



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA V
"Kontribusi Kimia dan Pendidikan Kimia dalam Pembangunan
Bangsa yang Berkarakter"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 6 April 2013



**MAKALAH
PENDAMPING**

**POSTER
(Kode : I-05)**

ISBN : 979363167-8

PENENTUAN AKTIFITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR FENOLIK TOTAL DAUN RANDU (*Ceiba pentandra*) DARI GUNUNGKIDUL YOGYAKARTA

Khoirun Nisa^{1,*} dan Anastasia Wheni Indrianingsih¹

¹BPPTK LIPI Gunungkidul Yogyakarta, Indonesia

*Keperluan korespondensi, telp/fax : 0274-39570, email: poetry_kn@yahoo.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah proses oksidasi. Telah dilakukan penentuan aktifitas antioksidan melalui persen penghambatan radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serta total fenol dari daun kapuk randu (*Ceiba pentandra*) menggunakan spektrofotometri UV/Vis. Aktifitas penghambatan radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol daun kapuk dengan konsentrasi 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml yaitu masing-masing sebesar 22,18 %, 38,77 %; 50,17 %; 69,59 % dan 88,60 %. Sedangkan konsentrasi total fenol daun kapuk adalah sebesar 8, 613 % b/b ekivalen asam galat. Uji penghambatan radikal bebas DPPH juga dilakukan pada fraksi n-heksan dan etil asetat.

Kata Kunci: *Antioksidan, Ceiba pentandra, DPPH, Fenolik total*

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif sering dihubungkan dengan penuaan dini, kanker, penyakit jantung, penurunan daya tahan tubuh, disfungsi otak serta katarak [1]. Hal ini biasa dikaitkan dengan radikal bebas karena terjadi kerusakan oksidatif pada DNA, protein dan makro molekul lainnya yang terakumulasi seiring usia, dan disebut sebagai sumber utama dari kerusakan endogen penyebab penuaan. [2,3]. Superoksida, hidrogen peroksida dan radikal hidroksi, di mana mutagennya diproduksi oleh radiasi juga merupakan produk samping dari metabolisme normal [4,5]. Selain menimbulkan mutagenik pada

epoksida lipid, hidroperoksida, alkoksi dan radikal peroksil, peroksidasi lipid juga mempengaruhi warna, aroma, tekstur dan penurunan nilai gizi makanan [6]. Konsumsi produk nabati seperti buah, sayur, dan jus memberikan perlindungan terhadap berbagai penyakit, termasuk kanker, jantung dan penyakit serebrovaskular [1,7]. Perlindungan tersebut berkaitan dengan kapasitas antioksidan dalam tumbuhan untuk menangkap radikal bebas yang bertanggungjawab atas kerusakan oksidatif lipid, protein, dan asam nukleat. Antioksidan sintetis telah digunakan untuk stabilisasi makanan. Antioksidan sintetis yang sering digunakan adalah butylated

hydroxy anisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), dan tert-butylated hydroxyquinone (TBHQ), yang diaplikasikan dalam makanan berminyak dan berlemak untuk mencegah kerusakan oksidatif [8].

Tanaman kapuk randu banyak dijumpai di Indonesia terutama di daerah Jawa. Tanaman kapuk randu menghasilkan serat kapuk yang sering dimanfaatkan untuk beberapa industri. Kapuk randu juga memiliki biji yang mengandung minyak. Kulit kapuk randu banyak mengandung Kalium dan Natrium.

Secara tradisional kapuk randu digunakan untuk mengobati penyakit. Ekstrak metanol dari kulit batang kapuk randu mengandung saponin, flavonoid, tannin, terpena, resin dan karbohidrat [9]. Penelitian ini dilakukan untuk melihat kemampuan daun kapuk randu dalam menangkap radikal bebas DPPH.

METODE PENELITIAN

1. Preparasi sampel

Daun kapuk randu diperoleh dari daerah Gunungkidul Yogyakarta. Daun dibersihkan kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C dan diserbukkan. Serbuk daun disimpan dalam wadah plastik di dalam desikator untuk digunakan pada proses dan analisis selanjutnya.

2. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol sebagai pelarut universal dengan perbandingan 1:2 (b/v). Maserasi dilakukan berulang-ulang selama 3 hari hingga filtrat jernih. Pelarut etanol kemudian diuapkan menggunakan

rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-144, Switzerland). Ekstrak pekat disimpan dalam desikator. Ekstrak etanol yang diperoleh, difraksinasi secara padat-cair menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Pelarut n-heksan diharapkan mampu menarik senyawa-senyawa yang kurang polar sedangkan etil asetat digunakan untuk menarik senyawa yang semi polar. Fraksi-fraksi tersebut dipekatkan sehingga didapatkan fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Selanjutnya ekstrak etanol serta kedua fraksi tersebut diuji aktifitas antioksidannya.

3. Uji aktifitas antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

Aktifitas penangkapan radikal bebas DPPH dari ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya ditentukan menggunakan metode [10] dengan sedikit modifikasi. Sejumlah ekstrak etanol serta fraksi n-heksan dan etil asetat dilarutkan dalam metanol dengan berbagai macam konsentrasi. Masing-masing larutan sebanyak 4 ml ditambah 1 ml DPPH/metanol 0,25 mM. Campuran digojog kuat-kuat dan dibiarkan dalam ruangan gelap bebas cahaya selama 15 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai kontrol digunakan DPPH/metanol tanpa sampel. Dari data yang diperoleh selanjutnya dihitung nilai persen aktivitas penangkapan radikal bebas.

Aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ Penangkapan} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \cdot 100$$

Dimana A_0 adalah absorbansi kontrol dan A_1 adalah absorbansi sampel pada $\lambda = 517 \text{ nm}$.

4. Penentuan fenolik total

Fenolik total ditentukan secara spektrofotometri dengan pereaksi Folin Ciocalteu, dengan pembanding asam galat. Kandungan senyawa fenolik total diekspresikan dengan persen (%) b/b ekuivalen asam galat (% b/b EAG). Larutan baku asam galat dibuat dengan berbagai konsentrasi dan ditentukan absorbansinya pada 750 nm sesuai metode [11] dengan sedikit modifikasi. Setengah mililiter sampel dicampur dengan 1 ml of Folin Ciocalteu (Sigma) dan 4 ml Na_2CO_3 jenuh (35%) (Sigma) dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan akuades hingga batas 10 ml. Campuran yang bereaksi didiamkan selama 2 jam dalam ruang bebas cahaya. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Dibuat kurva kalibrasi dari beberapa variasi konsentrasi asam galat.

5. Analisis statistik

Analisis data dilakukan dengan tiga pengulangan. Data dicatat sebagai rata-rata (means) \pm Standar Deviasi (SD) dan dianalisis menggunakan SPSS. Analisis varian *one-way ANOVA* dan *Tukey multiple comparisons* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan nilai rata-rata aktifitas antioksidan antara ekstrak etanol dan 2 fraksi lainnya. Perbedaan antara rata-rata pada derajat 5% ($P < 0.05$), dianggap signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan fenolik total ekstrak etanol daun kapuk randu

Banyak penelitian yang menyatakan bahwa aktifitas antioksidan dari tanaman berhubungan dengan kandungan fenolik total [12]. Jadi perlu diketahui pengaruh fenolik total terhadap aktifitas antioksidan dari daun kapuk randu. Konsentrasi fenolik dalam ekstrak, diekspresikan sebagai milimol ekuivalen asam galat (EAG) per mg ekstrak, tergantung pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Ekstrak etanol daun kapuk randu memiliki kandungan fenolik total sebesar 8,613 % b/b EAG.

