

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TEMULAWAK DAN JAHE DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1diphenyl,2-Picrylhidrazil)

Makruffiana Wijayanti dan Eni Hayani
Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan zat yang berfungsi melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Di dalam tubuh manusia terdapat suatu radikal bebas yang bersifat sangat reaktif, yang akan berinteraksi dengan bagian-bagian tubuh maupun sel-sel tertentu dan menyebabkan sel tersebut tidak normal (Mortier *et al.* 1995). Reaksi radikal bebas yang berlangsung terus menerus di dalam tubuh apabila tidak dihentikan akan menimbulkan penyakit seperti kanker, jantung, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu diperlukan antioksidan untuk mencegah aktivitas/reaksi radikal bebas tersebut. Antioksidan dapat diperoleh dari asupan makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E, beta karoten dan senyawa fenolik yang terdapat dalam buah-buahan dan sayuran.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman obat-obatan yang mengandung berbagai senyawa kimia khususnya senyawa fenol seperti flavonoid dan asam fenolat, bersifat antioksidan (Regina *et al.* 2008). Indonesia yang terletak di wilayah tropika basah mempunyai keanekaragaman sumber daya tanaman obat-obatan yang melimpah. Tanaman obat-obatan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan fungsional terutama untuk menghasilkan antioksidan. Dari berbagai tanaman obat-obatan tersebut tanaman temulawak dan jahe secara historis mempunyai kegunaan tradisional dan sosial cukup luas di kalangan masyarakat Indonesia. Temulawak berkhasiat sebagai penghilang rasa sakit, antibakteri/jamur, antidiabetic, anti

diare, antioksidan, antitumor, diuretic, depresi (Punomowati *et al.* 1977). Sedangkan jahe banyak digunakan dalam pengobatan keluarga sebagai obat masuk angin, kurang nafsu makan, batuk kering, muntah, kolera, peluruh keringat, dan peluruh haid. Temulawak dan jahe secara kualitatif mempunyai kandungan flavonoid yang sangat kuat.

Tujuan dari analisis antioksidan ekstrak temulawak dan jahe dengan metode DPPH (1,1 Diphenyl, 2-Picrylhirazyl) adalah untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan dan untuk mengetahui banyaknya contoh yang diperlukan dalam analisis antioksidan tersebut. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai konsentrasi efisien (EC_{50}) atau konsentrasi inhibisi (IC_{50}), yaitu konsentrasi larutan contoh yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Jumlah contoh yang digunakan berbeda antara temulawak dan jahe, begitu juga untuk sampel lainnya.

Dalam pengujian aktivitas antioksidan digunakan metoda serapan radikal DPPH (1,1 Diphenyl, 2-Picrylhidrazil) karena merupakan metode yang sederhana, mudah, menggunakan sampel/contoh dalam jumlah sedikit dengan waktu yang singkat dan DPPH stabil terhadap suhu ruang (Hanani *et al.* 2005; Endrini *et al.* 2009).

Alat yang digunakan adalah blender, stirrer (pengaduk), rotary evaporator, freeze dryer, spectrophotometer, shaker (pengocok) vortex, neraca, labu ukur, tabung reaksi, pipet dan corong.

Pembuatan ekstrak kering yang dilakukan secara berurutan, yaitu: simplisia temulawak dan jahe yang telah dihaluskan ditambah alkohol teknis dengan perbandingan 1:5, dikocok dengan menggunakan alat stirrer, didiamkan semalam, disaring, diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator setelah kental ditambah bahan pengisi dan dikeringkan dengan menggunakan alat freeze dryer.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak kering temulawak dan jahe ditentukan berdasarkan besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui serapan perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH.

Cara Kerja :

1. Membuat larutan DPPH dengan konsentrasi $2,0 \times 10^{-4}$ M dengan menggunakan pelarut methanol (MeOH).
2. Contoh yang akan dianalisa ditimbang selanjutnya dibuat pada berbagai tingkat konsentrasi, dilarutkan dengan methanol p.a dikocok selama 30 menit, dilanjutkan dengan penyaringan dan dipreparasi.
3. Larutan dengan berbagai konsentrasi contoh yang diuji, dikocok dengan shaker (vortex) kemudian didiamkan selama

No	Contoh			Blanko	
	MeOH	Contoh	DPPH	MeOH	contoh
Referensi	4 ml	-	1 ml	MeOH	-
1	-	4 ml	1 ml	1 ml	4 ml
2	2 ml	2 ml	1 ml	3 ml	2 ml
3	3 ml	1 ml	1 ml	4 ml	1 ml
4	3,5 ml	0,5 ml	1 ml	4,5 ml	0,5 ml

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah ekstrak temulawak, ekstrak jahe, standar DPPH (1,1 Diphenyl, 2-Picrylhidrazil), methanol p.a, alkohol teknis dan kertas saring.

