

PENAPISAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN BEBERAPA TUMBUHAN OBAT INDONESIA MENGGUNAKAN RADIKAL 2,2-DIPHENYL-1 PICRYLHYDRAZYL (DPPH)

ANTIOXIDANT SCREENING ACTIVITY OF SEVERAL INDONESIAN MEDICINAL PLANTS USING 2,2-DIFENIL 1-1 PICRYLHIDRAZYL(DPPH)

Dewi Wulansari dan Chairul

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI

ABSTRAK

*Antioksidan merupakan senyawa yang berguna mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh sehingga turut berperan mencegah berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari beberapa tumbuhan obat Indonesia. Sebanyak 37 ekstrak metanol tumbuhan obat diuji aktivitas antioksidannya secara in vitro menggunakan metode peredaman radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil pengujian menunjukkan 29 ekstrak memiliki aktivitas diatas 50% pada konsentrasi 1000 ppm. 5 ekstrak dengan aktivitas tertinggi antara lain ekstrak kulit batang *Sapium baccatum* dan *Leucosyke capitellata*, ekstrak daun *Ardisia crispa*, *Glochidion cauliflorum*, dan *Glochidion superbum*.*

Kata kunci : Antioksidan, tumbuhan obat, radikal bebas, DPPH

ABSTRACT

*Antioxidant is a compound useful to prevent oxidative damage generated by free radical in human body, thus protecting body from many diseases. The aim of this research is to investigate antioxidant activity of some Indonesian medicinal plants. A total of 37 methanolic extracts of Indonesian plants have been screened for their antioxidant activity by in vitro method using the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Vitamin C was used as positive control. Of the samples investigated, 29 exhibited radical scavenging properties more than 50% at 1000 ppm. Five extracts exhibited high activities i.e. bark extracts of *Sapium baccatum* and *Leucosyke capitellata*, leaves extracts of *Ardisia crispa*, *Glochidion cauliflorum*, and *Glochidion superbum*.*

Key words: Antioxidant, medicinal plant, free radical, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis dianugerahi kekayaan sumber daya hayati yang cukup tinggi. Keanekaragaman tumbuhan di Indonesia diperkirakan tidak kurang dari 25.000 jenis. Kekayaan ini telah banyak dimanfaatkan bagi kehidupan, salah satunya sebagai tumbuhan obat. Hutan Indonesia memiliki jenis tumbuhan obat tidak kurang dari 9606 jenis (Chairul, 2003) dan baru sebagian kecil yang diteliti secara ilmiah.

Banyak potensi tumbuhan obat yang belum diketahui terutama dari segi aktivitas biologisnya.

Aktivitas antioksidan suatu bahan berperan penting dalam mengindikasikan adanya kemungkinan aktivitas biologi lainnya. Hal ini disebabkan senyawa-senyawa antioksidan mempunyai khasiat yang dapat mengatasi berbagai macam gangguan metabolik dan keadaan patologik seperti kardiovaskular, respiratorik, infeksi, peradangan, karsinogenesis dan proses penuaan (Chairul, 2003). Antioksidan adalah senyawa yang berguna dalam membantu mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (ROS = *Reactive Oxygen Species*). Kerusakan oksidatif ini

Korespondensi : Dewi Wulansari
Alamat : Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI
Jl. Raya Jakarta-Bogor KM.46, Cibinong
E-mail : lipidewi@yahoo.com

terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit seperti Alzheimer, Parkinson, dan Sklerosis lateral amiotopik (Matteo & Esposito, 2003), penyakit pada gigi dan gusi (periodontal) (Waddington *et al.* 2008), penyakit kardiovaskular, hipertensi, hiperlipidemia, dan diabetes (Touyz and Schiffrin, 2004).

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penapisan aktivitas antioksidan beberapa tumbuhan obat Indonesia. Aktivitas antioksidan suatu bahan dapat dievaluasi dengan beberapa cara, diantaranya melalui kemampuannya dalam mencegah peroksidasi lipid yang disebabkan hidrogen peroksida, kemampuannya meredam anion radikal bebas superoksida, ataupun kemampuan dalam mereduksi radikal bebas DPPH. Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH secara *in vitro*. Kemampuan peredaman radikal bebas DPPH menunjukkan potensi antioksidan dari sampel yang menggambarkan keefektifannya, kemampuan pencegahan dan mekanisme perbaikan dalam mengatasi kerusakan pada sistem biologi (Vimala *et al.*, 2003).

