

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN DEWA (*Gynura procumbens*) DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Wahyu Widyaningsih

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
widyaningsihwahyu@yahoo.com

ABSTRAK

Antioksidan mempunyai aktivitas menetralkan senyawa radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kerusakan sel dan jaringan. Salah satu antioksidan dalam tanaman adalah flavonoid. Daun G. procumbens merupakan tanaman yang mengandung flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun G. procumbens dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

Ekstrak etanol diperoleh dengan mengekstraksi serbuk daun G. procumbens dengan alat Soxhlet. Aktivitas antioksidan diukur melalui penangkapan radikal DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 516 nm. Konsentrasi ekstrak etanol daun G. procumbens adalah 120 µg/ml, 240 µg/ml, 360 µg/ml, dan 480 µg/ml. Sedangkan konsentrasi Rutin sebagai pembanding adalah 2 µg/ml, 4 µg/ml, 6 µg/ml, 8 µg/ml, dan 10 µg/ml. Serapan yang terbaca digunakan untuk menghitung harga persentase penangkapan radikal bebas dan EC_{50} .

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa semua konsentrasi perlakuan memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas Harga Effective Concentration 50% (EC_{50}) untuk sampel 379,21 µg/ml dan rutin 6,66 µg/ml.

Kata kunci : daun *G. procumbens*, aktivitas antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Antioxidant can neutralize the free radical formation, one of substances cause cell or tissue damage. One of compound which has antioxidant activity is flavonoid. *G. procumbens* leaves is one of plant that has flavonoid content. This research aims to know the antioxidant activity of ethanolic extract of *G. procumbens* leaves that was analyzed using DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

The ethanolic extract was obtained from Soxhlet methods. Antioxidant activity was examined as scavengers of DPPH radical using UV-Vis spectrophotometer at maximum wavelength 516 nm. Concentration of ethanolic extract of *G. procumbens* leaves were 120 µg/ml, 240 µg/ml, 360 µg/ml, dan 480 µg/ml. Meanwhile for rutin as positive control by concentration 2 µg/ml, 4 µg/ml, 6 µg/ml, 8 µg/ml, and 10 µg/ml. The free radical scavengers were performed as EC₅₀ that calculate of DPPH absorbans.

The result showed that all concentration have ability to scavenge DPPH radical. The EC₅₀ value of sample was 379,21 µg/ml and 6,66 µg/ml test rutin as positive control.

Keywords : *G. procumbens* leaves, DPPH, antioxidant.

PENDAHULUAN

Senyawa golongan flavonoid dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Trease dan Evan, 1989, Narayana, 2001). Antioksidan dapat membantu tubuh dalam mengontrol proses oksidasi dan mempunyai kemampuan untuk mencegah atau menurunkan resiko terjadinya berbagai penyakit. Aktivitas antioksidan disebabkan adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya. Senyawa tersebut jika makanan bereaksi dengan radikal bebas akan membentuk radikal baru yang distabilisasi oleh efek resonansi inti aromatik. Radikal bebas yang masuk kedalam tubuh antara lain didapat dari pejanan sinar ultra violet, radiasi sinar elektromagnetik, asap rokok, polusi udara, hasil pembakaran mesin mobil, pestisida, herbisida, nitrogen dioksida, ozon, klorin, pencemaran bahan kimia, obat-obatan, lemak teroksidasi, serta olahan yang banyak mengandung zat pewarna dan pengawet dan bahkan karena olah raga yang berlebihan (Cooper, 2001). Radikal bebas juga dapat terbentuk di mitokondria yang terdapat pada setiap sel yang

bertugas memproses glukosa dan oksigen menjadi energi melalui reaksi enzimatik. Sewaktu terbentuk energi terbentuk pula radikal bebas. Radikal bebas oksigen inilah yang terbanyak ditemukan di dalam tubuh sebagai hasil sampingan dari rantai pernafasan di mitokondria (Dalimartha dan Soedibyo, 1999).

Antioksidan dari bahan sintetis memberikan efek samping yang cukup berbahaya bagi kesehatan, terutama menyebabkan kanker (Hernani dan Rahardjo, 2005). Oleh karena itu dicari sumber antioksidan alami yang lebih aman untuk dikembangkan.. Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, beta karoten, katekin dan resveratrol (Hernani dan Rahardjo, 2005).

