

Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.)

Silviana Hasanuddin¹, Citra Andini²

¹STIKES Mandala Waluya Kendari

²Akademi Farmasi Bina Husada Kendari

ABSTRAK

Telah dilakukan identifikasi senyawa antiradikal bebas pada ekstrak daun paliasa (*K. hospita*). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa antiradikal bebas berdasarkan aktivitas pengikat radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl Hydrazil) ekstrak daun paliasa.

Daun paliasa diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut n-heksan kemudian ampas dari maserasi dengan n-heksan dimaserasi lagi dengan etanol 96%. Ekstrak etanol kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat. Ekstrak n-heksan, etanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas radikal bebas dengan nilai IC₅₀ berturut-turut adalah untuk ekstrak N-heksan sebesar 28,713 mg/ml, nilai IC₅₀ untuk ekstrak etanol sebesar 3,113 mg/ml dan nilai IC₅₀ untuk fraksi etil asetat sebesar 4,556 mg/ml. Sedangkan nilai IC₅₀ dari sampel pembanding yaitu vitamin C 0,106 mg/ml dan BHT 0,067 mg/ml. Identifikasi KLT-autografi menunjukkan bahwa ekstrak daun paliasa aktif sebagai antiradikal bebas dimana bercak

menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Sedangkan pada penyempotan dengan menggunakan reagen antimon (III) klorida memperlihatkan bercak berpadat kuning pada UV 366 yang menandakan bahwa daun paliasa mengandung golongan senyawa flavanoid.

Identifikasi KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa ekstrak daun paliasa aktif sebagai antiradikal bebas dimana bercak menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Sedangkan pada penyempotan dengan menggunakan reagen antimon (III) klorida memperlihatkan bercak berpadat kuning pada UV 366 yang menandakan bahwa daun paliasa mengandung golongan senyawa flavanoid

Kata kunci : Antiradikal bebas, Daun Paliasa.

Penulis korespondensi :

Silviana Hasanuddin
STIKES Mandala Waluya Kendari
silviana.hasanuddin@gmail.com

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan sebutan untuk zat yang berfungsi melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, yang termasuk dalam golongan zat ini antara lain vitamin, polifenol, karotin, dan mineral. Secara alami, antioksidan ini sangat besar peranannya pada manusia

untuk mencegah terjadinya penyakit. Antioksidan melakukan semua itu dengan cara menekan kerusakan sel yang terjadi akibat proses oksidasi radikal bebas (Anonim, 2008).

Antioksidan dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, sayur-sayuran dan

buah-buahan. Salah satu tumbuhan tersebut adalah daun paliasa. Daun paliasa merupakan salah satu tanaman obat yang dikenal masyarakat Sulawesi Selatan yang berfungsi untuk mengobati penyakit kuning (Suryawati, 1991), menurunkan kolesterol, hipertensi serta diabetes (Herlina, 1993) dan kanker hati (Tayeb, 2009).

Paliasa termasuk dalam family Sterculiaceae mengandung senyawa kimia seperti sianogenik, alkaloid, proantosianin, sianidin, flavanol, kaemferol dan quercetin serta saponin (Watson, 1992).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya membuktikan bahwa daun paliasa (*K. hospital* Linn). Fraksi n-heksan aktif terhadap udang *Artemia salina* Leach (Hendra, 2005), dekok daun paliasa (*K.*

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini dilakukan secara eksperimental yang merupakan penelitian laboratoritium.

B. Pembuatan Ekstrak Daun Kucai

Pembuatan ekstrak daun kucai dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi, yaitu simplisia di timbang sebanyak 300 gram, dimasukkan dalam wadah maserasi dan direndam

hospital Linn) sebagai obat radang hati akut terhadap tikus putih betina strain wistar (Raflizar, 2006). Uji farmakokinetika dengan menggunakan hewan percobaan dan hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun paliasa dapat melindungi radang hati tikus (Raflizar, 2006), infuse daun paliasa mempunyai efek antidiabetes dengan mekanisme penghambatan terhadap transport aktif glukosa pada usus halus marmot (Hasni, 2002), sebagai obat anti tumor dalam sarcoma mencit (Latif, 1997).

