

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kemiri (*Aleurites moluccana* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl)

Keyman^{1*}, Ridwan²

¹Program Studi Pendidikan Kimia, Universitas Halu Oleo

²Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Muslim Buton

ridwan071093@gmail.com

Abstract

Candlenut bark is a source of various bioactive compounds with antioxidant potential and or free radical neutralization. This study investigated the antioxidant activity of candlenut bark extract. The research was carried out through several stages including: sample preparation, sample extraction, making reagents, making ethanol extracts, making vitamin C solutions, measuring the maximum wavelength of DPPH, and measuring the absorbance of free radical neutralization using the DPPH method. The results showed that the ethanol extract of candlenut stems had antioxidant activity as indicated by the higher the volume of ethanol extract added to the test solution, the higher the percentage of free radical neutralization. The ratio of the volume with the percentage of free radical neutralization, which is 10 mg/mL has a free radical neutralization percentage of 8.90%, 25 mg/mL has a neutralization percentage of 26.03%, 50 mg/mL has a neutralization percentage of 44.52%, and 75 mg/mL has a neutralization percentage of 65.75%.

Keywords: candlenut, ethanol extract, antioxidant

Abstrak

Kulit batang kemiri merupakan salah satu sumber berbagai senyawa bioaktif dengan potensi antioksidan dan atau penetral radikal bebas. Penelitian ini menyelidiki aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang kemiri. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap diantaranya : persiapan sampel, ekstraksi sampel, pembuatan pereaksi, pembuatan ekstrak etanol, pembuatan larutan vitamin C, pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH, dan pengukuran absorbansi penetralan radikal bebas dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang kemiri memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan semakin tinggi volume ekstrak etanol yang ditambahkan ke dalam larutan uji maka semakin tinggi pula persentase penetralan radikal bebas. Perbandingan volume dengan persentase penetralan radikal bebas yaitu 10 mg/mL memiliki persentase penetralan radikal bebas sebesar 8,90%, 25 mg/mL memiliki persentase penetralan sebesar 26,03%, 50 mg/mL memiliki persentase penetralan sebesar 44,52%, dan 75 mg/mL memiliki persentase penetralan sebesar 65,75%.

Kata kunci : kemiri, ekstrak etanol, antioksidan

Pendahuluan

Keanekaragaman hayati Indonesia menempati peringkat ke-3 di dunia setelah Brazil dan Zaire. Indonesia menjadi rumah bagi 30.000 dari 40.000 tanaman obat herbal di dunia, tanaman obat di Indonesia dikenal sebagai “Tanaman Biofarmaka” yang berarti tanaman yang berguna untuk pengobatan tradisional. Peran tumbuhan obat sebagai obat tradisional di Indonesia selalu menjadi bagian budaya yang diwariskan secara turun-temurun. Selama berabad-abad, masyarakat adat Indonesia mengembangkan obat tradisional dari tumbuhan yang diidentifikasi oleh nenek moyang untuk menyembuhkan penyakit dan menjaga kesehatan [1].

Tumbuhan obat memainkan peranan yang sangat vital dalam pemanfaatannya untuk pengobatan, disamping memberikan manfaat ekologi, ekonomi dan budaya. Sejak zaman kuno, tumbuhan digunakan sebagai sumber obat-obatan yang efektif dan aman. Salah satu bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat yaitu kulit batang kemiri (*Aleurites*

moluccana L.). Kulit batang kemiri mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol yang memiliki aktivitas antikanker (Windyaswari et al., 2015).

Senyawa antioksidan mampu menangkal radikal bebas, dengan demikian menghambat mekanisme oksidatif yang mengarah pada pengendalian penyakit degeneratif dan lainnya. Antioksidan memiliki keunggulan karena tidak memiliki efek samping, lebih murah dan melimpah di berbagai jenis tanaman. Sejumlah besar tanaman obat telah diteliti antioksidannya dan dianggap mampu mencegah proses destruktif yang disebabkan oleh stress oksidatif [3]. Aktivitas radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh manusia dapat ditandai dengan kondisi patologis seperti penyakit kardiovaskular, komplikasi prenatal, arthritis, katarak, parkinsonisme, alzheimer, dan penuaan. Salah satu cara untuk mencegah terbentuknya radikal bebas adalah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan alami ditemukan pada berbagai jenis tanaman dan dianggap tidak beracun jika dibandingkan dengan antioksidan sintetik [4]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.).

Metoda Penelitian

Persiapan Sampel

Sampel berupa kulit batang kemiri diambil dan dibawa ke Laboratorium. Kulit batang kemiri dibersihkan dan dicacah, setelah itu dikeringkan. Kulit batang kemiri yang telah kering dihaluskan menggunakan blender. Kulit batang kemiri yang telah dihaluskan disimpan untuk dilakukan uji.

Ekstraksi Sampel

Sampel kulit batang kemiri yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 500 g. selanjutnya dimaserasi menggunakan 1000 mL etanol 96% sampai semuanya terendam. Sampel diinkubasi selama 24 jam, sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat ditampung dan residunya dimaserasi kembali dengan etanol 1000 mL, lalu diinkubasi selama 24 jam. Proses maserasi dilakukan hingga diperoleh maserat yang tidak berwarna. Filtrat yang diperoleh digabungkan, kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*.

