

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN BAWANG MEKAH (*Eleutherine americana* Merr.) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

Isnindar

Bagian Biologi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak
Email : isnindar@yahoo.com.

ABSTRACT

*Antioxidant is a substance which in small concentrations can significantly inhibit or prevent the oxidation of the substrate. Antioxidant has an important part in health. One of plants that have antioxidant activity is bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr.). This research aims to determine the antioxidant activity of bawang mekah leaves. Antioxidant activity assays performed using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, begins with the extraction using ethanol 70% by maseration. Ethanol fraction performed phytochemical screening with tube test method and preliminary test with DPPH method by silica gel 60 F₂₅₄ Thin Layer Chromatography (TLC) eluted by chloroform p.a mobile phase. The antioxidant activity of fraction measured using UV-Vis Spectrophotometer with 10, 20, 30, 40 µg/mL variation concentration and vitamin C with 2; 2,5; 3; 3,5 µg/mL as a positive control. The results of phytochemical screening showed the fraction contained flavonoids, phenols and saponins. The result of preliminary test gained 1 spot with 12,50 hRf visualized with 366nm UV light. The fraction spot showed positive result of antioxidant test was signed by changed color to yellow with purple background after sprayed with DPPH 0,2%. The results of UV-Vis Spectrophotometer measurements showed the ethanol fraction had antioxidant activity with IC₅₀ 45,33694µg/mL and vitamin C had IC₅₀ 0,62147 µg/mL.*

Key Words: Bawang Mekah Leaves, Maseration, Ethanol Fraction, DPPH

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat. Ciri utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya dalam meredam radikal bebas (Prakash, 2001).

Tanaman bawang mekah termasuk dalam famili *Iridaceae*.

Masyarakat di berbagai daerah di Kalimantan Barat umumnya menggunakan bagian umbi bawang mekah dalam pengobatan tumor secara tradisional. Umbi bawang mekah dibuat dalam bentuk rebusan dan diminum, sedangkan bagian daunnya seringkali tidak dimanfaatkan. Bawang mekah memiliki kandungan utama berupa polifenol, tanin, alkaloid, saponin, fenolik, dan flavonoid

(Mangan, 2009; Galingging, 2009; Nur, 2011).

Penelitian terkait terhadap bulbus bawang mekah dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Dwiyana, 2012; Ifesan *et al.*, 2010) dan sebagai antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 25,3339 µg/mL (Kuntorini dan Astuti, 2010). Hasil penelitian Pratiwi (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun bawang mekah menggunakan metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan IC₅₀ sebesar 31,97437 µg/mL.

Berdasarkan uraian tersebut untuk melengkapi informasi yang ada, maka dilakukanlah penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan fraksi etanol daun bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, lemari pendingin, *blender* simplisia (*IlinQi* tipe FZ-10), *waterbath* (*Memmert* tipe WNB 22), timbangan analitik (*BEL* tipe M254AI), alat maserasi (*Pyrex Iwaki*), spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu* tipe MR 2500), sendok *stainless*, oven (*Memmert* tipe UP400), krusibel porselen, desikator, alat-alat gelas

(*Pyrex Iwaki*), Vortex (*Barnstead* tipe M37610) dan mikropipet (*Rainin* tipe E1019705K).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bawang mekah, DPPH *p.a* (*Merck*), kloroform *p.a* (*Merck*, 1024452500), n-heksan *p.a* (*Merck*, 1043672500), vitamin C (*Kimia Farma*, 1111070260), metanol *p.a* (*Merck*, 1060092500), etanol 70%, serbuk magnesium (*Merck*, 1087801000), larutan HCl 2 N, larutan FeCl₃ 1%, pereaksi *Lieberman-Burchad*, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Meyer*, aquades, aluminium foil, kertas saring, dan lempeng Kromatografi Lapis Tipis (silika gel 60 GF₂₅₄) (*Merck*, 1055540001).

Prosedur Kerja

Determinasi Tanaman

Tanaman bawang mekah yang diteliti dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak, dengan menyerahkan sampel utuh tanaman bawang mekah.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Tanaman bawang mekah yang digunakan diambil di Jalan Patok 35 desa Limbung, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat. Daun bawang

mekah diambil pada saat umur 6 bulan.