Inilah yang mendasari peneliti untuk melakukan penelitian pengujian tentang uji daya hambar antioksidan dari ekstrak etanol, ekstrak n-heksan dari fraksi etil asetat dari daun paliasa (*K.Hospita* Linn) dengan menggunakan DPPH.

dengan larutan n-heksan sampai terendam lalu diaduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari sambil sesekali di aduk. Setelah direndam selama 5 hari, disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrate (ekstrak cair). Hasil penyarian n-heksan dikumpulkan, diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak cair. Kemudian

dianginanginkan. Ekstrak kental diperoleh 38 gram.

Ampas hasil ekstraksi direndam lagi dengan etanol sebanyak 3 liter hingga simplisia tersebut terendam, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Kemudian simplisia disaring dan residunya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru. Hal ini dilakukan selama 3 kali. Hasil penyari yang didapat dikumpulkan dan diuapkan dengan rotavapor ekstrak etanol yang kental. Didapatkan ekstrak kental sebanyak 12 gram.

B. Partisi Sampel dengan Pelarut Etil Asetat

Ekstrak etanol yang diperoleh diambil sebanyak 12 gram, untuk diekstraksi dengan pelarut etil asetat dengan cara partisi cair-cair. Ekstrak etanol sebanyak 5 gram disuspensikan dengan air sebanyak 50 ml, kemudian dimasukan kedalam corong pisah untuk dipartisi dengan n-heksan sebanyak 50 ml, kemudian dikocok. Sesekali penutup corong dibuka setelah itu didiamkan selama 30 menit sampai terjadi pemisahan antara lapisan etil asetat (fraksi etil asetat) dan lapisan air (residu). Residu dipartisi kembali sesuai dengan cara diatas,

dilakukan berulang hingga jernih. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh fraksi etil asetat.

C. Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH 0,4 M dengan cara ditimbang DPPH sebanyak 15 mg, kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol absolute dalam labu terukur.

D. Uji Aktivitas Radikal bebas

a. Ekstrak kering etanol, n-heksan dan fraksi daun paliasa ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan menggunakan eluen yang sesuai. Lempeng KLT disemprot dengan menggunakan DPPH dan dibiarkan selama ± 30 menit hingga terjadi perubahan warna dari ungu ke kuning

b. Pengukuran Blanko

Pengujian dilakukan dengan memipet 1,0 DPPH 0,4 mM dan cukupkan volumenya dengan etanol absolute sampai 5,0 ml dalam labu terukur. Larutan ini kemudian dibiarkan selama 30 menit dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

c. Pengukuran antiradikal bebas ekstrak daun paliasa

Larutan 1% disiapkan dengan cara menimbang daun paliasa sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan etanol absolute sambil diaduk dan dihomogenkan dengan

bantuan vortex, volume akhir dicukupkan hingga 5,0. Untuk mendapatkan konsentrasi 0,5%, 0,25% dan 0,1 % dipipet masing-masing 500 µl, dan 100 µl larutan stok dan volume dicukupkan dengan etanol absolute hingga 1 ml. pengujian dilakukan dengan memipet 100 µl larutan sampel dari berbagai konsentrasi masing-masing ditambah 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 ml dengan etanol absolute dalam labu terukur. Campuran selanjutnya dihomogenkan lalu dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit. Serapannya diukur pada panjang gelombang 517 nm.

d. Pengukuran daya anti radikal bebas sampel pembanding

Larutan stok 0,01% disiapkan dengan cara menimbang Vitamin C dan BHT masing-masing sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan aquadest sambil diaduk dan dihomogenkan dengan bantuan vortex, volume akhir dicukupkan hingga 10 ml. konsentrasi larutan 0,005%, 0,0025% dan 0,00125% dibuat dengan mengambil masing-masing 500 µl, 250 µl, dan 125 µl larutan stok dan volume dicukupkan dengan aquadest hingga 1 ml. pengujian dilakukan dengan memipet 100 µl larutan dari berbagai konsenrasi masing-masing ditambah 1,0 ml DPPH 0,4