Pembuatan Pereaksi

Larutan pereaksi dibuat dengan mengencerkan 30 mL DPPH 1 mM dengan 70 mL pelarut etanol p.a. Larutan dijaga pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya matahari langsung. Larutan induk DPPH 1 mM dibuat dengan melarutkan 39,43 mg serbuk DPPH dalam 100 mL etanol p.a.

Pembuatan Ekstrak Etanol

Larutan ekstrak etanol 1000 mg/L dibuat dengan melarutkan 100 mg ekstrak etanol dengan menggunakan pelarut etanol p.a. dalam labu ukur 100 mL. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan etanol menjadi 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L, dan 100 mg/L.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Larutan vitamin C dibuat sebagai pembanding, Larutan vitamin C 1000 mg/L dibuat dengan melarutkan 100 mg vitamin dengan menggunakan etanol p.a. dalam labu ukur 100

mL. Larutan vitamin C 100 mg/L lalu diencerkan dengan etanol menjadi 1 mg/L, 2,5 mg/L, 5 mg/L, 7,5 mg/L, dan 10 mg/L.

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,3 mM diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm – 520 nm, sesuai dengan warna serapan (komplementer) UV-Vis untuk larutan DPPH yang berwarna ungu tua.

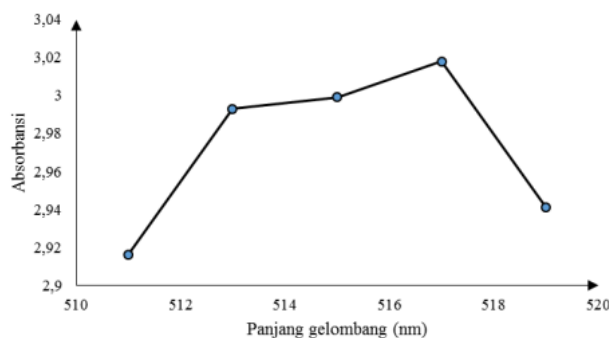
Pengukuran Absorbansi Penetralkan Radikal Bebas dengan Metode DPPH

Ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.) dan vitamin C dengan variasi konsentrasi yang telah dibuat dimasukkan dalam tabung reaksi kering masing-masing sebanyak 4 mL. Setiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL pereaksi DPPH 0,3 mM. Larutan pereaksi DPPH 0,3 mM dikocok homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal. Larutan blanko digunakan etanol p.a. (Suryanto et al, 2004).

Hasil dan Pembahasan

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

Larutan DPPH 0,3 mM diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 511 nm – 519 nm. Pengambilan rentang panjang gelombang tersebut didasarkan pada serapan untuk komplemen warna DPPH, yaitu ungu tua. Hasil pengukuran panjang gelombang dengan rata-rata nilai absorbansi DPPH 0,3 mM dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengukuran Panjang gelombang maksimum DPPH

Gambar 1. merupakan grafik hubungan antara panjang gelombang dengan besarnya absorbansi oleh larutan DPPH. Berdasarkan gambar tersebut, dapat dilihat bahwa panjang gelombang maksimum paling tinggi yang diserap oleh larutan DPPH pada rentang tersebut adalah 517 nm sebesar 3,018, sementara panjang gelombang paling rendah yang diserap oleh larutan DPPH pada rentang yang sama adalah 511 sebesar 2,196. Dari grafik tersebut dapat disimpulkan bahwa panjang gelombang maksimum yang diserap oleh larutan DPPH adalah 517 nm.

Pengukuran Absorbansi Penetralan Radikal Bebas

Uji aktivitas antioksidan penetralan radikal bebas ekstrak etanol dilakukan dengan metode DPPH. Besarnya persentase penetralan radikal bebas dapat diketahui dari persentase penurunan absorbansi DPPH pada masing-masing penambahan ekstrak etanol dari larutan kontrol. Vitamin C digunakan sebagai pembanding berbagai konsentrasi. Hasil pengukuran absorbansi penetralan radikal bebas dan % penetralan radikal bebas oleh ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.) dan Vitamin C sebagai pembanding tercantum pada Tabel 2.

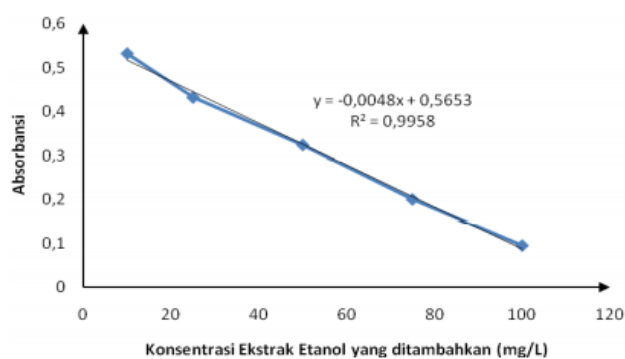
Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi & % penetralan radikal bebas oleh ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.) dan vitamin C