30 menit dihitung setelah penambahan DPPH. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dari tiap konsentrasi contoh dengan menggunakan alat spektrophotometer pada panjang gelombang 517 nm,

data absorbansi yang diperoleh di setiap konsentrasi digunakan untuk menentukan persen inhibisi. Persen inhibisi dan konsentrasi contoh digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dengan persamaan regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran aktivitas anti oksidan dilakukan berdasarkan pada prinsip berapa jumlah radikal bebas yang dapat terserap oleh senyawa/ larutan contoh yang diuji. Semakin besar suatu contoh untuk menyerap radikal bebas, semakin besar perannya sebagai antioksidan. Nilai persen inhibisi dapat memberi gambaran mengenai besarnya aktivitas antioksidan dari suatu senyawa

Hasil analisis aktivitas anti oksidan ekstrak temulawak dengan konsentrasi 80, 160, 320, dan 620 ppm mempunyai nilai IC_{50} sebesar 122, 82 ppm (Tabel 1). Aktivitas antioksidan ekstrak jahe dengan konsentrasi 40, 80, 160, dan 320 ppm mempunyai nilai IC_{50} sebesar 105, 64 ppm (Tabel 2). Adanya aktivitas antioksidan dari contoh ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada larutan DPPH dalam methanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan contoh yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH, aktivitas antioksidan dikatakan kuat apabila mempunyai nilai IC_{50} kurang dari 200 ug/ml (Blouis 1958).

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak temulawak.

No	Konsentrasi contoh (ppm)	Absorbansi	Inhibisi %	IC_{50} (ppm)
1	80	0,308	37,78	122,82
2	160	0,184	62,89	
3	320	0,058	88,28	
4	640	0,024	95,15	
5	Referensi	0,517		

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak jahe .

No	Konsentrasi contoh (ppm)	Absorbansi	Nhibisi % I	IC_{50} (ppm)
1	40	0,363	26,67	105,63
2	80	0,271	45,25	
3	160	0,167	66,28	
4	320	0,072	85,45	
5	Referensi	0,495		

contoh, dimana persen inhibisi di dapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dengan absorbansi contoh yang diukur dengan spectrophotometer UV-Vis. tetapi nilai standar yang biasa dipakai adalah nilai IC_{50} yang diperoleh melalui analisa persamaan regresi. Semakin rendah nilai IC_{50} menggambarkan semakin efektif dari suatu contoh yang diuji untuk menyerap radikal bebas. (semakin rendah nilai IC_{50} aktifitas penangkapan radikal bebasnya semakin baik).

KESIMPULAN

Besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak kering temulawak dan ekstrak kering jahe berbeda, untuk ekstrak kering jahe diperlukan konsentrasi 40, 80, 160, dan 320 ppm; sedangkan ekstrak kering temulawak menggunakan konsentrasi yang lebih besar yaitu 80, 160, 320, dan 640 ppm. Nilai IC_{50} ekstrak kering temulawak adalah 122,82 ppm dan nilai IC_{50} ekstrak kering jahe adalah 105, 63 ppm.

DAFTAR PUSTAKA.

- Blouis, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1199-1200.
- Endrini, S., H. Marsiati, J. Suherman, O. Fauziah, dan R. Asmah. 2009. Aktivitas antioksidan dan efek sitotoksik ekstrak Kola (*Cola nitida*) pada kultur sel kanker hati (HepG-2). Jurnal Kedokteran Yarsi 17: 040-044.
- Hanani, E., A. Mun'im, dan R. Sekarini. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol II, No 3.
- Morteir, F., R. Anton, A. Lobstein, dan M. Joyeux. 1995. Planta Medica. 126-129.
- Purnomowati, S. dan A. Yoganingrum. 1997. Tinjauan literatur temulawak. Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta. 28 pp.
- Regina, A., Y. Lisawati, dan Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat. J. Sains dan Tek. Farmasi Vol. 13. No I. Padang