Daun dewa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) sering digunakan pada ramuan obat tradisional. Pemeriksaan pendahuluan senyawa kimia daun dewa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid,

serta unsur kalium, kalsium, dan magnesium. (Sugihartina dkk, 1987) Daun dewa mengandung senyawa flavonoid (Prmono dan Sudarto, 1985; Suganda dkk, 1988). Fraksi polar ekstrak etanol daun dewa mengandung 3 flavonoid golongan flavon dan flavonol (Sugiyanto dkk, 1993). Penelitian oleh Idrus (2003) menyebutkan bahwa *G. procumbens* mengandung quersetin, kaemferol-3-O-neohesperidosida, kaemferol-3-glukosida, Quersetin-3-O-rhamnosil (1-6)galaktosida, Quersetin-3-O-rhamnosyl (1-6)glukosida. Dari ekstrak eter minyak bumi diisolasi golongan senyawa steroid yang diduga sebagai stimasterol. Dari ekstrak etanol 95% diisolasi golongan senyawa flavonoid yang diduga sebagai 3', 4', 7'-trihidroksiflavon dan kuersetin yang tersubstitusi pada gugus hidroksil posisi 4'; serta asam fenolat yang diduga sebagai asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam p-kumarat dan asam p-hidroksi benzoat baik dalam bentuk bebas maupun dalam bentuk glikosida dan ester (Sugihartina dkk, 1987). Adanya flavonoid golongan flavon dan flavonol pada ekstrak etanol daun dewa memungkinkan adanya efek antioksidan dari ekstrak etanol daun dewa. Penelitian ini ingin menguji efek antioksidan ekstrak etanol daun dewa dan menentukan EC₅₀nya dengan pembanding rutin dengan metode DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil).

Uji antioksidan, penangkapan radikal DPPH diikuti oleh penurunan serapan pada panjang gelombang 515–517 nm. Penurunan serapan diikuti dengan elektron nitrogen ganjil dalam DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang dapat digunakan sebagai substrat untuk mempelajari sebagai mekanisme penangkapan radikal pada beberapa fenolik, flavonoid, dan polifenol (Suryanto dkk, 2004).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah : daun dewa (*Gynura procumbens*) yang diperoleh dari Merapi Farma diambil bulan Oktober 2007, DPPH (1,1-

difenil-2-pikrilhidrazil), Etanol 96% (E. Merck), Rutin (Sigma) sebagai pembanding, Petroleum eter (E Mercki) dan Etanol 70 % (E Merck), aquadest, kertas saring, uap ammonia.

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan serbuk daun dewa

Daun Dewa dicuci bersih dan ditiriskan kemudian dikeringkan di udara terbuka di luar pengaruh sinar matahari langsung (dijemur di bawah kain hitam). Daun kering diserbuk dengan blender, kemudian disimpan dalam kantong plastik .

2 Pembuatan Ekstrak etanol daun dewa

Serbuk daun dewa seberat 75 gram diekstraksi dengan 300 ml petroleum eter dengan alat Soxhlet untuk mengawalemmakkan sebanyak 3 kali sirkulasi, sehingga didapat sari Petroleum Eter. Ampasnya dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C 12 jam kemudian diekstraksi lagi dengan 300 ml etanol 96% 3 kali sirkulasi dengan alat Soxhlet. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* dan didapat ekstrak kental. Ekstrak dikeringkan dalam oven dengan suhu 45°C hingga bobot konstan. Ekstrak yang diperoleh ditimbang. Diperoleh 4,93 g ekstrak.

3. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dengan Metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil)

Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 0,3 mM dalam pelarut etanol p.a dan dijaga pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya. Ekstrak dibuat larutan dengan konsentrasi 120; 240; 360; 480 µg/ml dengan pelarut etanol p.a. Rutin dibuat dengan konsentrasi 2, 4, 8 dan 10 µg/ml dengan pelarut etanol absolut p.a.

Ekstrak etanol daun dewa dan rutin yang telah dilarutkan dengan etanol 96 % (p.a) dengan berbagai konsentrasi (2,0 ml). Ditambah 0,5 ml larutan pereaksi DPPH dalam tabung reaksi kering. Dikocok homogen dan diinkubasi selama 15 menit untuk ekstrak etanol daun dewa dan 40 menit untuk pembanding rutin. Absorbansi DPPH diukur pada panjang gelombang 516 nm

untuk ekstrak etanol daun dewa dan 516,6 nm. untuk pembanding pembanding rutin. Larutan blangko digunakan etanol p.a (Suryanto dan Raharjo, 2003).

Analisis Data

Dari data yang diperoleh dianalisis dan dibandingkan larutan yang mengandung senyawa radikal hidroksi dengan larutan yang tidak mengandung senyawa penangkap radikal hidroksi. Semakin besar persentase berkurangnya serapan, berarti semakin kuat kemampuan penangkap radikal hidroksinya.

