

**UJI EFEK PEREDAM RADIKAL BEBAS
EKSTRAK METANOL RIMPANG TEMU MANGGA (*Curcuma mangga* Val.)
TERHADAP RADIKAL BEBAS 1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL**

(Reny Kusuma Wardhani, Ryanto Budiono, Tri Windono)

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SURABAYA

ABSTRAK

Dalam upaya mencari senyawa antioksidan dari tumbuhan suku Zingiberaceae, telah dilakukan uji peredam radikal bebas terhadap 1,1-Diphenil-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari ekstrak metanol rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.). Serbuk rimpang temu mangga diekstraksi berturut – turut dengan pelarut n-heksan dan metanol menggunakan soxhlet. Ekstrak metanol setelah diuapkan pelarutnya dengan pengurangan tekanan, dilakukan uji peredam radikal bebas terhadap DPPH secara KLT menurut metode Calis *et al*, dan secara Spektrofotometri menurut metode Joyeux *et al*, untuk menentukan harga EC_{50} -nya. Sebagai pembanding digunakan ekstrak metanol temulawak yang diekstraksi dari kapsul temulawak yang beredar di pasaran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa di dalam ekstrak temu mangga terdapat senyawa yang meredam DPPH dengan harga $EC_{50} = 63,4 \text{ mg\%}$, sedangkan ekstrak metanol temulawak dengan harga $EC_{50} = 32,8 \text{ mg\%}$, yang berbeda bermakna secara statistik *t-test*.

Kata kunci: temu mangga, *Curcuma mangga* Val., DPPH

I. PENDAHULUAN

Majunya dunia industri di Indonesia dilain segi dapat menyebabkan pencemaran udara atau polusi yang berefek samping negatif. Udara tercemar yang dihirup mengandung kadar radikal bebas yang merusak tubuh. Hal ini dapat dibuktikan dengan timbulnya penyakit degeneratif (1). Salah satu cara untuk menanggulangi radikal bebas adalah dengan mengkonsumsi bahan yang bersifat antioksidan atau peredam radikal bebas. Dalam arti biologis, peredam radikal bebas adalah senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidasi (2). Tubuh memiliki mekanisme pertahanan untuk menangkal radikal bebas, tetapi dengan semakin banyaknya radikal bebas, maka diperlukan antioksidan atau peredam radikal bebas dari luar.

Senyawa yang terdapat di alam yang memiliki efek antioksidan atau peredam ra-

dikal bebas antara lain : β karoten, Vitamin C dan E, flavonoid, kurkuminoid, polifenol, dan sebagainya(3). Rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) berdasarkan hasil skrining fitokimia secara KLT menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa kurkuminoid (4) dan flavonoid (4,5), sehingga secara teoritik rimpang temu mangga mempunyai efek meredam radikal bebas. Salah satu metode untuk mengukur besar efek peredam radikal bebas dari suatu senyawa atau ekstrak adalah dengan menggunakan senyawa 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (6).

Penelitian dilakukan untuk menguji kapasitas peredaman rimpang temu mangga terhadap radikal bebas DPPH. Sebagai pembanding digunakan ekstrak metanol temulawak yang mengandung kurkuminoid setara dengan 5 mg kurkuminoid. Pada pengukuran kapasitas peredam radikal bebas,

ekstrakmetanol rimpang temu mangga dan ekstrak metanol temulawak terhadap radikal bebas DPPH dilakukan dengan penentuan harga EC_{50} , yaitu konsentrasi yang meredam 50% jumlah radikal bebasnya.

Permasalahan yang timbul adalah :

1. Apakah ekstrak metanol rimpang temu mangga (*C. mangga* Val.) mengandung senyawa yang dapat meredam radikal bebas terhadap DPPH yang ditetapkan secara kromatografi lapis tipis ?
2. Berapa harga EC_{50} aktivitas peredam radikal bebas ekstrak metanol rimpang temu mangga (*C. mangga* Val.) ?
3. Apakah terdapat perbedaan bermakna antara harga EC_{50} ekstrak metanol rimpang temu mangga (*C. mangga* Val.) dengan harga EC_{50} ekstrak metanol temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.)?

II. METODE

II.1 Pembuatan Ekstrak Uji

Serbuk rimpang temu mangga (130 g) disokhletasi dengan heksan sampai diperoleh filtrat yang jernih (± 21 jam). Ampasnya dikeringkan kemudian disokhletasi kembali dengan pelarut metanol (± 20 jam) sampai tidak berwarna. Ekstrak heksan dan metanol yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar hingga kental, kemudian dilakukan penimbangan terhadap ekstrak yang diperoleh.

