

Catatan Penelitian

Aktivitas Penangkalan Radikal Bebas dan Kemampuan Reduksi Ekstrak Kulit Kayu Akway (*Drimys piperita* Hook. f.)

Free Radical Scavenging Activity and Reducing Power of Akway (Drimys piperita Hook. f.) *Bark Extracts*

Gino Nemesio Cepeda*, Meike Meilan Lisangan, Mathelda Kurniaty Roreng, Elva Intan Permatasari, Dolly Citra Manalu, Wulan Tainlain

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Papua, Manokwari

*Korespondensi dengan penulis (ginocepeda.gc@gmail.com)

Artikel ini dikirim pada tanggal 17 September 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 29 November 2018. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jatp>. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2018

Abstrak

Akway (*Drimys piperita* Hook. f.) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam kelompok tumbuhan berkayu, berdaun tebal aromatik dan termasuk kerabat *winteraceae*. Tumbuhan ini dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati malaria dan untuk meningkatkan vitalitas tubuh. Beberapa penelitian kandungan fitokimia ekstrak akway telah dilakukan untuk mengetahui potensi bioaktivitas akway. Ekstrak kulit kayu akway dilaporkan mengandung kelompok senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, terpenoid dan glikosida. Minyak atsiri kulit kayu akway mengandung linalool, β -pinen, α -pinen, nerolidol dan terpineol. Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak kulit kayu akway secara *in vitro* dan vitamin C sebagai kontrol positif. Pengujian kapasitas antioksidan yang dilakukan meliputi kandungan total fenol dengan metode *Folin-Ciocalteu*, kandungan flavonoid dengan metode aluminium klorida, kapasitas penangkalan radikal bebas menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)-*radical scavenging assay* dan daya reduksi menggunakan metode reduksi Fe^{+3} menjadi Fe^{+2} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki kandungan total fenol dan flavonoid yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan etilasetat. Kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak metanol masing-masing sebesar 18,22 dan 14,32%. Ekstrak metanol dan vitamin C memiliki kapasitas menangkali radikal bebas DPPH dan daya reduksi yang paling tinggi kemudian diikuti ekstrak etanol dan etilasetat. Kemampuan menangkali radikal bebas ekstrak metanol dan vitamin C pada konsentrasi 200 μ g/ml masing-masing sebesar 90% dan 88,31% sedangkan daya reduksi masing-masing sebesar 0,54 dan 0,62. Kesimpulannya, ekstrak metanol memiliki kapasitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan etilasetat.

Kata kunci : Ekstrak, *Drimys piperita*, aktivitas antioksidan

Abstract

Akway (*Drimys piperita* Hook. f.) was a woody and aromatic plant of *winteraceae*. This plant was used as traditional medical plant to heal malaria and to enhance vitality of body. Some studies were done to know bioactivity potency of akway extracts. *D. piperita* bark extract contains alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, terpenoid and glycoside. The bark essential oil of the plant consists of linalool, β -pinene, α -pinene, nerolidol and terpineol. Those compounds were exhibited high antioxidant activity. The objectives of this research were to determine total phenol and flavonoid of the extracts and its antioxidant capacity which was compared to antioxidant capacity of vitamin C. The assay of antioxidant capacity comprised of total phenol and flavonoid content, free radical scavenging activity, and reducing power. Total phenol and flavonoid was determined using *Folin-Ciocalteu* and aluminum chloride method, respectively while determination of free radical scavenging activity and reducing power using DPPH-radical scavenging and Fe^{+3} to Fe^{+2} reducing power method, respectively. The results indicated that methanol extract had the highest in total phenol and flavonoid content. Total phenol and flavonoid of methanol extract were 18.22% and 14.32%, respectively. Vitamin C and methanol extract had the highest DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)-radical scavenging activity and reducing power, respectively. DPPH-radical scavenging activity of methanol extract and vitamin C in concentration of 200 μ g/ml were 90% and 88.31%, respectively while its reducing power were 0.54 and 0.62, respectively. As conclusion, methanol extract had the highest antioxidant activity compared with ethanol and ethyl acetate extracts.

Keywords : extracts, *Drimys piperita*, antioxidant activity

Pendahuluan

Akway (*Drimys piperita* Hook. f.) merupakan tumbuhan berkayu, berdaun tebal aromatik, dan termasuk kerabat *winteraceae* (Stevens, 2017). Tumbuhan ini tumbuh di Pegunungan Arfak Papua Barat pada ketinggian 1200–2400 meter dari permukaan laut. Tumbuhan ini digunakan oleh

penduduk asli Pegunungan Arfak untuk mengobati malaria dan untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Syakir *et al.*, 2011).