Rumus perhitungan sebagai berikut : % Penangkap radikal bebas sampel / rutin =

$$1 - \frac{\text{Absorbansi sampel pada } \lambda \text{ 517 nm}}{\text{Absorbansi kontrol negatif pada } \lambda \text{ 517 nm}} \times 100 \%$$

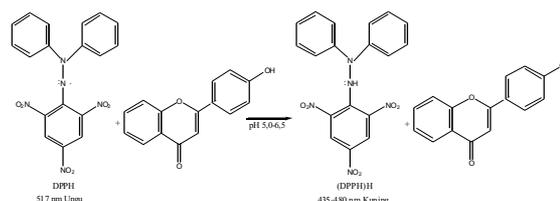
Dari harga persen penangkap radikal bebas ekstrak etanol daun dewa dan rutin yang diperoleh, dihitung persamaan regresi linier untuk selanjutnya ditentukan nilai EC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun dewa secara kuantitatif ditentukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), yaitu berdasarkan kemampuan ekstrak etanol daun dewa dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH.

Kemampuan ekstrak etanol daun *G. Procumbens* dan pembanding rutin dapat dilihat dari berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH yang telah ditambahkan dalam sampel dan pembanding. Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH tersebut dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hidrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna kuning. Semakin besar konsentrasi bahan uji, warna kuning yang dihasilkan akan semakin kuat. Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH ini secara kuantitatif dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Semakin besar konsentrasi bahan uji maka

absorbansi yang terbaca semakin kecil, yang berarti aktivitas bahan uji dalam menangkap radikal DPPH semakin besar. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan larutan uji. Reaksi antara radikal DPPH dengan flavonoid sebagai senyawa penangkap radikal dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi antara radikal DPPH dengan flavonoid

Flavonoid dalam ekstrak etanol daun dewa akan melepaskan $H\cdot$ yang merupakan salah satu radikal bebas. $H\cdot$ akan berikatan dengan radikal DPPH membentuk senyawa baru yaitu difenil pikrilhidrazil yang stabil. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun dewa sebagai penangkap radikal bebas yang kehilangan $H\cdot$ akan menjadi radikal baru yang relatif lebih stabil dan tidak berbahaya bagi tubuh karena adanya efek resonansi inti aromatik.

Pembanding yang digunakan sebagai pembanding aktivitas penangkap radikal bebas DPPH terhadap ekstrak etanol daun *G. Procumbens* adalah rutin. Pemilihan rutin sebagai pembanding karena merupakan glikosida flavonoid yang aglikonnya quersetin telah diketahui terkandung dalam tanaman *G. Procumbens*. Quersetin merupakan aglikon flavonoid yang diperoleh dari hidrolisis rutin (glikosida flavonoid) dan telah diketahui bahwa quersetin memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Tjay dan Rahardja, 2002).

Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk mengetahui persen penangkapan radikal bebas DPPH yang menyatakan aktivitas

antioksidan sampel dan pembanding dalam mereduksi radikal bebas DPPH. Persen penangkapan radikal bebas diketahui dengan cara absorbansi kontrol negatif dikurangi absorbansi bahan uji kemudian hasilnya dibagi dengan absorbansi kontrol negatif. Absorbansi kontrol negatif menunjukkan jumlah DPPH dalam larutan.

Absorbansi kontrol negatif untuk ekstrak etanol daun *G. Procumbens* sebesar 0,6274 dan absorbansi kontrol negatif untuk rutin sebesar 0,6318. Persen penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun *G. Procumbens* dan rutin seperti pada Tabel I dan II

DPPH semakin besar pula. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya juga semakin besar.

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun *G. Procumbens* dan rutin dapat dinyatakan dengan parameter EC_{50} (*Effective Concentration*) yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50 %. Nilai EC_{50} ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi bahan uji dengan persentase penangkapan radikal bebas rata-rata dari masing-masing konsentrasi. Persamaan regresi linier, harga r tabel dengan taraf kepercayaan 95

Tabel I. Persen penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun *G. Procumbens*

Replikasi	Persen Penangkapan Radikal DPPH pada berbagai konsentrasi			
	A	B	C	D
	120 µg/ml	240 µg/ml	360 µg/ml	480 µg/ml
1	23,01	36,40	50,27	57,60
2	22,86	34,97	50,54	57,76
3	22,22	36,40	51,86	58,88
4	21,90	37,80	52,34	57,76
Rerata ± SD	22,50 ± 0,53	36,39 ± 1,15	51,25 ± 1,00	58,00 ± 0,59

Tabel II . Persen penangkapan radikal bebas DPPH rutin

Replikasi	Persen Penangkapan Radikal DPPH pada berbagai kons				
	E	F	G	H	I
	2 µg/ml	4 µg/ml	6 µg/ml	8 µg/ml	10 µg/ml
1	21,65	39,06	46,34	54,73	70,09
2	22,44	38,43	45,24	53,78	70,72
3	23,40	36,85	47,45	55,21	69,93
4	22,52	37,32	48,56	53,78	68,19
Rerata±SD	22,50±0,62	37,92±1,01	46,90±1,43	54,38±0,71	69,73±1,08

