Uji	Nilai IC_{50} (ppm)
1	Ekstrak metanol	21,62
2	Fraksi n-heksana	82,36
3	Fraksi etil asetat	13,41
4	Fraksi n-butanol	13,04

Konsep nilai IC_{50} adalah semakin kecil nilai IC_{50} suatu sampel maka semakin kuat aktivitas antioksidan sampel tersebut. Berdasarkan hasil perhitungan nilai IC_{50} dapat diketahui bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena IC_{50} -nya bernilai kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan fraksi n-heksana memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena IC_{50} -nya bernilai 50 – 100 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 5. Perbandingan Nilai IC_{50} Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah

Gambar 5 menunjukkan bahwa dari keempat sampel uji, fraksi n-butanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik jika dibandingkan dengan ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat karena memiliki nilai IC_{50} (konsentrasi penghambatan 50 % radikal) terkecil yaitu 13,04 ppm.

KESIMPULAN

Ekstrak dan fraksi daun pidada merah memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ ekstrak metanol 21,62 ppm, fraksi n-heksana 82,36 ppm, fraksi etil asetat 13,41 ppm, dan fraksi n-butanol 13,04 ppm. Sampel uji yang memberikan aktivitas antioksidan paling tinggi adalah fraksi n-butanol.

DAFTAR PUSTAKA

- DeLaune, S. C. dan Ladner, P. K. 1998. *Fundamentals of Nursing: standards and Practice, Volume 1*, dalam Maulana Rizqi Aldiansyah. 2011. *Pengaruh Perawatan Secara Topikal Dengan Ekstrak Batang Bratawali dalam Mempercepat Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Karena Termal*. Universitas Brawijaya: Malang.
- Halliwell, B. dan Gutteridge, J. M. C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, dalam Ruth Marliani Silalahi. *Karakterisasi Simplisia, Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Bunga Tumbuhan Brokoli (Brassica oleracea L. var. botrytis L.)*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Lautan, J. 1997. *Radikal Bebas pada Eritrosit dan Leukosit*, Cermin Dunia Kedokteran, (116), hal: 49-52.
- Sadhu, S. K., Ahmed, F., Ohtsuki, T. dan Ishibashi, M. 2006. *Flavonoids From Sonneratia caseolaris*. Journal of Natural Medicine 60: 264-265.