Daun bawang mekah yang telah dikumpulkan, dan dibersihkan. Kemudian daun dirajang dan dikeringkan dengan cara dioven. Kemudian daun kering disimpan dalam wadah kering.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 251,25 gram simplisia daun bawang mekah dimasukkan dalam alat maserasi yang telah di rangkai. Dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 hari, dengan melakukan pengadukan secara berkala dan penggantian pelarut setiap hari. Filtrat dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak etanol.

Penetapan Susut Pengeringan

sebanyak 1 gram ekstrak ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Dimasukkan kedalam oven, dibuka tutup krus, panaskan pada suhu 105° C, timbang dan ulangi pemanasan hingga diperoleh bobot konstan.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Larutan ekstrak sebanyak 3 mL ditambah 1 mL HCl 2 N dan 6 mL

aquades, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Sebanyak 3 tetes filtrat dipindahkan pada kaca arloji, kemudian diperiksa adanya senyawa alkaloid dengan menambahkan pereaksi *Meyer* dan *Dragendorff* masing-masing sebanyak 2 tetes. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi *Meyer* dan endapan merah dengan pereaksi *Dragendorff* (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

Pemeriksaan Flavonoid

Larutan ekstrak sebanyak 2 mL ditambah dengan sedikit serbuk seng atau magnesium dan 2 mL HCl 2 N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

Pemeriksaan Saponin

Larutan ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan 10 mL aquades dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil dinyatakan positif apabila buih yang terbentuk stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

Pemeriksaan Terpenoid dan steroid

Sebanyak 1 mL larutan ekstrak kental diuapkan sampai kering, kemudian ditambah dengan pereaksi *Lieberman-Burchard*. Jika warna berubah menjadi biru atau ungu, menandakan adanya senyawa steroid. Jika warna berubah menjadi merah, menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Harborne, 1987).

Pemeriksaan Fenol

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambahkan dengan 10 mL aquades lalu dididihkan selama 10 menit dalam tangas air mendidih. Larutan kemudian disaring dan filtratnya ditambahkan dengan 3 tetes FeCl_3 1%. Terjadinya warna hijau-biru menunjukkan adanya fenolat (Harborne, 1987).

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan merujuk pada metode Isnindar *et al.* (2011) dengan cara kromatogram hasil KLT disemprot larutan 0,2% DPPH dalam metanol *p.a.* Ekstrak etanol 70% ditotolkan pada fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak kloroform *p.a.* Jarak pengembangan adalah 8 cm. Bercak yang terbentuk diamati dengan sinar tampak, lampu UV 366 nm, disemprot dengan pereaksi DPPH

0,2%. Dihitung nilai Rf dengan rumus (Gandjar dan Rohman, 2007):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Fraksinasi

Ekstrak daun bawang mekah dilarutkan dengan n-heksan, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, divortek hingga terjadi pemisahan. Bagian yang tidak terlarut dalam n-heksan (fase bawah) diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lagi, kemudian ditambahkan kloroform, divortek hingga terjadi pemisahan. Bagian yang tidak terlarut dalam kloroform (fase atas) diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan etanol dan divortek hingga terjadi pemisahan. Ambil bagian yang terlarut dalam etanol.

Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Kristal DPPH sebanyak 0,985 mg dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan pelarut metanol *p.a* sampai garis tanda.

Skrining Panjang Gelombang Maksimal Larutan DPPH 0,1 mM

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) DPPH 0,1 mM menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan dibaca serapannya pada panjang

gelombang 400-700nm (Musfiroh dan Syarif, 2012).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan

Spektrofotometer UV-Vis

Aktivitas antioksidan fraksi etanol daun bawang mekah ditentukan dengan metode DPPH yang digunakan oleh Mosquera *et al.* (2009). Variasi konsentrasi sampel uji adalah 10, 20, 30, dan 40 µg/mL dan vitamin C sebagai kontrol positif adalah 2; 2,5; 3; 3,5 µg/mL. Masing-masing variasi konsentrasi dipipet 1 mL kemudian ditambahkan ke dalam 2 mL DPPH dan dibiarkan selama 30

menit pada suhu kamar di tempat gelap. Lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) DPPH 0,1 mM.

Data hasil pengukuran absorbansi dianalisa persentase aktivitas antioksidannya dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{(A_{DPPH} - A_{\text{sampel}})}{A_{DPPH}} \times 100\%$$

Selanjutnya dilakukan perhitungan IC_{50} melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji (X) dengan persen aktivitas penangkap radikal rata-rata (Y).

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% dan Fraksi Etanol.