mM dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 ml dengan etanol absolute dalam labu terukur. Campuran selanjutnya dihomogenkan lalu dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit serapannya diukur pada panjang gelombang 517nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia daun paliasa (*Kleinhovia hospital* Linn) sebanyak 300 gram diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut n-heksan, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 38 gram. Ampas hasil maserasi dengan n-heksan dimaserasi kembali dengan etanol, menghasilkan ekstrak etanol kental sebanyak 12 gram. Ekstrak etanol kemudian diambil sebanyak 5 gram dipartisi dengan etil asetat menghasilkan 2,25 gram. Ketiga ekstrak tersebut diuji aktifitas antiradikal bebas secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode DPPH dan diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak etanol sebesar 3,113 mg/ml, nilai IC_{50} untuk ekstrak n-heksan sebesar 28,713 mg/ml dan nilai IC_{50} untuk fraksi etil asetat sebesar 4,556 mg/ml.

Nilai IC_{50} dari setiap sampel dibandingkan dengan vitamin C dan BHT. Pengukuran aktivitas sampel pembanding vitamin C, diperoleh nilai IC_{50} sebesar 0,106 g/ml, sedangkan untuk BHT 0,067 mg/ml. hasil pengukuran serapan pada

spektrofotometer UV-Vis 517 nm diperoleh persentase pengikatan radikal bebas sebagai berikut:

Tabel.1 Hasil Pengukuran absorbansi, persentase Pengikatan DPPH dan Nilai IC₅₀ dari daun paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn).

Sampel	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi	%pengikatan radikal bebas rata-rata	IC ₅₀ (mg/ml)
Ekstrak etanol	10	0,223	80,489 %	3,113
		0,223		
		0,223		
	5	0,262	77,077 %	
		0,262		
		0,262		
	2,5	0,577	49,518 %	
		0,577		
		0,577		
	1	0,839	26,596 %	
		0,840		
		0,840		
Ekstrak n-heksan	10	0,797	30,271 %	
		0,797		
		0,798		
	5	0,814	28,696 %	
		0,815		
		0,816		
	2,5	0,872	23,709 %	
		0,872		
		0,872		
	1	0,902	21,085%	
		0,901		
		0,902		
Fraksi etil Asetat	10	0,271	76,902 %	4,556
		0,271		
		0,521		
	5	0,521	54,768 %	
		0,521		
		0,508		
	2,5	0,618	45,932%	

1	0,617	23,884 %	
	0,618		
	0,870		
	0,870		
	0,870		

Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persentase Pengikatan DPPH dan Nilai IC dari sampel pembanding vitamin C dan BHT

Sampel	Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi	%pengikatan radikal bebas rata-rata	IC ₅₀ (ppm)	
	0,1	0,606			
		0,606	47,069 %		
		0,604			
	0,05	0,902	20,997 %		
		0,903			
Vitamin C		0,905		0,106	
	0,025	1,023	11,199 %		
		1,023			
		1,000			
	0,0125	1,126	1,662 %		
		1,126			
		1,120			
	0,1	0,403	64,742 %		
		0,403			
		0,403			
	BHT	0,05	0,677	40,769 %	
0,677					
0,678			0,067		
0,025		0,753		34,121 %	
		0,753			
		0,752			
		0,0125	0,902	20,997 %	
	0,903				

Tabel 3. Nilai Rf dan Warna Bercak pada Profil Kromatograf Lapis Tipis Ekstrak Daun Paliase (*Kleinhovia hospita* Linn.)

Sampel	Bercak	UV 254		UV 366		DPPH	
		Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
Ekstrak Etanol	I	0,54	Kuning	0,78	Jingga	0,11	kuning
	II	0,45	Kuning	0,67	Jingga		
	III	0,34	Kuning	0,54	Jingga		
	IV			0,45	Jingga		
	V			0,33	Jingga		
	VI			0,25	Jingga		
	VII			0,11	Ungu kebiruan		
Ekstrak n-heksan	I	0,98	Kuning	0,98	Coklat kekuningan	0,98	Kuning
	II	0,95	Kuning	0,93	Ungu muda	0,93	Kuning
	III	0,89	Kuning	0,84	Ungu muda	0,87	Kuning
	IV	0,76	Hijau	0,76	Jingga		
	V	0,65	Hijau	0,64	Jingga		
	VI	0,51	Kuning	0,42	Coklat		
	VII	0,2	Kuning				
	VIII	0,16	kuning				
Ekstrak Etil asetat	I	0,58	Hijau	0,78	Jingga	0,13	Kuning
	II	0,53	Hijau	0,65	Jingga		
	III	0,44	Hijau	0,53	Jingga		
	IV	0,36	Hijau	0,44	Jingga		
	V	0,29	Hijau	0,31	Jingga		
	VI	0,24	Hijau	0,24	Jingga		