METODOLOGI

Ekstraksi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari 37 bahan yang merupakan bagian tumbuhan. Tumbuhan yang digunakan diidentifikasi di Herbarium Bogoriense. Bagian-bagian tumbuhan seperti daun, kulit batang, buah, dan bunga dibersihkan dari kotoran, dicacah, dikeringkan, kemudian digiling. Serbuk kering diekstraksi dingin (maserasi) dengan metanol selama 24 jam, kemudian disaring. Hal ini diulang hingga filtrat menjadi jernih. Kumpulan filtrat dipekatkan dengan evaporator putar vakum hingga menjadi ekstrak.

Uji peredaman radikal bebas DPPH

Masing-masing ekstrak ditimbang 5 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a. (Merck) hingga 5 mL (Konsentrasi ekstrak 1000 ppm). Masing-masing larutan ekstrak kemudian diuji antioksidannya dengan mencampurkan 1 mL ekstrak 1000 ppm, 3 mL metanol p.a., dan 1 mL DPPH (Sigma) (0,04 M dalam metanol p.a.). Campuran tersebut didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu minilab 1240 pada panjang gelombang 516 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Sebagai

kontrol positif digunakan Vitamin C (Phytotechnology Laboratories) 1000 ppm dalam metanol p.a dan kontrol negatif adalah metanol p.a. Aktivitas antiradikal DPPH dihitung sebagai persentase reduksi DPPH (Q) (Molyneux, 2004). Nilai 0 berarti tidak terjadi peredaman radikal DPPH, sementara 100% berarti terjadi peredaman total yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi.

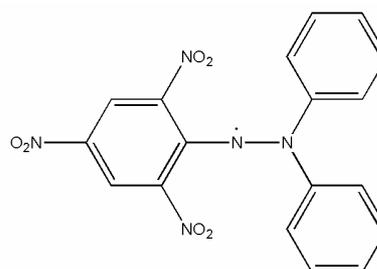
$$Q = 100 (A_0 - A_c) / A_0$$

A_0 = Absorbansi awal (larutan DPPH)

A_c = Absorbansi setelah penambahan sampel dengan konsentrasi tertentu (c)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian antioksidan pada penelitian ini menggunakan radikal bebas DPPH secara *in vitro* karena metodenya yang relatif lebih singkat dibanding metode lain dan telah digunakan secara luas untuk memprediksikan aktivitas antioksidan dari berbagai senyawa (Rohman *et al.*, 2006). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil karena elektron yang dapat terdelokalisasi dalam molekulnya (Gambar 1). Delokalisasi ini menyebabkan larutan DPPH dalam metanol memberikan intensitas warna ungu yang kuat dan absorbansi maksimum pada panjang gelombang disekitar 520 nm. Antioksidan dapat mengubah DPPH menjadi bentuk tereduksi sehingga intensitas warna ungu larutannya berkurang (Molyneux, 2004). Perubahan intensitas warna ini sebanding dengan besar kecilnya aktivitas antioksidan suatu bahan bila konsentrasi dibuat sama.



Gambar 1. Diphenyl picrylhydrazyl (DPPH)

Dari hasil penapisan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH terhadap 37 ekstrak, diketahui pada konsentrasi uji 1000 ppm hampir semua bahan yaitu sebanyak 29 ekstrak mempunyai aktivitas yang tinggi dalam meredam radikal bebas DPPH (aktivitas diatas 50%), 5 ekstrak memiliki aktivitas sedang (aktivitas antara

