

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI EKSTRAK
SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendans*) & EKSTRAK TEH HITAM
(*Camellia sinensis* O.K.var.assamica (mast.)) DENGAN METODE DPPH
(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

Anang Budi Utomo, Agus Suprijono, Ardan Risdianto

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

SARI

Antioksidan merupakan senyawa yang pada konsentrasi rendah mampu mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Sarang semut (*Myrmecodia pendans*) dan teh hitam (*Camellia sinensis* O.K.var.assamica (mast.)) merupakan tanaman yang mempunyai kandungan senyawa-senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan. Penarikan senyawa-senyawa aktif dari sarang semut dilakukan dengan proses ekstraksi metode soxhletasi dengan menggunakan pelarut etanol. Sedangkan penarikan senyawa-senyawa aktif dari teh hitam dilakukan dengan proses ekstraksi metode digesti menggunakan pelarut air.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam terhadap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam dibuat dengan perbandingan 1:0; 2:1; 1:1; 1:2; dan 0:1 kemudian diencerkan dengan pelarut etanol 60% hingga diperoleh konsentrasi larutan uji 0,1%. Dari larutan tersebut dibuat deret konsentrasi 0,01%; 0,02%; 0,03%; 0,04%; dan 0,05% dan diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH secara spektrofotometri Vis, hingga diperoleh nilai EC₅₀.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai EC₅₀ untuk ekstrak sarang semut murni perbandingan 1:0 sebesar 3,6830 µg/ml, nilai EC₅₀ untuk ekstrak teh hitam murni perbandingan 0:1 sebesar 8,1720 µg/ml, nilai EC₅₀ untuk kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam perbandingan 2:1 sebesar 2,6443 µg/ml, perbandingan 1:1 sebesar 2,3925 µg/ml dan perbandingan 1:2 sebesar 3,6132 µg/ml. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak sarang semut yang dikombinasi teh hitam dengan perbandingan 1:1 memiliki aktivitas antioksidan terbesar. Hasil uji anava menunjukkan ada perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan antara ekstrak sarang semut murni, ekstrak teh hitam murni dan kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam.

Kata kunci : Sarang semut, teh hitam, aktivitas antioksidan, DPPH, EC₅₀

PENDAHULUAN

Sarang semut (*Myrmecodia pendans*) merupakan tanaman yang berasal dari Papua, Indonesia yang secara tradisional telah digunakan oleh penduduk asli Papua untuk mengobati berbagai penyakit. Berdasarkan hasil penelitian tanaman ini mengandung senyawa aktif penting tokoferol, flavonoid, fenolik, dan kaya berbagai mineral yang sangat berguna sebagai antioksidan dan anti kanker (Arianto, 2008). Kandungan tokoferol dan flavonoid dalam sarang semut ini, diduga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan.

Teh hitam (*Camellia sinensis* O. K var *assamica* (mast.)) merupakan salah satu minuman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Jenis teh ini dibuat melalui fermentasi oleh enzim polifenol oksidase yang dapat mengoksidasi enzimatis katekin dalam daun segar, sehingga memberi ciri khas teh hitam yaitu berwarna dan berasa tajam (Tuminah, 2004:53). Theaflavin dan thearubigin merupakan hasil oksidasi katekin akibat proses oksimatis pada pengolahan teh hitam. Polifenol utama dalam teh hitam adalah tanin dan flavonoid. Senyawa tersebut memiliki banyak gugus hidroksi (OH) yang dapat berfungsi sebagai antiradikal bebas atau antioksidan. Tanin dalam teh sebagian besar tersusun atas katekin, epikatekin, epikatekin galat, epigalo katekin, epigalo katekin galat dan, galokatekin (Hartoyo, 2003 : 15-19). Sedangkan flavonoid dalam teh hitam terutama berupa flavonol yaitu quercetin, kempferol dan myricetin (Kartiko, 2003 : 24).

Penarikan senyawa-senyawa aktif dari sarang semut yaitu tokoferol, flavonoid, dan tanin dilakukan dengan proses ekstraksi metode soxhletasi dengan menggunakan pelarut etanol. Sedangkan penarikan senyawa-senyawa aktif dari teh hitam yaitu flavonoid dan tanin dilakukan dengan proses ekstraksi metode digesti dengan menggunakan pelarut air.

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses atau pun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan (Hariyatimi, 2004 : 54). Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi

dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Wijaya, 1996).

Untuk menguji adanya aktivitas antioksidan dapat menggunakan metode DPPH. Pengamatan terhadap penangkapan radikal DPPH dapat dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi. Hal ini dapat terjadi oleh karena adanya reduksi radikal oleh antioksidan (AH) atau bereaksi dengan senyawa radikal lainnya (Yu dkk., 2002 : 1620).