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil pengamatan Ekstrak	Ket	Hasil Pengamatan Fraksi	Ket
Alkaloid	Mayer dan Dragendorff	Tidak terjadi Perubahan	-	Tidak terjadi Perubahan	-
Flavonoid	HCl 2N + Serbuk Mg	Jingga kemerahan	+	Jingga	+
Saponin	Aquades + HCL 2N	Berbusa	+	Berbusa	+
Triterpenoid /Steroid	Lieberman-Burchad	Tidak terjadi perubahan	-	Tidak terjadi perubahan	-
Fenol	FeCl ₃	Biru kehitaman	+	Biru kehitaman	+

Keterangan: (+) = ada, (-)= tidak ada

Tabel 2. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol dengan DPPH 0,1mM

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Aktivitas Antioksidan	IC ₅₀ (µg/mL)	Potensi Antioksidan
Blanko	0,5150	-		
10	0,35950	30,1941	45,33694	Sangat kuat
20	0,31872	38,1126		
30	0,28944	43,7980		
40	0,28005	45,6213		

Tabel 3. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C dengan DPPH 0,1mM

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% Aktivitas Antioksidan	IC ₅₀ (µg/mL)	Potensi Antioksidan
Blanko	1,3260	-		
2	0,56944	57,05580		
2,5	0,52106	60,70437	0,62147	Sangat kuat
3	0,48773	63,21795		
3,5	0,46050	65,27149		

PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Bawang Mekah

Metode ekstraksi secara maserasi dipilih untuk penyarian karena menghasilkan ekstrak yang banyak dan baik untuk bahan aktif yang tidak tahan oleh adanya pemanasan. Pelarut etanol 70% dipilih sebagai penyari dikarenakan pelarut ini sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Menurut Syamsuni (2006), selain sebagai penyari, etanol dapat digunakan sebagai pengawet ekstrak karena menyebabkan enzim-enzim tidak bekerja sehingga jamur dan bakteri tidak tumbuh. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 52,1 gram, berwarna coklat kehijauan. Redemen ekstrak terhadap simplisia kering adalah 20,7363 %.

Penetapan Susut Pengeringan

Hasil susut pengeringan diperoleh kadar pelarut yang tersisa sebesar 5,72 %. Menurut Voigt (1995), ekstrak tersebut tergolong ekstrak kental (*Extractum spissum*) karena

kadar pelarut yang tersisa diantara 5-30%.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% dan Fraksi Etanol

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% dan fraksi etanol dapat dilihat pada tabel 1. Fraksi etanol daun bawang mekah mengandung metabolit sekunder yang sama dengan ekstrak yaitu berupa flavonoid, saponin, dan fenolik. Senyawa yang memberikan hasil negatif kemungkinan tidak ikut terekstraksi oleh pelarut.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% dan Fraksi Etanol secara KLT

Uji pendahuluan bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa aktif di dalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan dalam meredam radikal bebas (DPPH). Fase gerak yang digunakan ialah kloroform *p.a*, yang dipilih berdasarkan hasil optimasi. Hasil KLT pada ekstrak diperoleh 4 bercak dengan *hRf* 3,75; 12,50; 50,00 dan 61,25 sedangkan pada fraksi diperoleh 1 bercak pada

hRf 12,50. Setelah disemprot dengan DPPH 0,2%, seluruh bercak pada ekstrak maupun fraksi memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pucat dengan latar ungu.

Deteksi menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm juga dilakukan untuk mengetahui bercak yang dapat berfluoresensi (berpendar) sehingga dapat terlihat secara visual. Peristiwa ini disebabkan oleh adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom pada bercak tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan hasil emisi cahaya yang dipancarkan ketika elektron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kembali ke tingkat semula sambil melepaskan energi.

Uji Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometer UV-Vis

Pemilihan metode DPPH untuk penentuan aktivitas antioksidan didasarkan pada keunggulannya, yaitu mudah, cepat, sederhana, reproduksibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Kurniawan, 2011).

Hasil skrining panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,1mM pada fraksi etanol daun

bawang mekah dan vitamin C sebagai kontrol positif adalah sama, yaitu 515,4 nm.