Beberapa penelitian yang mengkaji senyawa fitokimia penyusun akway telah dilakukan. Ekstrak etanol dan etilasetat kulit kayu akway mengandung flavonoid, terpenoid, tanin, saponin, dan alkaloid

(Cepeda, 2008; Cepeda *et al.*, 2010). Minyak atsiri daun akway ditemukan mengandung senyawa linalool, β -pinen, α -pinen dan nerolidol (Cepeda *et al.*, 2011^a), sedangkan minyak atsiri kulit kayunya terdapat α -pinen, β -pinen, dan 4-terpineol (Cepeda *et al.*, 2011^b). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu akway memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami karena senyawa-senyawa dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Mercier *et al.*, 2009; Bicas *et al.*, 2011; Neto *et al.*, 2013). Namun demikian pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit kayu akway perlu dilakukan untuk mengetahui potensi antioksidan yang terdapat dalam kulit kayu akway.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak yang berasal dari tumbuhan secara *in vitro* dapat dikelompokkan ke dalam dua metode pengujian, yaitu metode transfer atom hidrogen dan transfer elektron (Kasote *et al.*, 2015). Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode transfer atom hidrogen mengukur kemampuan antioksidan menangkal radikal bebas melalui donasi hidrogen untuk membentuk senyawa yang stabil, sedangkan metode transfer elektron dapat menggambarkan kemampuan antioksidan memberikan satu elektron untuk mereduksi senyawa-senyawa logam, karbonil dan radikal bebas (Kasote *et al.*, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak kulit kayu akway yang meliputi kemampuan menangkal radikal bebas DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan kemampuan reduksi Fe^{+3} menjadi Fe^{+2} . Pengujian aktivitas menangkal radikal bebas DPPH dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak akway dalam memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas untuk membentuk senyawa yang stabil, sedangkan pengujian kemampuan reduksi dapat menggambarkan kemampuan ekstrak akway memberikan elektron untuk mereduksi senyawa logam yang bersifat mempercepat reaksi oksidasi. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan vitamin C sebagai kontrol positif, yang dilakukan dengan cara menganalisis kandungan total fenol, kandungan flavonoid, kapasitas penangkal radikal bebas, dan daya reduksinya. Manfaat yang dapat diperoleh adalah memberi informasi secara lebih detail tentang kapasitas antioksidan ekstrak kulit kayu akway.

Materi dan Metode

Materi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kayu akway, pelarut metanol, etanol dan etilasetat diperoleh dari J.T. Baker USA, reagen *Folin-Ciocalteu*, asam galat, sodium karbonat, aluminium klorida, quersetin, DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl), vitamin C, buffer fosfat, kalium ferisianida, asam trikloroasetat dan feritriklorida diperoleh dari Merck (Jerman) dan aquades. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, *moisture meter*, grinder, ayakan 40 mesh, kantong plastik, timbangan analitik WAS 220/C/2 RADWAG, penyaring vakum, *rotary evaporator* Eyela N1000, kertas saring, spektrofotometer UVmini-1240 Shimadzu

(Japan), *shaker incubator* Lab-line ORBIT, sentrifus Hettich Universal/K2S (Jerman), kertas saring Whatman no. 1, dan peralatan gelas.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang terdiri dari 3 tahap penelitian, yaitu tahap pertama adalah persiapan bahan penelitian kemudian tahap kedua adalah proses ekstraksi dan evaporasi dengan menggunakan 3 jenis pelarut, yaitu metanol, etanol dan etilasetat, dan tahap terakhir adalah pengujian kandungan fenol dan flavonoid, kemampuan penangkal radikal bebas DPPH serta kemampuan reduksi ekstrak. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan konsentrasi ekstrak dan 3 kelompok jenis ekstrak.