Tabel I. Aktivitas antioksidan beberapa tumbuhan obat Indonesia

Aktivitas	Nama Jenis	Bagian	Suku	% Peredaman (X ± SD)
Tinggi	<i>Acalypha hispida</i>	Daun	Euphorbiaceae	82,63 ± 2,86
	<i>Ardisia crispa</i>	Daun	Myrsinaceae	93,26 ± 0,10
	<i>Ardisia crispa</i>	Batang	Myrsinaceae	87,85 ± 2,04
	<i>Baccaurea racemosa</i>	Daun	Euphorbiaceae	91,23 ± 0,02
	<i>Bischofia javanica</i>	Kulit Batang	Euphorbiaceae	90,14 ± 1,28
	<i>Glochidion arboreum</i>	Daun	Euphorbiaceae	91,72 ± 0,13
	<i>Glochidion arboreum</i>	Kulit Batang	Euphorbiaceae	87,06 ± 1,50
	<i>Glochidion cauliflorum</i>	Daun	Euphorbiaceae	92,54 ± 0,22
	<i>Glochidion superbum</i>	Daun	Euphorbiaceae	92,68 ± 0,07
	<i>Glochidion superbum</i>	Kulit Batang	Euphorbiaceae	88,93 ± 2,03
	<i>Horsfieldia cf. spicata</i>	Kulit Batang	Myristicaceae	89,78 ± 0,84
	<i>Horsfieldia cf. spicata</i>	Buah	Myristicaceae	88,21 ± 0,56
	<i>Horsfieldia cf. spicata</i>	Daun	Myristicaceae	85,34 ± 0,38
	<i>Horsfieldia irya</i>	Kulit Batang	Myristicaceae	88,94 ± 0,10
	<i>Horsfieldia irya</i>	Daun	Myristicaceae	86,93 ± 0,70
	<i>Horsfieldia irya</i>	Buah	Myristicaceae	71,41 ± 1,58
	<i>Knema furfuracea</i>	Kulit Batang	Myristicaceae	91,91 ± 0,69
	<i>Knema laurina</i>	Kulit Batang	Myristicaceae	85,98 ± 1,40
	<i>Leucosyke capitellata</i>	Kulit Batang	Urticaceae	92,43 ± 0,95
	<i>Leucosyke capitellata</i>	Daun	Urticaceae	80,76 ± 0,19
	<i>Macaranga tanarius</i>	Daun	Euphorbiaceae	90,12 ± 2,13
	<i>Mussaenda frondosa</i>	Kulit Batang	Rubiaceae	91,05 ± 1,22
	<i>Mussaenda frondosa</i>	Bunga	Rubiaceae	85,24 ± 0,64
	<i>Mussaenda frondosa</i>	Daun	Rubiaceae	77,93 ± 2,17
	<i>Pimeleodendron amboinicum</i>	Daun	Euphorbiaceae	89,41 ± 1,07
	<i>Sapium baccatum</i>	Kulit Batang	Euphorbiaceae	94,40 ± 0,61
	<i>Sapium baccatum</i>	Daun	Euphorbiaceae	83,52 ± 1,40
	<i>Schima wallichii</i>	Buah	Ternstroemiaceae	90,34 ± 1,84
	<i>Schima wallichii</i>	Daun	Ternstroemiaceae	85,76 ± 0,26
	<i>Croton argyratus</i>	Daun	Euphorbiaceae	33,14 ± 1,44
	<i>Dendrocnide stimulans</i>	Kulit Batang	Urticaceae	45 16 ± 1,46
	Sedang	<i>Glochidion cauliflorum</i>	Kulit Batang	Euphorbiaceae
<i>Mallotus moluccanus</i>		Kulit Batang	Euphorbiaceae	25,49 ± 0,78
<i>Pipturus argenteus</i>		Daun	Urticaceae	37,78 ± 0,28
<i>Urophyllum arboreum</i>		Kulit Batang	Rubiaceae	5,70 ± 0,08
Rendah	<i>Pouzolzia zeylanica</i>	Daun	Urticaceae	6,34 ± 0,29
	<i>Rubia cordifolia</i>	Daun	Rubiaceae	0,00 ± 0,00

Keterangan : Tinggi = Persen peredaman radikal DPPH lebih dari 50%
 Sedang = Persen peredaman radikal DPPH antara 20-50%
 Rendah = Persen peredaman radikal DPPH kurang dari 20%
 Aktivitas kontrol positif (Vitamin C 1000 ppm) = 96,94% ± 0,01

20 hingga 50%), dan hanya 3 ekstrak dengan aktivitas rendah (aktivitas dibawah 20%) (Tabel 1). Hal ini menunjukkan tingginya potensi antioksidan dari tumbuhan-tumbuhan obat yang diuji.