Uji daya antiradikal bebas dilakukan dengan metode Blois yang menggunakan DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol, dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 517 nm. Pemilihan DPPH

dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan hanya memerlukan sedikit sampel sudah dapat memberikan aktivitas yang diinginkan. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas (DPPH) melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu

ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas radikal bebas ditunjukkan dengan IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Menurut Blois menyatakan bahwa ekstrak dengan nilai IC₅₀ yang kurang dari 200 µg/ml memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat daya antioksidannya.

Ketiga ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antiradikal bebas dan diperoleh nilai IC₅₀ untuk ekstrak etanol sebesar 3,113 mg/ml, nilai IC₅₀ untuk ekstrak N-heksan sebesar 28,713 mg/ml, dan nilai IC untuk fraksi etil asetat sebesar 4,556 mg/ml.

Sedang nilai IC dari sampel pembanding yaitu vitamin C 0,106 mg/ml dan BHT 0,067 mg/ml. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat, walaupun aktivitasnya lebih rendah jika dibandingkan dengan vitamin C dan BHT.

Gambar profil KLT dan nilai R_f untuk setiap sampel dapat dilihat pada tabel 3. Sedangkan pada penyemprotan dengan menggunakan reagen antimon (III) klorida memperlihatkan bercak berpendar kuning pada UV 366 yang menandakan bahwa daun paliasa mengandung golongan senyawa flavanoid. Perubahan warna ini terjadi karena adanya fungsi lingkaran teroksidasi pada senyawa flavanoid yang bereaksi sebagai ligan-ligan ketika ditambahkan dengan antimon (III) klorida yang merupakan logam.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan Nilai IC untuk ekstrak etanol sebesar 3,113 mg/ml, nilai IC₅₀ ekstrak N-heksan sebesar 28,713 mg/ml, dan nilai IC₅₀ untuk fraksi etil asetat sebesar 4,556 mg/ml. Sedang nilai IC₅₀ dari sampel pembanding yaitu vitamin C 0,106 mg/ml dan BHT 0,067 mg/ml. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat, walaupun aktivitasnya lebih rendah jika dibandingkan dengan vitamin C dan BHT.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2008, Antioksidan, Info Kesehatan, (Online), (<http://www.blogdokter.net/2008/10/20/antioksidan/trackback>, diakses 19 April 2011).
- Dirjen POM., 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Hasni, 2002, *Pengaruh Infus Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Terhadap Transport Aktif Glukosa Pada Usus Halus Marmut, Skripsi*, Jurusan Farmasi, FMIPA-UNHAS: Makassar.
- Hendra, E, 2005, *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi n-Heksan Yang Non Aktif Terhadap Artemia salina Leach Ekstrak daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Skripsi*, Jurusan farmasi, FMIPA-UNHAS: Makassar.
- Latif, A., 1997, *Kleinhovia hospita Linn. Faridah, H.I. Dan L.J.G Van Den Maese, " Plant Resources Of South-East Asia No II "*, Diterbitkan Jurusan Kimia.
- Raflizar, dkk., 2006, *Dekok Daun Paliasa (Kleinhovia hospita Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut*, (Online), (http://www.kalbe.co.id/files06_150_DekokDaunPaliasaObatRadang.pdf, diakses April 2011).
- Tayeb, R., 2009, *Isolasi Senyawa Aktif Antikanker Ekstrak Metanol Daun Paliasa (Melochia umbellata (Houtt) Staff Var. deglabratan*, (Online), (http://www.unhas.ac.id/lppm/index.php?option=com_content&view=article&id=88:bidang-ilmu-farmasi&catid=35:abstrak-2009&Itemid=63, Diakses April 2011).
- Watson, L. 1992, *The Families Of Flowering Plants: Sterculiaceae Vent*, (Online), ([Http://www.sterculiaceae.html](http://www.sterculiaceae.html), diakses April 11).
- Wijayakusuma, H., 1992. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*, Jilid I. Pustaka Kartini: Jakarta.