

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN WUNGU
(*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) DENGAN METODE FRAP (FERRIC
REDUCING ANTIOXIDANT POWER)**

Aminah, A. Muflihunna, Zainal Abidin

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email : Aminah.aminah@umi.ac.id.

ABSTRACT

*'Wungu' leaf is a plant known to contain flavonoids as the antioxidant. This research aimed to determine the antioxidant activity ethyl acetate fraction of 'Wungu' leaf (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) by Ferric Reducing Antioxidants Power (FRAP) method. Extraction by maceration method using ethanol 96 %. Extract partitioned with ethyl acetate and water. The filtrate was dried with rotary evaporator and produce ethyl acetate fraction. Fraction were analyzed quantitatively by FRAP method with potassium ferricyanide reagent solution, phosphate buffer, ferric chloride and distilled water. The sample solutions analyzed by UV-vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 705 nm using quercetin solution as a standard. The result showed that the antioxidant activity of ethyl acetate fraction of 'wungu' (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) is 3.984×10^{-6} g QE/g fraction.*

Keywords : Antioxidant, ethyl acetate fraction Wungu leaf, FRAP method.

PENDAHULUAN

Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang, baik untuk makanan maupun pengobatan seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang radikal bebas. Banyak tumbuhan yang berpotensi sebagai obat-obatan salah satunya yang bermanfaat melindungi tubuh manusia dari bahaya radikal bebas⁽¹⁾.

Sebagai Negara yang memiliki kekayaan flora nomor dua di dunia, Indonesia diyakini memiliki berbagai macam tumbuhan yang dapat

dimanfaatkan sebagai obat, salah satunya adalah daun wungu. Ada 3 tiga varietas, yaitu berdaun ungu, berdaun hijau dan belang-belang putih. Varietas yang digunakan sebagai obat adalah varietas berdaun ungu. Daun wungu biasanya digunakan dalam pengobatan diuretik (batang atau daunnya), melancarkan haid (bunganya) dan daunnya digunakan untuk pengobatan anti inflamasi, melembutkan kulit, sembelit, ambeien, reumatik, bisul dan pencahar ringan). Daun wungu (*Graptophyllum*

*Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) Dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)*

pictum (Linn) Griff) diketahui mengandung flavonoid, saponin, tannin, alkaloid dan steroid⁽²⁾.

Salah satu golongan kandungan kimia yang banyak berfungsi sebagai zat aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah flavonoid. Flavonoid dapat dikonsumsi secara teratur untuk meningkatkan usia harapan hidup karena flavonoid dapat mereduksi inflamasi dan penyakit jantung coroner⁽³⁾.

Berdasarkan hal tersebut maka akan dilakukan penelitian aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) dengan metode FRAP. Dimana prinsip dari uji FRAP adalah reaksi transfer elektron dari antioksidan senyawa Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Kelebihan dari metode FRAP adalah metodenya yang murah, cepat, dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan⁽⁴⁾.

METODE PENELITIAN

Alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah mikropipet (Mammert®), Rotary vacuum evaporator (Ika® RV 10 basic), spektrofotometer UV-vis (Apel®, PD 303 UV), timbangan analitik

(Acis AD-600H), Sentrifuge (Onemed), tabung sentrifuge (Pyrex).

Bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff), aquades, Kuarsetin, Asam trikloroasetat 1%, buffer fosfat (0,2 M pH 6,6), Besi klorida ($FeCl_3$) 0,1 %, Kalium Ferri sianida ($K_3Fe(CN)_6$).

Tahap Penelitian

Pengambilan dan Pengolahan sampel

Sampel daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering sampel dipotong-potong kecil, kemudian siap untuk diekstraksi dengan metode maserasi.

Ekstraksi sampel daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff)

Sampel berupa daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) sebanyak 200 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol 96% hingga 3 cm diatas simplisia, dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya matahari langsung sambil diaduk secara

periodik, setelah 3x24 jam dilakukan penyaringan dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari yang baru. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali dan diperoleh ekstrak etanol. Hasil penyarian yang diperoleh kemudian diuapkan dan diperoleh ekstrak etanol kental.