Berdasarkan permasalahan di atas dilakukan penelitian aktivitas antioksidan kombinasi sarang semut dan teh hitam, karena keduanya sama-sama memiliki flavonoid dan tokoferol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Kombinasi sarang semut dan teh hitam dibandingkan dengan sarang semut murni untuk mengetahui perbedaannya, ditinjau dari kapasitas peredaman radikal bebas dengan ekstrak kombinasi sarang semut dan teh hitam terhadap DPPH (*1,1-difenil- 2-pikrilhidrazil*) secara spektrofotometri visibel.

METODE PENELITIAN

Bahan uji yang digunakan adalah sarang semut dan teh hitam. Bahan kimia yang digunakan antara lain DPPH 0,1 mM dan etanol pro analisa (p.a), sedangkan alat-alat yang digunakan antara lain mikropipet (Socorex), vortex mixer dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1240.

Sarang semut diekstraksi dengan metode :

Soxhletasi. 20 gr serbuk sarang semut dimasukkan ke dalam kantong dari kertas saring yang diatur sedemikian rupa hingga dapat dimasukkan ke dalam tabung soxhlet. Dilakukan soxhletasi menggunakan etanol 96% dengan volume 1,5 kali sirkulasi dan pada suhu 70^o-80^oC sampai pelarut tidak berwarna. Ekstrak yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70^oC sampai didapat ekstrak kental yang dianggap mempunyai konsentrasi 100%.

Teh hitam diekstraksi dengan metode :

Digesti. 20 gr serbuk teh hitam ditambah 150 ml aquadest, kemudian rendaman simplisia tersebut dipanaskan di atas penangas air pada temperatur 40^o-50^oC selama 30 menit sambil terus diaduk. Hasil penyarian disaring dengan

menggunakan kain kola. Ampas ditambah aquadest secukupnya kemudian diaduk dan diserkai sehingga didapat jumlah seluruh cairan penyari sebanyak 200 ml. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu kemudian disaring dengan menggunakan kain kola. Diuapkan di atas waterbath hingga diperoleh ekstrak kental teh hitam yang dianggap mempunyai konsentrasi 100%.

Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif

Pemeriksaan senyawa antioksidan dengan KLT, menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan eluen butanol : asam asetat : air (4:1:5), dideteksi menggunakan larutan DPPH. Dilihat noda di bawah sinar UV akan terbentuk noda berwarna ungu. Setelah kering kemudian lempeng disemprot dengan larutan DPPH. Terbentuknya noda putih kekuningan dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya senyawa antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif

Ditimbang sejumlah ekstrak kental sarang semut dan ditambahkan ekstrak teh hitam dengan perbandingan antara ekstrak sarang semut dan ekstrak teh hitam sebesar 1:0; 2:1; 1:1; 1:2 dan 0:1. Kemudian ekstrak kental sarang semut tersebut diencerkan dengan pelarut etanol 60% hingga diperoleh konsentrasi larutan uji 0,1%. Dari larutan tersebut dibuat deret konsentrasi 0,01%; 0,02%; 0,03%; 0,04%; dan 0,05%. Dari deret konsentrasi tersebut dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif. Diawali dengan skrining λ maksimal dan penentuan *operating time*.

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 4,0 ml DPPH 0,1 mM dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 50,0 μ l larutan ekstrak etanol sarang semut atau ekstrak sarang semut yang dicampur dengan ekstrak teh hitam untuk masing-masing konsentrasi. Selanjutnya campuran dihomogenkan dengan vortex selama 1 menit dan didiamkan sesuai *operating time* masing-masing larutan uji. Dilakukan pula pembacaan absorbansi larutan kontrol, yaitu larutan DPPH 0,1 mM.

Analisis data

Absorbansi dari ekstrak sarang semut, ekstrak teh hitam dan kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi DPPH sehingga diperoleh % aktivitas antioksidannya. Perhitungan persentase aktivitas antioksidan dapat menggunakan rumus :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \left| \frac{\text{Absorpsi kontrol} - \text{Absorpsi sampel}}{\text{Absorpsi kontrol}} \right| \times 100\%$$

Data hasil penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dihitung nilai EC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi linier. Nilai EC_{50} ekstrak sarang semut, ekstrak teh hitam, dan kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam diuji perbedaannya dengan uji anava menggunakan metode SPSS versi 16.

HASIL PENELITIAN

Metode ekstraksi sarang semut yang digunakan adalah metode soxhletasi. Soxhletasi merupakan salah satu metode penyarian yang menggunakan pelarut yang selalu baru. Umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga proses penyarian terjadi secara kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Cara penyarian ini dinilai cukup efektif dalam menyari senyawa yang terkandung dalam serbuk sarang semut. Sedangkan untuk ekstraksi teh hitam digunakan metode digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), secara umum dilakukan pada temperatur 40° – 50° C selama 30 menit. Cara ekstraksi ini hanya dapat digunakan untuk simplisia yang tahan terhadap pemanasan.