Dari Tabel I dan II dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi bahan uji yang ditambahkan maka persen penangkapan radikal

% serta harga EC_{50} ekstrak etanol dan rutin dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel III. Persamaan regresi linier antara konsentrasi vs persen penangkapan radikal bebas, harga r tabel serta harga EC_{50} ekstrak etanol daun *G. Procumbens* dan rutin

Perlakuan	Persamaan	R hitung	r tabel	EC_{50}
Ekstrak etanol daun <i>G. procumbens</i>	$Y = 0,101x + 11,7$	0,9891	0,8814	379,21 µg/ml
Rutin	$Y = 5,55x + 13,01$	0,9917		6,66 µg/ml

Harga EC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Semakin besar harga EC_{50} aktivitas antioksidan semakin kecil, artinya konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar 50 % semakin besar. Tabel III menunjukkan bahwa rutin mempunyai harga EC_{50} lebih kecil dibanding ekstrak etanol daun *G. procumbens*, artinya rutin mempunyai aktivitas antioksidan lebih besar dibanding ekstrak etanol daun *G. procumbens*. Hal ini mungkin dikarenakan senyawa flavonoid baik aglikon maupun glikosida yang tersari dari daun *G. procumbens* dalam ekstrak etanol jumlahnya kecil. Hal ini terlihat pada identifikasi awal adanya flavonoid pada ekstrak etanol dengan uap amonia intensitas warna kuning yang ditunjukkan tidak terlalu intensif. Kemungkinan lain ekstrak etanol daun *G. procumbens* mengandung zat-zat selain flavonoid yang masih ikut terlarut, sehingga aktivitasnya sebagai penangkap radikal bebas lebih kecil dibanding rutin yang merupakan senyawa murni.

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai EC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat untuk EC_{50} bernilai 50-100 $\mu\text{g/ml}$, sedang jika EC_{50} bernilai 151-200 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *G. procumbens*, memberikan nilai EC_{50} sebesar 379,21 $\mu\text{g/ml}$, hal ini menunjukkan bahwa sampel memiliki aktivitas antioksidan kecil.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun *G. procumbens* mempunyai aktivitas antioksidan kecil.
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun *G. procumbens* yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50% (EC_{50}) adalah 379,21 $\mu\text{g/ml}$.
3. Konsentrasi rutin yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50 % (EC_{50}) adalah 6,66 $\mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Cooper, H. Keneth, 2001, *Sehat Tanpa Obat 4 Langkah Revolusi Antioksidan*, Kaita, Bandung.
- Dalimartha, S., Soedibyo., 1999, *Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*, Trubus Agriwidiya, Semarang, 1-8.
- Hernani dan Rahardjo. M., 2005, *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta hal 1-20, 62-63.
- Suganda, A., Sudiro, I., dan Ganthina, 1988, *Skrining Fitokimia dan Asam Fenolat Daun Dewa (*Gynura procumbens* (Luor) Merr)*, Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III < Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sugiyanto, Sudarto, B., dan Meyanto E, 1993, *Efek Penghambatan Karsinogenesis Benzo(a)piren Oleh Preparat Tradisional Tanaman Gynura sp Dan Identifikasi Awal Senyawa yang berkhasiat*, *Laporan Penelitian P4M Ditjen Dikti*, Fak Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Sugihartina Ganthina, Iwang S. Soediro, Asep Gana Suganda, 1987, *Pemeriksaan Pendahuluan Senyawa Kimia Daun Dewa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) Skripsi*, ITB <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>.
- Narayana, K.R., 2001, *Bioflavonoid Classification, Pharmacological, Biochemical Effect and Therapeutical Potential*, *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 33, 2-16.
- Pramono, S., 1989, *Pemisahan Flavonoid*, Fakultas Paska Sarjana, UGM, Yogyakarta, 1-19.
- Suryanto, E., Raharjo, S., Tranggono, dan Sastrohamidjojo, H., 2004, *Antiradical Activity of Andaliman (*Zantoxylum achantopodium*, DC) Fruit Extract*, *International Conference of Functional and Health foods: Market, Technology*

and Health Benefit, Gadjah Mada University, Yogyakarta, 329-334.

Tjay, T.H dan Rahardja, K. 2002, *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi V, Penerbit PT Elex Media Komputindo, Jakarta, hal 814-815.

Trease, G.E., Evans, W.C., 1989, *Pharmacognosy*, ELBS. Low Priced Edition Oxford, hal 419-420.