II.2 Pembuatan Ekstrak Pembanding

Isi kapsul Temulawak dikeluarkan, ditimbang 15 g, diekstraksi pada suhu kamar dengan pelarut metanol, disaring hingga tak berwarna, dipekatkan dengan penguap putar hingga kental, kemudian dilakukan penimbangan terhadap ekstrak yang diperoleh.

II.3 Uji aktivitas peredam radikal bebas secara KLT

Lempeng yang telah dieluasi, disemprot dengan larutan 0,2% DPPH dalam metanol, dan didiamkan selama 30 menit. Komponen yang aktif terlihat dari adanya noda kuning dengan latar belakang ungu.

II.4 Uji aktivitas peredam radikal bebas secara spektrofotometri

Sampel uji atau pembanding (1,5 ml), ditambahkan larutan DPPH (3,0 ml) diko-

cok homogen, reaksi dibiarkan berlangsung selama 15 menit kemudian diamati serapannya pada λ maksimum dengan blanko metanol. Pengukuran untuk blanko digunakan 1,5 ml metanol dimasukkan dalam tabung bersih dan kering, ditambahkan 3,0 ml larutan DPPH, kocok homogen, kemudian adsorbansi diukur pada menit kelimabelas pada λ maksimumnya.

II.5 Analisa data

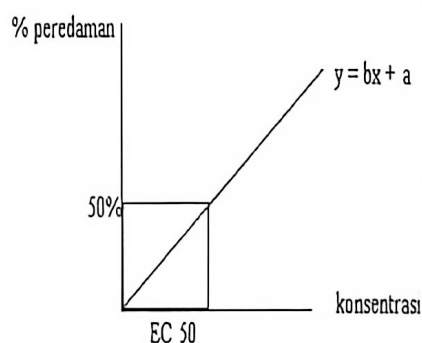
Perhitungan kapasitas peredam radikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu merah dari DPPH dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut (6).

% Peredaman =

$$\left\{ 1 - \frac{\text{Adsorban sampel uji}}{\text{Adsorban blanko}} \right\} \times 100 \%$$

Nilai 0 % berarti tidak mempunyai aktivitas peredam radikal bebas, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran bahan uji untuk melihat batas konsentrasinya.

Dari harga % peredaman dalam berbagai konsentrasi, dibuat kurva konsentrasi versus % peredaman, dibuat persamaan regresinya dan dihitung harga EC_{50} (konsentrasi yang meredam 50% jumlah radikal bebasnya).



Untuk mengetahui adanya korelasi antara konsentrasi sampel uji (bpj) dengan % peredaman digunakan rumus sebagai berikut :

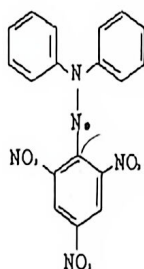
$$r = \frac{\sum XY - (\sum X \cdot \sum Y/n)}{\sqrt{(\sum X^2 - (\sum X)^2/n)(\sum Y^2 - (\sum Y)^2/n)}}$$

Jika perhitungan lebih besar dari r tabel pada $\alpha = 0,05$ berarti terdapat korelasi yang bermakna antara konsentrasi sampel uji dengan % peredaman (7). Untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas dari ekstrak metanol rimpang temu mangga dan ekstrak metanol temulawak dilakukan uji t pada EC_{50} kedua ekstrak. Bila t hitung > t tabel pada $\alpha = 0,05$ maka terdapat perbedaan bermakna antara ekstrak metanol rimpang temu mangga dan temulawak (8).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Radikal bebas didefinisikan sebagai suatu molekul atau senyawa yang keberadaannya *independent* dan mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan (9). Elektron radikal bebas yang tidak berpasangan ini mempunyai kecenderungan menarik elektron dari molekul lainnya, sehingga radikal bebas menjadi lebih reaktif. Sifat ini menyebabkan molekul cenderung bereaksi dengan zat sekitarnya. Contoh radikal bebas adalah superoksida ($O_2\bullet$), hidrooksida ($\bullet OH$), nitrooksida ($NO\bullet$) (2).

Antioksidan didefinisikan sebagai suatu zat yang dalam konsentrasi kecil dapat menunda atau mencegah proses oksidasi oleh radikal bebas. Contoh antioksidan alami dalam tubuh : glutathione tereduksi (GSH), superoksida dismutase (SOD) dan vitamin E (10).