Pembuatan fraksi etil asetat daun wungu

Ekstrak etanol yang diperoleh diambil sebanyak 20 gram untuk diekstraksi dengan pelarut etil asetat dengan cara partisi cair-cair. Ekstrak etanol sebanyak 20 gram disuspensikan dengan air sebanyak 20 ml kemudian dikocok, dan ditambahkan 20 ml etil asetat lalu dikocok, didiamkan selama 30 menit sampai terjadi pemisahan antara lapisan etil asetat (fraksi etil asetat) dan lapisan air (residu). Residu dipartisi kembali sesuai dengan cara di atas, dilakukan berulang hingga jernih. Lapisan fraksi etil asetat dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh fraksi etil asetat.

Penyiapan pada sampel

Fraksi etil asetat daun wungu ditimbang dengan 3 replikasi yaitu masing-masing 10 mg. Masing-masing fraksi dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 10 mL kemudian dihomogenkan.

Pembuatan larutan dan penentuan antioksidan total

Larutan Dapar fosfat 0,2 M pH 6,6

Larutan disiapkan dengan menimbang 2 gram NaOH dan dilarutkan dengan aquades bebas CO₂ hingga tepat 250 mL dalam labu takar. Kemudian sebanyak 6,8 gram KH₂PO₄ yang dilarutkan dengan aquades bebas CO₂ 250 mL dalam labu takar. Kemudian dipipet sebanyak 16,4 mL NaOH dimasukkan dalam labu takar dan dicampurkan 50 mL KH₂PO₄, selanjutnya diukur sampai pH 6,6 dan dicukupkan dengan aquades bebas CO₂ hingga 200 mL.

Larutan FeCl₃0,1 %

Larutan disiapkan dengan melarutkan 0,1 gram FeCl₃ dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 mL.

Larutan asam trikloroasetat 10%

Larutan disiapkan dengan melarutkan 10 gram TCA dalam aquades dan diencerkan dalam labu takar 100 mL.

Pembuatan Blanko

Larutan etanol 96% dimasukkan dalam labu ukur sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 mL (K₃Fe(CN)₆ 1% setelah itu ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL FeCl₃ 0,1% dan diukur absorbansinya pada panjang

gelombang maksimum 705 nm pada spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan kurva baku

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 25 mg kuarsetin yang dilarutkan dengan etanol 96% hingga batas labu ukur 25 ml. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 0,7, 0,9, 1,0 dan 1,3 mL ditempatkan dalam labu ukur 25 mL yang berbeda dan diencerkan dengan etanol 96% hingga 25 mL dan dihomogenkan, dipipet 1 mL, ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6) dan 1 mL ($K_3Fe(CN)_6$) 1% setelah itu diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL $FeCl_3$ 0,1% setelah itu diinkubasi dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 705 nm pada spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi larutan standar 1000 ppm kuarsetin yakni 70, 90, 110, dan 130 ppm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil pengukuran serapan larutan pembanding kuarsetin dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 705 nm.