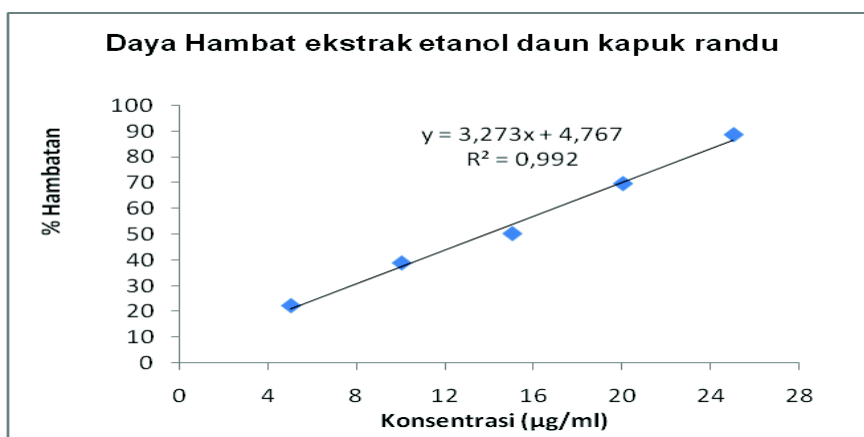
Aktifitas penangkap radikal bebas DPPH

Penangkapan radikal bebas merupakan salah satu mekanisme yang dilakukan untuk mengetahui aktifitas antioksidan suatu material dengan cepat di mana senyawa antioksidan akan menghambat oksidasi lipid. Berdasarkan hasil analisis statistik, ekstrak awal daun kapuk randu dengan fraksi n-heksan pada konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan beda signifikan pada taraf signifikan $> 0,05$. Sedangkan pada konsentrasi 75 $\mu\text{g/ml}$, ketiga sampel tidak memberikan beda yang signifikan (Tabel 1). Ekstrak etanol daun kapuk randu memiliki aktifitas penangkapan radikal bebas (IC_{50}) yang lebih besar dibanding fraksi etil asetat, namun lebih kecil dibanding fraksi n-heksan, yaitu sebesar $13,82 \pm 0,42 \mu\text{g/ml}$. Di antara ketiga sampel yang memberikan hambatan paling tinggi adalah fraksi n-heksan yaitu sebesar $11,41 \pm 0,32 \mu\text{g/ml}$ (Tabel 1). Kecilnya nilai

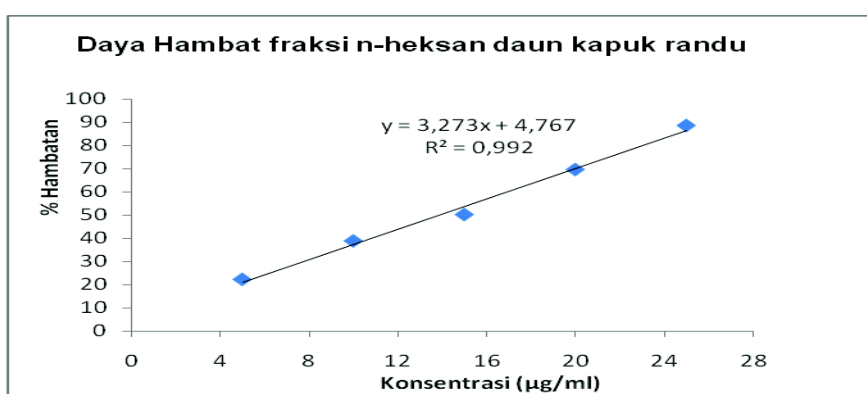
aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dibandingkan ekstrak etanolnya menunjukkan bahwa di dalam ekstrak awal daun kapuk randu terdapat banyak senyawa aktif termasuk fenolik total yang bersinergi memberikan donor hidrogen Tabel 1.

untuk menangkap radikal bebas DPPH sesuai mekanisme aktivitas antioksidan. Sedangkan pada fraksi etil asetat terekstrak hanya senyawa-senyawa dengan kapasitas donor hidrogen yang kecil.