DPPH

DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) merupakan senyawa radikal bebas yang relatif stabil (3). Dengan berat molekul 394,33, rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$. Merupakan serbuk berwarna ungu tua, larut dalam alkohol dan metanol. Bila dilarutkan akan berwarna ungu dan apabila berreaksi dengan senyawa peredam radikal bebas warna larutan akan memudar.

Hasil penentuan kapasitas peredam radikal bebas secara KLT dari ekstrak metanol rimpang temu mangga berupa bercak berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu (12). Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan kurkuminoid yang terdapat pada ekstrak metanol rimpang temu mangga mempunyai aktivitas meredam radikal bebas DPPH. Disamping itu, terdapat senyawa yang mampu memudarkan DPPH, yang belum diketahui strukturnya tetapi mempunyai aktifitas sebagai peredam radikal bebas.

Ekstrak metanol rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) memberikan harga % peredaman DPPH diatas 50% pada konsentrasi 660,0; 880,0 dan 1100,0 bpj. Sedangkan ekstrak metanol temulawak memberikan harga % peredaman DPPH diatas 50 % pada konsentrasi 360,0; 480,0 dan 600,0 bpj. Pada kurva konsentrasi larutan uji ekstrak metanol rimpang temu mangga terhadap % peredaman rata - rata DPPH diperoleh persamaan regresi:

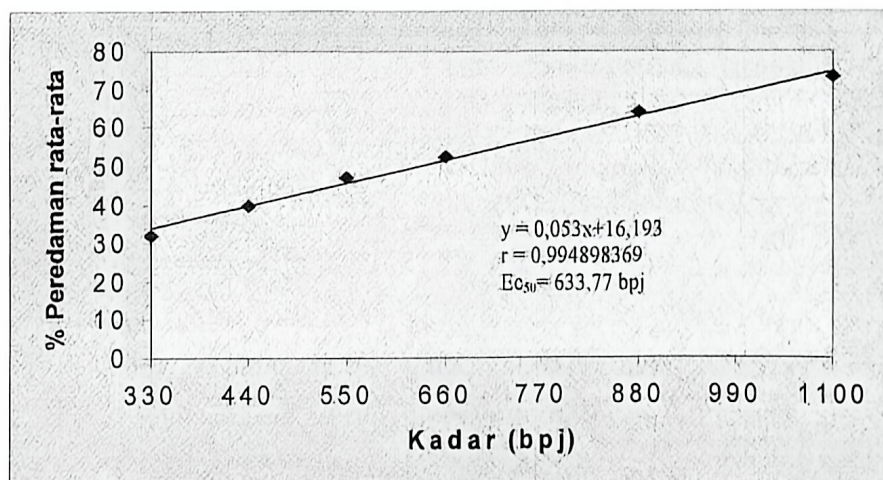
$Y = 0,0533418x + 16,19329509$,
sedangkan pada kurva konsentrasi larutan pembanding ekstrak metanol temulawak terhadap % peredaman rata-rata DPPH diperoleh persamaan regresi
 $Y = 0,091697712x + 19,91215687$.

Tabel I
Persamaan regresi linier dan EC₅₀
ekstrak metanol rimpang Temu mangga

Replikasi	Persamaan Regresi Linier	r hitung	EC ₅₀ (bpj)
1	$y = 0,052x + 16,300$	0,99446138	640,79
2	$y = 0,052x + 16,152$	0,99567926	641,18
3	$y = 0,054x + 16,594$	0,99253516	613,81
4	$y = 0,054x + 15,671$	0,995855267	634,64
5	$y = 0,054x + 15,672$	0,993798831	625,93
6	$y = 0,052x + 16,768$	0,995211177	647,60

Tabel II
Hasil perhitungan rata-rata % peredaman serta EC₅₀
ekstrak metanol rimpang Temu mangga terhadap larutan DPPH

Kadar (bpj)	% Peredaman	EC ₅₀ (bpj)
330	31,8	633,77
440	39,52	
550	47,22	
660	52,48	
880	64,2	
1100	73,18	
y = 0,053x+16,193		
r = 0,994898369		



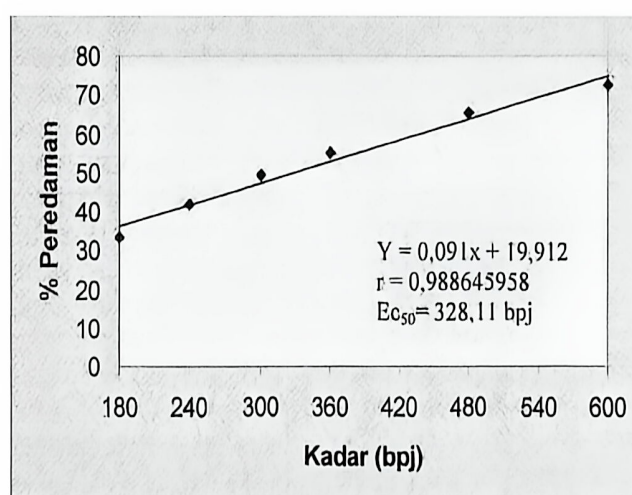
Gambar 1: Kurva % peredaman DPPH rata-rata sebagai fungsi kadar dari ekstrak metanol rimpang temu mangga (*C. mangga* Val. et Zyp.)