Pada ekstraksi sarang semut digunakan etanol 96% sebagai cairan penyari. Pemilihan cairan penyari ini berdasarkan kandungan tokoferol yang ada dalam sarang semut karena tokoferol bersifat mudah larut dalam etanol. Senyawa-senyawa lain, seperti flavonoid, polifenol, dan tanin masih dapat dimungkinkan ikut terlarut dalam cairan penyari karena masih adanya kandungan air pada etanol 96%. Sedangkan pada teh hitam digunakan air sebagai cairan penyari karena air

bersifat polar, sehingga akan mudah melarutkan senyawa polifenol yang bersifat polar, di antaranya tanin dan flavonoid. Air juga merupakan cairan yang umum, murah, dan aman dikonsumsi oleh masyarakat.

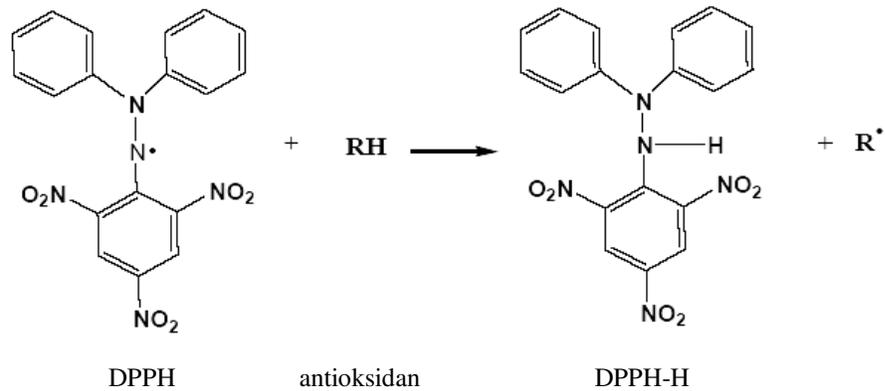
Setelah didapat ekstrak kental dilakukan uji pendahuluan masing-masing ekstrak untuk memastikan senyawa yang terkandung dalam ekstrak sarang semut dan ekstrak teh hitam. Uji pendahuluan meliputi uji senyawa fenol, polifenol, flavonoid, tanin. Dan dilakukan uji senyawa tokoferol hanya pada sarang semut.

Pada uji kualitatif aktivitas antioksidan secara KLT dengan pereaksi DPPH, bercak memberikan aktivitas peredaman radikal bebas, berarti ekstrak sarang semut dan ekstrak teh hitam mempunyai aktivitas antioksidan.

Dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dengan metode DPPH. Metode DPPH adalah salah satu uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak teh hitam sebagai antioksidan. Metode pengujian menggunakan DPPH merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan.

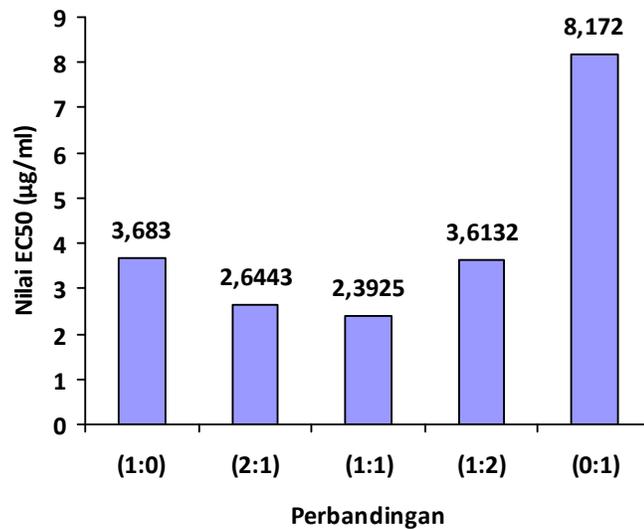
Untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH, maka pengukuran reaksi warna dilakukan pada konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan semakin besar pula peredamannya yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Dikarenakan pada konsentrasi tinggi senyawa yang terkandung akan semakin banyak dan menyebabkan semakin besar pula aktivitas antioksidannya.

Uji aktivitas antioksidan DPPH berdasarkan reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga akan dihasilkan DPPH-H (bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH (Windono dkk, 2004 : 29).