Konsentrasi (ppm)	Absorban
70	0,250
90	0,427
110	0,647
130	0,717

Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

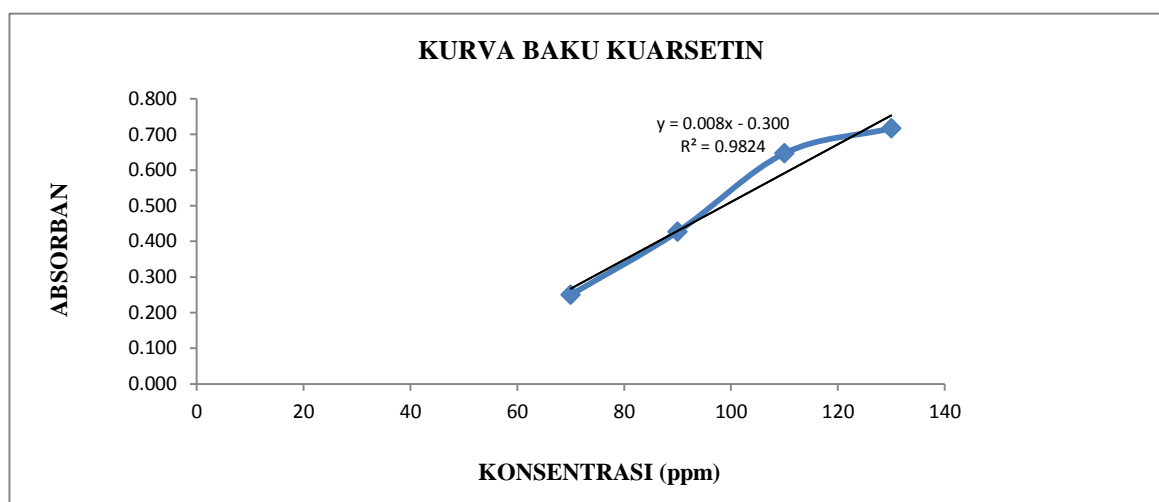
Sebanyak 10 mg fraksi dilarutkan dalam 10 mL etil asetat, lalu dipipet 1 mL, ditambahkan 1 mL dapar fosfat 0,2 M (pH 6.6) dan 1 mL $K_3Fe(CN)_6$ 1% setelah itu, diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 1 mL TCA lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet 1 mL lapisan bagian atas kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 mL aquades dan 0,5 mL $FeCl_3$ 0,1% setelah itu diinkubasi dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 705 nm. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan kuarsetin dengan konsentrasi 70, 90, 110, dan 130 ppm.

Analisis data

Analisis data menggunakan persamaan regresi kurva standar dengan persamaan linear $y = bx + a$.

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi dan nilai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff).

Fraksi etil asetat daun wungu	Absorbansi (705 nm)	Aktivitas antioksidan (g QE/ g fraksi)
Replikasi I	0,315	$3,846 \times 10^{-6}$
Replikasi II	0,345	$4,031 \times 10^{-6}$
Replikasi III	0,352	$4,075 \times 10^{-6}$



Gambar 1. Kurva Hubungan antara konsentrasi kuarsetin dengan absorbansi

Hasil pengamatan diperoleh replikasi pertama, absorbansi sampel fraksi etil asetat daun wungu adalah 0,315 dengan aktivitas antioksidan sebesar $3,846 \times 10^{-6}$ g QE/g fraksi, untuk replikasi kedua absorbansi sampel adalah 0,345 dengan aktivitas antioksidan sebesar $4,031 \times 10^{-6}$ g QE/g fraksi, Untuk replikasi ketiga, absorbansi sampel adalah 0,352 dengan aktivitas antioksidan sebesar $4,075 \times 10^{-6}$ g QE/g fraksi. Dengan nilai rata-rata dari sampel fraksi etil asetat daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) sebesar $3,984 \times 10^{-6}$ g QE/g fraksi. Artinya dalam setiap gram

fraksi setara dengan 3,984 g kuarsetin.

KESIMPULAN

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan maka diperoleh hasil aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun wungu (*Graptophyllum pictum* (Linn) Griff) dengan metode FRAP dengan pembandingan kuarsetin diperoleh sebesar $3,984 \times 10^{-6}$ g QE/g fraksi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Trilaksani W. Antioksidan: jenis, sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan, Insititut Pertanian Bogor : Bogor, 2003.

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Wungu (Graptophyllum pictum (Linn) Griff) Dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

2. Arifatin LR. Kajian Flavonoid Daun *Graptophyllum pictum* Linn Griff (Daun Wungu) Sebagai Analgesik dan Antiinflamasi Pada tikus (*Skripsi*). Jurusan Biologi FMIPA Unibraw : Malang, 1999.
3. Gandjar IG dan Rohman. Kimia Analisis Farmasi. Pustaka Pelajar : Yogyakarta, 2007.
4. Selawa W, Runtuwene MRJ dan Citraningtyas G. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong. 2013.