Tabel III
Persamaan regresi linier dan EC₅₀ ekstrak metanol Temulawak

Replikasi	Persamaan Regresi Linier	r hitung	EC ₅₀ (bpj)
1	$y = 0,091x + 20,155$	0,990974778	326,27
2	$y = 0,092x + 18,704$	0,989436666	337,29
3	$y = 0,091x + 20,507$	0,991525019	321,59
4	$y = 0,091x + 16,719$	0,989879057	364,93
5	$y = 0,091x + 21,959$	0,982372149	306,93
6	$y = 0,091x + 21,436$	0,983802499	311,64

Tabel IV
Hasil perhitungan rata-rata % peredaman serta EC₅₀ ekstrak metanol temulawak terhadap larutan DPPH

Kadar (bpj)	% Peredaman	Ec ₅₀ (bpj)
180	33,5	328,11
240	41,93	
300	49,32	
360	55,02	
480	65,22	
600	72,57	
y = 0,091x+19,912		
r = 0.988645958		



Gambar 2 : Kurva % Peredaman DPPH rata-rata sebagai fungsi kadar dari ekstrak metanol kapsul temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.)

Data regresi linieritas menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi dengan

% peredaman rata - rata radikal bebas DPPH, dimana hal tersebut ditunjukkan

oleh hasil r hitung. Untuk larutan uji, yaitu $r = 0,994898369$ dan larutan perbandingan

sebesar $r = 0,988645958$ yang lebih besar dari r tabel ($r = 0,811$) pada $\alpha = 0,05$.

Tabel V
Hasil perhitungan koefisien (r) antara kadar dengan % peredaman ekstrak metanol rimpang Temu mangga

No	r Hitung	r tabel
1	0,9944	0,811 (0,05)
2	0,9956	
3	0,9925	
4	0,9958	
5	0,9937	
6	0,9952	

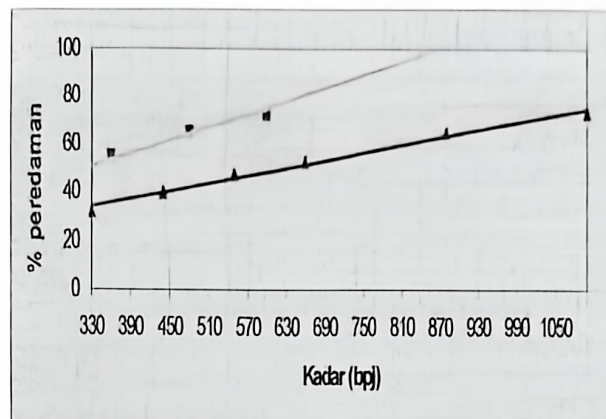
Tabel VI
Hasil perhitungan koefisien korelasi (r) antara kadar dengan % peredaman ekstrak metanol Temulawak

No	r Hitung	r Tabel
1	0,9909	0,811 (0,05)
2	0,9894	
3	0,9915	
4	0,9898	
5	0,9823	
6	0,9838	

Harga EC_{50} untuk larutan uji sebesar 633,77 bpj dan untuk larutan perbandingan sebesar 328,11 bpj. Berdasarkan data dilakukan perhitungan statistik dengan menggunakan metode t-test untuk menunjukkan ada tidaknya perbedaan bermakna antara larutan uji dan larutan perbandingan. Hasil data t hitung EC_{50} dari larutan uji dan larutan perbandingan sebesar 30,78765667. Nilai ini lebih besar dibandingkan dengan data t tabel yang sebesar 2,228 pada $dk = 12$, $\alpha = 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa EC_{50} ekstrak temu mangga dan ekstrak temulawak terdapat perbedaan bermakna, dimana ekstrak temulawak mempunyai efektivitas sebagai peredam radikal bebas lebih

Besar daripada ekstrak temu mangga. Hal ini kemungkinan disebabkan bahwa senyawa flavonoid dan kurkuminoid antara larutan uji dan larutan perbandingan mempunyai perbedaan kadar dan jenis, sehingga menyebabkan perbedaan kemampuan dalam meredam radikal bebas DPPH.