Gambar 1. Reaksi Penangkapan Radikal oleh DPPH (Molyneux, 2004)

Data % aktivitas antioksidan yang diperoleh, dihitung nilai EC_{50} dengan persamaan regresi linier. Nilai EC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai EC_{50} menunjukkan semakin besar kemampuan antioksidannya. Dari perhitungan yang telah dilakukan didapatkan data nilai EC_{50} yang ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Histogram Nilai Rata-rata EC_{50}

Dari nilai rata-rata EC_{50} pada masing-masing kombinasi ekstrak sarang semut dan ekstrak teh hitam, diketahui bahwa nilai EC_{50} terendah diperoleh pada perbandingan 1:1, yaitu sebesar 2,3925 $\mu\text{g/ml}$, diikuti dengan perbandingan 2:1

sebesar 2,6443 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:2 sebesar 3,6132 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:0 sebesar 3,6830 $\mu\text{g/ml}$ dan perbandingan 0:1 sebesar 8,1720 $\mu\text{g/ml}$. Artinya pada konsentrasi tersebut larutan uji dapat meredam DPPH sebesar 50%.

Dari perhitungan uji Anava menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada bahan uji, dilihat dari besarnya signifikansi pada uji Anava (0,000) yang lebih kecil dari nilai α 5% dan karena F hitung (119,480) lebih besar dari F tabel (2,87). Untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan dilakukan uji pasca anava. Hasilnya adalah ada perbedaan yang signifikan pada ekstrak sarang semut yang dikombinasikan dengan teh hitam pada perbandingan 2:1 dan 1:1, ditunjukkan dari nilai signifikansi ($p=0,020$) dan ($p=0,003$) lebih kecil dari nilai α 5%. Sedangkan untuk perbandingan 1:2 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, ditunjukkan dari nilai signifikansi ($p=0,999$) lebih besar dari nilai α 5%.

Dilihat dari data statistik yang dilakukan, yaitu pada ekstrak sarang semut murni, ekstrak teh hitam murni dan ekstrak sarang semut yang dikombinasikan dengan teh hitam pada perbandingan yang berbeda, terdapat perbedaan pada bahan uji yang ditunjukkan dari nilai signifikansi (0,000) lebih kecil dari nilai α 5% yang berarti H_0 ditolak atau terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak sarang semut murni, ekstrak teh hitam murni dan ekstrak sarang semut yang dikombinasikan dengan teh hitam. Sehingga hipotesis awal yang menyatakan bahwa ada perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak sarang semut murni, ekstrak teh hitam murni dan ekstrak sarang semut yang dikombinasikan dengan teh hitam adalah terbukti.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan :

1. Nilai EC_{50} untuk ekstrak sarang semut murni sebesar 3,6830 $\mu\text{g/ml}$, ekstrak teh hitam murni sebesar 8,1720 $\mu\text{g/ml}$ dan kombinasi ekstrak sarang semut dengan teh hitam pada perbandingan 2:1 sebesar 2,6443 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:1 sebesar 2,3925 $\mu\text{g/ml}$, perbandingan 1:2 sebesar 3,6132 $\mu\text{g/ml}$.
2. Nilai EC_{50} yang optimal diperoleh pada kombinasi ekstrak sarang semut dan teh hitam dengan perbandingan 1:1 yaitu sebesar 2,3925 $\mu\text{g/ml}$.

3. Ada perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan antara ekstrak sarang semut murni, ekstrak teh hitam murni dan kombinasi ekstrak sarang semut dengan ekstrak teh hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Arianto, Joko. *Katalog Produk : Sarang Semut Super.*: <http://www.bursamadu.com> (20 Mei 2008).
- Hariyatimi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia. *Jurnal MIPA. Universitas Muhammadiyah Surakarta* Vol. 14: 52-60.
- Hartoyo, A. 2003. *Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan*. Yogyakarta : Kanisius.
- Kartiko, P.D. 2003. Minum Teh ! Kenapa Tidak !!! *Warta Kesehatan TNI Angkatan Laut*. Volume XVII. (1).
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol.* 26(2) : 211-219.
- Tuminah, S. 2004. *Teh (Camellia sinensis O.K. var. Assamica (Mast)) sebagai Salah Satu Sumber Antioksidan*. Cermin Dunia Kedokteran No.144.
- Wijaya A, 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum, *Prodia Diagnostic Educational Services*, No. 1: 1–12.
- Windono,T., dkk. 2004. Studi Hubungan Struktur-Aktivitas Kapasitas Peredaman Radikal Bebas Senyawa Flavonoid terhadap 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). *Artocarpus* 4 (1) : 42-52.
- Yu, Liangli, Scott H., Jonathan P., Mary H., John W. & Ming Qian. 2002. Free Radicals Scavenging Properties of Wheat Extracts. *J.Agric Food Chem.* Colorado. 12 Februari 2002.