Lima jenis tumbuhan yang memiliki aktivitas tertinggi yaitu *Sapium baccatum* (94,40%), *Ardisia crispa* (93,26%), *Glochidion superbum* (92,68%) , *Glochidion cauliflorum* (92,54%), dan *Leucosyke capitellata* (92,43%). Sampel *Sapium baccatum* dan *Leucosyke capitellata* tersebut merupakan ekstrak kulit batang, sementara 3 sampel lainnya adalah ekstrak daun.

Kandungan berbagai senyawa dalam tumbuhan bertanggung jawab terhadap tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dari tumbuhan tersebut. Salah satu metabolit sekunder tumbuhan yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid yang termasuk kedalam kelompok senyawa fenolik alam (Chairul *et al.*, 2003).

Rice-Evans *et al.*, 1996, menyatakan bahwa potensial reduksi dari radikal flavonoid lebih rendah dibandingkan radikal alkil peroksil dan superoksida, yang berarti senyawa flavonoid dapat menonaktifkan radikal-radikal tersebut, atau dengan kata lain flavonoid memiliki kemampuan sebagai peredam radikal bebas.

Selain flavonoid, senyawa polifenol juga berkontribusi sebagai antioksidan alami. Senyawa polifenol tumbuhan dikatakan bersifat multifungsi karena dapat berperan sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, dan peredam radikal oksigen, bahkan sebagai pengkelat logam pada beberapa kasus (Rice-Evans *et al.*, 1996). Kinetika reaksi antara senyawa fenolik dengan radikal DPPH telah dipelajari oleh Brand-Williams *et al.* (1995). Dari hasil penelitiannya dinyatakan bahwa pada kinetika reaksi yang cepat atau medium, stoikiometri reaksi antara DPPH dengan senyawa fenolik hampir bersesuaian dengan jumlah hidrogen pada gugus hidroksil yang tersedia untuk didonorkan. Ini berarti gugus hidroksil pada senyawa fenolik berperan penting dalam aktivitasnya sebagai antioksidan.

KESIMPULAN

Dari 37 ekstrak uji, sebanyak 29 ekstrak memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH diatas 50% pada konsentrasi 1000 ppm. Lima jenis tumbuhan dengan aktivitas peredaman radikal DPPH terbesar dan berpotensi untuk

diteliti lebih lanjut antara lain *Sapium baccatum* (Euphorbiaceae), *Ardisia crispa* (Myrsinaceae), *Glochidion superbum* (Euphorbiaceae), *Glochidion cauliflorum*, dan *Leucosyke capitellata* (Urticaceae).

DAFTAR PUSTAKA

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset C., 1995, Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 28, 25-30.
- Chairul, S.M., Sumarny, M., dan Chairul, 2003, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) secara *in vitro*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14(4), 208-215.
- Matteo V.Di and Esposito E. 2003, Biochemical and Therapeutic Effects of Antioxidants in the Treatment of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders*, 2(2), 95-107(13).
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarini J. Sci. Technol.*, 26(2), 211-219.
- Rice-Evans, C., Miller, N.J., & Paganga G., 1996, Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20(7), 933-956.
- Rohman, A., Riyanto, S., dan Utari, D., 2006, Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu serta Fraksi-Fraksinya, *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(3), 136-142.
- Touyz RM and Schiffrin EL. 2004. Reactive Oxygen Species in Vascular Biology: Implications in Hypertension. *Histochem Cell Biol*, 122, 339-352.
- Vimala, S., Adenan, M.I., Ahmad, A.R., & Shahdan, R., 2003, *Nature's Choice to Wellness Antioxidant Vegetables/Ulam*, Forest Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur, 31-33.
- Waddington RJ, Moseley R, and Embery G. 2008. Periodontal Disease Mechanisms: Reactive Oxygen Species: A Potential Role in The Pathogenesis of Periodontal Diseases. *Oral Diseases*, 6(3), 138-151.