Pada uji aktifitas peredaman radikal bebas ekstrak temulawak memberikan harga EC_{50} yang lebih kecil dibanding ekstrak temu mangga. Artinya temulawak lebih efektif sebagai peredam radikal bebas daripada temu mangga. Karena semakin kecil harga EC_{50} , semakin efektif sebagai peredam radikal bebas. Untuk jelasnya, dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3 : Persen Peredaman terhadap kadar ekstrak metanol rimpang temu mangga dan temulawak

Keterangan:

1. Garis linier ATAS merupakan hasil regresi linier dari nilai % peredaman sebagai fungsi kadar temulawak dalam ekstrak metanol.
2. Garis linier BAWAH merupakan hasil regresi linier dari nilai % peredaman sebagai fungsi kadar temu mangga dalam ekstrak metanol.

Dari grafik diatas, dapat disimpulkan bahwa:

1. EC_{50} temulawak adalah sekitar 328,11 bpj, lebih kecil dari EC_{50} rimpang temu mangga sebesar 633,77 bpj. Gambar di atas memperlihatkan bahwa pada kadar yang sama, temulawak memberikan efek peredaman radikal bebas yang lebih baik daripada rimpang temu mangga.
2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa slope yang diberikan oleh garis linier ATAS lebih besar daripada slope garis linier BAWAH. Slope ditunjukkan oleh besarnya sudut tangensial yang dibentuk oleh garis trend dengan sumbu x (kadar). Dari slope terlihat bahwa persen peredaman tertentu dapat dicapai oleh kapsul temulawak dengan kadar yang lebih kecil dibanding dengan kadar temu mangga

IV. SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak metanol rimpang temu mangga mengandung senyawa yang dapat meredam radikal bebas DPPH
2. Ekstrak metanol rimpang temu mangga menunjukkan efek meredam radikal bebas dengan harga EC_{50} sebesar 63,377 mg %.
3. Terdapat perbedaan bermakna antara harga EC_{50} ekstrak metanol temulawak dan ekstrak metanol temu mangga, dimana pada ekstrak metanol temulawak, memiliki harga EC_{50} 32,811 mg% sedangkan pada ekstrak metanol temu mangga memiliki harga EC_{50} sebesar 63,377 mg %.

V. DAFTAR PUSTAKA

1. Niwa Y, Radikal Bebas Mengundang Kematian, (Terjemahan), Personal Care Co. Ltd., Japan, 1997: 8-24.
2. Sidik, Antioksidan Alami asal Tumbuhan, Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII, ITB, 26-27 Juni, 1997.
3. Larson RA, Naturally Occuring Antioxidant, Lewis Publishers, Boca Raton, New York, 1997: 106-7.
4. Reny KW, Uji Efek Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Metanol Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Val.) Terhadap Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-Picryl-

- hydrazyl* (DPPH) Secara Spektrofotometri Tampak, UBAYA, Surabaya, 24-27, 2001.
5. Syamsuhidayat SS, Hutapea JR, Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Republik Indonesia, 1991: 593.
 6. Joyeux M, Lobstem A, Anton R, and Mortier F, Comparative Antilipoperoxidant, Antinecrotic and Scavenging Properties of Terpenes and Biflavones from Ginkgo and Some Flavonoids, *Planta Med*, GI, 1995:126-129.
 7. Hadi S, Statistik, Jilis II, Cetakan ke-8, Yayasan Penerbit Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 1986.
 8. Scheffler MC, Statistika Untuk Biologi (Terjemahan), Farmasi dan Kedokteran dan Ilmu Bertautan, Penerbit ITB, Bandung, 1997: 93-99,176.
 9. Pine S, Kimia Organik, Jilid IV, Penerbit ITB, Bandung, 1988: 956-954.
 10. Halliwell B, Reactive Oxygen Species In Living Systems The American Journal of Medicine, Proceeding of A Symposium Oxidant and Antioxidant, 1991.
 11. Senba Y, Nishishita T, Saito K, Yoshioka H, and Yoshioka H, Stopped Flow and Spectrophotometric Study on Radical Scavenging by Tea Catechin and the Model Compound, Shizouka University, Japan, 1999:422-8529.
 12. Calis I, Kuruuzum A, Demirezor LO, Sticher O, Ganci W, Reudi P, Phenylvaleric Acid and Flavonoid Glycosides from *Polygonum Salicifolium*, *J. Nat Prod* 62, 1101-1105.