Hasil persamaan regresi linier fraksi etanol adalah $y = 0,51967x + 26,43975$ dengan nilai $r = 0,9668$. Nilai IC_{50} fraksi etanol adalah 45,33694 μ g/mL. Menurut Molyneux (2004), fraksi etanol ini memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC_{50} nya kurang dari 50 μ g/mL. Hasil pengukuran fraksi dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil pengukuran vitamin C pada tabel 4, diperoleh persamaan regresi linier $y = 5,43213x + 46,62404$ dengan nilai koefisien korelasi 0,99119. Vitamin C sebagai kontrol positif mempunyai nilai IC_{50} sebesar 0,62147 μ g/mL. Nilai tersebut menunjukkan bahwa vitamin C tergolong antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 μ g/mL. Jika ditinjau dari strukturnya, kuatnya aktivitas antioksidan vitamin C dipengaruhi oleh banyaknya gugus -OH yang terikat pada struktur inti vitamin C.

Nilai IC_{50} fraksi etanol daun bawang mekah menunjukkan bahwa fraksi etanol tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat begitu juga dengan vitamin C. Tetapi aktivitas antioksidan fraksi etanol daun bawang

mekah lebih rendah jika dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif karena fraksi etanol daun bawang mekah masih terdiri dari beberapa campuran senyawa, sedangkan vitamin C adalah senyawa murni.

KESIMPULAN

Fraksi Etanol daun bawang mekah secara maserasi positif memiliki aktivitas antioksidan menggunakan DPPH 0,2% . Aktivitas antioksidan fraksi etanol daun bawang mekah tergolong sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 45,33694µg/mL (Nilai IC₅₀ Vitamin C sebagai kontrol positif sebesar 0,62147 µg/mL).

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989, *Materia Medika Indonesia*. Jilid V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, Hal 179, 333-337, 549-553.
- Dwiyana, U. D., 2012, Penentuan Aktivitas Antibakteri Umbi Bawang Mekah (*Eleutherine americana* (L.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis, *Skripsi*, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Galingging, R. Y. 2009. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) sebagai Tanaman Obat Multifungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 15 (3) 10-16.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Penebar Swadaya, Yogyakarta, Hal 234-235, 261-262.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Penerbit ITB, Bandung, Hal 70, 147-148, 243-235.
- Ifesan, B. O. T., Ibrahim, D., and Voravuthikunchai, S. P., 2010, Antimicrobial Activity of Crude Ethanolic Extract from *Eleutherine americana*, *J. Food- Agri*, 8 (3) 1233-1236.
- Isnindar, Setyowati, E. P., dan Wahyuono, S., 2011, Aktivitas Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* L.F) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional*, 16 (2) 63-67.
- Jawi, I. M., Suprpta, N. D., dan Sutirtayasa, I. W. P., 2007, Efek Antioksidan Ekstrak Umbi Ubijalar Ungu (*Ipomoiea batatas* L) terhadap Hati Setelah Aktivitas Fisik Maksimal dengan Melihat Kadar AST dan ALT Darah pada Mencit, *Dexa Media*, 20 (3) 65-71.
- Kuntorini, E. M. dan Astuti, M. D., 2010, Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.), *Sains dan Terapan Kimia*, 4 (1) 15-22.
- Kurniawan, A., 2011, Aktivitas Antioksidan dan Potensi Hayati

- dari Kombinasi Ekstrak Empat Jenis Tanaman Obat Indonesia, *Skripsi*, Departemen Biokimia FMIPA Institut Pertanian Bogor, Hal 6-7.
- Mangan, Y., 2009, *Solusi Mencegah dan Mengatasi Kanker*, Agromedia Pustaka, Jakarta, Hal 64.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn. J. Sci. Technol*, 26 (2) 211-219.
- Mosquera, O., Correa, Y. M., and Nino, J., 2009, Antioxidant Activity of Plants Extract from Colombian Flora *Braz. J. Pharm*, 19 (2A) 382-387.
- Musfiroh, E dan Syarief, S. H., 2012, Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Nanopartikel Emas Dengan Berbagai Konsentrasi Sebagai Material Antiaging Dalam Kosmetik, *UNESA. J. Chem*, 1 (2) 18-25.
- Nur, A. M., 2011, Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor.
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, *Analytical Progress*, 19 (2) 1-4.
- Pratiwi, D., 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), *Skripsi*, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Syamsuni, H. A., 2006, *Ilmu Resep*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Hal 243, 246-249, 263.
- Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, UGM Press, Yogyakarta, Hal 561, 567-569, 577.
- Wulansari, D. dan Chairul, 2011, Penapisan Aktivitas Antioksidan dan Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia Menggunakan Radikal 2,2-Diphenyl-1 Picrylhydrazyl (DPPH), *Majalah Obat Tradisional*, 16 (1) 22 – 2