Konsentrasi (mg/L)		Absorbansi		% penetralan radikal bebas (%)	
Ekstrak Etanol	Vitamin C	Ekstrak Etanol	Vitamin C	Ekstrak Etanol	Vitamin C
10	1	0,534	0,346	8,90	40,75
25	2,5	0,432	0,256	26,03	56,16
50	5	0,324	0,174	44,52	70,21
75	7,5	0,200	0,112	65,75	80,82
100	10	0,095	0,038	83,73	93,49

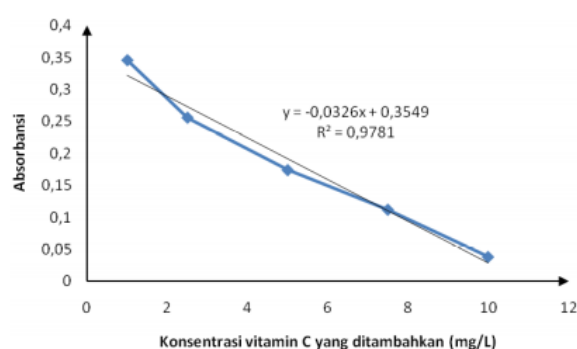
Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang kemiri memiliki potensi dalam penetralan radikal bebas. Hal ini ditunjukkan dengan semakin banyak ekstrak etanol yang ditambahkan, semakin tinggi pula persentase penetralan radikal bebas. Kulit batang kemiri merupakan sumber yang kaya akan berbagai senyawa bioaktif dengan potensi sifat antioksidan dan sifat antimikroba. Kandungan fenolik pada kulit batang kemiri memiliki aktivitas antiradikal [5]. Penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding, hasil menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas penetralan radikal bebas yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak etanol kulit batang kemiri. Hal ini disebabkan karena vitamin C sudah dalam keadaan murni.

Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Kemiri (*Aleurites moluccana* L.)

Metode yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kulit batang kemiri adalah metode DPPH. DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazil) menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil. Radikal DPPH berwarna ungu, sementara DPPH yang tidak bersifat radikal berwarna kuning. Aktivitas antioksidan kulit batang kemiri dapat diketahui dengan melihat seberapa besar kemampuannya menetralkan radikal DPPH. Radikal DPPH ditambahkan ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.) dengan berbagai konsentrasi. Semakin besar penetralan radikal bebas, semakin berkurang intensitas warna ungu dari DPPH. Grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan absorbansi atau hubungan antara konsentrasi dengan % penetralan radikal bebas dapat digunakan untuk menentukan IC50 melalui persamaan regresinya. IC50 (*Inhibitory Concentration* 50) merupakan besarnya konsentrasi antioksidan yang dapat menetralkan 50% radikal bebas.



(a)



(b)

Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi antioksidan dengan absorbansi. (a) ekstrak etanol (b) vitamin C

Besarnya IC₅₀ dari ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.) adalah 56,9735 mg/L, lebih besar dari IC₅₀ vitamin C yaitu sebesar 1,9294 mg/L. Semakin besar IC₅₀, aktivitas antioksidannya semakin berkurang, sehingga aktivitas antioksidan vitamin C masih lebih besar daripada aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.). Hal ini dikarenakan vitamin C yang digunakan sebagai pembanding sudah dalam keadaan murni, sementara ekstrak etanol masih dalam bentuk kasar.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa Ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 56,9735 mg/L lebih kecil dari aktivitas antioksidan pembanding vitamin C yang memiliki IC₅₀ sebesar 1,9294 mg/L.

Ucapan Terimakasih

Kami ucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat dalam proses penyelesaian penelitian ini, sehingga artikel ini dapat dipublikasikan..

Daftar Pustaka

- [1] Y. Henuk, "Understanding plant diversity and physiology for resilient production systems and environmental benefits," *J. Plant Pathol. Microbiol.*, vol. 08, no. 05, p. 7471, 2017, doi: 10.4172/2157-7471-c1-004.
- [2] D. R. Ari Sri Windyaswari, Fahrauk Faramayuda, "Kajian Pendahuluan Potensi Anti Kanker Dengan Uji Toksisitas Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Terhadap Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Dari Kulit Batang Kemiri *Aleurites moluccana* (L.) Willd.," *Kartika-Jurnal Ilm. Farm.*, vol. 3, no. 1, pp. 36–42, 2015.

- [3] N. Das, E. Islam, N. Jahan, M. S. Islam, A. Khan, and R. Islam, “Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds,” *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 14, no. 1, pp. 1–9, 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-45.
- [4] H. Faisal and S. Handayani, “Comparison of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Fruit and Okra Leaves (*Abelmoschus esculentus* L . Moench) by DPPH and ABTS Methods,” vol. 02, no. 2, pp. 6–13, 2019.
- [5] C. Cason, V. K. Yemmireddy, J. Moreira, and A. Adhikari, “Antioxidant properties of pecan shell bioactive components of different cultivars and extraction methods,” *Foods*, vol. 10, no. 4, 2021, doi: 10.3390/foods10040713.