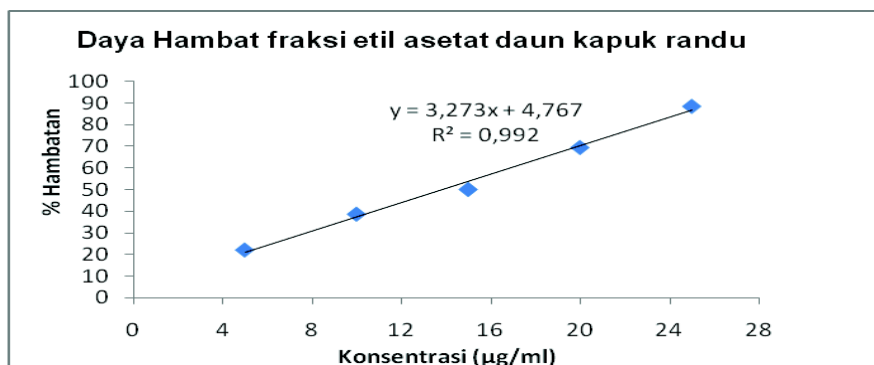
Konsentrasi	Ekstrak etanol	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat
50 µg/ml	38,77 ± 1,72	41,67 ± 1,17	18,11 ± 1,17
75 µg/ml	50,17 ± 1,22	66,21 ± 3,40	21,14 ± 1,42
IC ₅₀	13,82±0,42	11,41±0,32	63,39±3,17



Gambar 1. Daya hambat ekstrak etanol daun kapuk randu terhadap DPPH



Gambar 2. Daya hambat fraksi n-heksan daun kapuk randu terhadap DPPH



Gambar 3. Daya hambat fraksi etil asetat daun kapuk randu terhadap DPPH

Ekstrak etanol daun kapuk randu dan fraksi n-heksannya memiliki penangkapan radikal bebas dengan jangkauan yang berbeda dan range konsentrasi antara 5-20 µg/ml. Meskipun aktifitas antioksidan (IC_{50}) fraksi n-heksan sedikit lebih besar dibandingkan ekstrak awal daun kapuk randu, namun secara statistik nilai IC_{50} antara fraksi n-heksan dan ekstrak awal tidak menunjukkan beda yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa dalam fraksi n-heksan paling banyak memberikan kontribusi senyawa aktif antioksidan dalam ekstrak etanol daun kapuk randu. Dengan kata lain senyawa aktif yang mampu menangkap radikal bebas DPPH banyak terdapat pada fraksi non polar. Hal ini dikuatkan dengan bukti empiris bahwa getah daun kapuk randu sering digunakan masyarakat sebagai anti inflamasi, serta penghalus kulit.

KESIMPULAN

Fraksi n-heksan memberikan hambatan paling tinggi dibandingkan ekstrak awal maupun fraksi etil asetat yaitu sebesar $11,41 \pm 0,32$ µg/ml. Hal ini

menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dari daun kapuk randu lebih bersifat kurang polar, sehingga jika akan dilakukan isolasi, bisa difokuskan pada fraksi non polarnya.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M., 1993, Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915–7922.
- [2] Fraga, C. G., Shigenaga, M. K., Park, J.-W., Degan, P., and Ames, B. N., 1990, *Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-20-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 4533–4537.
- [3] Harman, D., 1981, The aging process, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78, 7124–7128.
- [4] Sies, H., 1986, Biochemistry of oxidative stress, *Angewandte Chemie*

- International*, Edition in English, 25, 1058–1071.
- [5] Wagner, J. R., Hu, C. C., and Ames, B. N., 1992, Endogenous oxidative damage of deoxycytidine in DNA, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 3380–3384.
- [6] Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C., 1999, *Free radicals in biology and medicine*, Oxford: Oxford University Press, 3rd ed.
- [7] Weisburger, J. H., 1999, Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes, and tea, *Food and Chemical Toxicology*, 37, 943–948.
- [8] Loliger, J., 1991, *The use of antioxidants in foods*. In Free radicals and food additives, London: Taylor and Francis, 121–150.
- [9] Sule, M. I., Njinga, N. S., Musa, A. M., Magaji, M. G., Abdullahi, A., 2009, Phytochemical and antidiarrhoeal studies of the stem bark of ceiba pentandra (*Bombacaceae*), *Nig. Journ. Pharm. Sci.*, Vol. 8 No. 1, 143–148.
- [10] Kim, M.Y., Seguin, P., Ahn, J. K., Kim, J. J., Chun S. C., Kim, E. H., Seo, S. H., Kang, E. Y., Kim, S. L., Park, Y. J., Ro, H. M., Chung, I. Min., 2008, Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea, *J Agric Food Chem*, 56. 7265–7270.
- [11] Singleton, V. L., and Rossi, J. A. jr., 1965, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.