Persiapan bahan penelitian

Bahan penelitian tumbuhan akway yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Distrik Anggi, Kabupaten Pegunungan Arfak Papua Barat dengan perjalanan menggunakan mobil selama 8 jam. Tumbuhan akway yang digunakan adalah tumbuhan dengan diameter batang utama 8-10 cm. Pohon akway yang telah diperoleh dari lokasi tersebut dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel pada permukaan batangnya sampai terlihat warna merah kecoklatan pada bagian kulit luarnya. Kulit luarnya dikuliti dengan menggunakan pisau untuk memisahkan kulit kayunya dari batangnya. Kulit kayu yang diperoleh selanjutnya dikeringkan. Pengeringan dilakukan pada suhu ruang selama kurang lebih 7 hari sampai kadar air 10-12%. Kulit kayu yang sudah kering digiling dengan menggunakan *grinder* kemudian diayak dengan menggunakan ayakan ukuran 40 mesh. Bubuk kulit kayu yang diperoleh dikemas dalam kemasan plastik polietilen kapasitas 1 kg.

Ekstraksi dan evaporasi

Proses ekstraksi bubuk kulit kayu akway dilakukan dengan menggunakan 3 jenis pelarut, yaitu metanol, etanol, dan etilasetat. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Perbandingan bubuk kulit kayu akway dan pelarut yang digunakan adalah 1:4 (b/v). Ekstraksi dilakukan pada suhu kamar selama 72 jam. Selama proses ekstraksi dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker incubator*. Ekstrak yang diperoleh dari hasil penyaringan, pelarutnya diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 60 rpm. Ekstrak hasil penguapan, dimasukkan dalam botol yang berwarna gelap sebelum digunakan dalam pengujian fitokimia dan aktivitas antioksidan (Cepeda *et al.*, 2015).

Pengujian kandungan total fenol

Pengujian total fenol ekstrak kulit kayu akway dilakukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* (Do *et al.*, 2014) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak kulit kayu akway sebanyak 1,6 ml dengan konsentrasi 50 μ g/ml dicampur dengan 0,2 ml reagen *Folin-Ciocalteu* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3 menit. Kemudian

sodium karbonat sebanyak 0,2 ml dengan konsentrasi 10% (b/v) ditambahkan dalam larutan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm. Asam galat dengan konsentrasi 20-80 µg/ml digunakan sebagai larutan standar dengan formula $y = 0,0118x + 0,0341$, dengan $R^2 = 0,9946$. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai miligram standar ekivalen asam galat tiap gram ekstrak (mg EAG/g).

Pengujian kandungan flavonoid

Kandungan flavonoid ekstrak diuji dengan menggunakan metode aluminium klorida (Do *et al.*, 2014) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak kulit kayu akway dilarutkan dalam metanol sampai konsentrasi 100 µg/ml. Ekstrak sebanyak 2 ml dicampurkan dengan 0,1 ml larutan aluminium klorida 10% dan 0,1 ml potasium asetat 0,1 mM. Kemudian larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan setelah itu larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 415 nm. Larutan quersetin dengan konsentrasi 2-10 µg/ml digunakan sebagai larutan standar dalam pengujian dengan formula $y = 0,0873x + 0,0258$, dengan $R^2 = 0,9903$. Kandungan flavonoid dinyatakan sebagai miligram ekivalen quersetin tiap gram ekstrak (mg EQ/g).

Pengujian Penangkalan Radikal Bebas

Pengujian aktivitas penangkalan radikal bebas ekstrak dilakukan pada konsentrasi 0, 100, 200, 400 dan 800 µg/ml dan larutan vitamin C dengan konsentrasi yang sama digunakan sebagai kontrol positif. Metode yang digunakan adalah DPPH-free radical scavenging assay (Adaramola and Onigbinde, 2016). Sebanyak 1,0 ml DPPH 0,3 mM dicampurkan dalam larutan yang mengandung 1,0 ml ekstrak dan 1,0 ml metanol. Campuran kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 10 menit kemudian absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas penangkalan radikal bebas (APRB) dinyatakan dengan menggunakan persamaan APRB (%) = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$; dimana A_0 adalah absorbansi larutan tanpa ekstrak atau vitamin C dan A_1 adalah absorbansi larutan yang mengandung ekstrak atau vitamin C.

Pengujian daya reduksi

Pengujian daya reduksi Fe^{+3} menjadi Fe^{+2} dilakukan pada konsentrasi 0, 100, 200, 400 dan 800 µg/ml dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Sebanyak 1,0 ml ekstrak dicampur dengan 2,5 ml buffer fosfat (200 mM, pH 6,6) dan 2,5 ml kalium ferisianida (30 mM) dan diinkubasi pada 50°C selama 20 menit. Setelah itu 2,5 ml asam trikloroasetat (600 mM) ditambahkan pada campuran tersebut dan disentrifus

selama 10 menit pada 3000 rpm menggunakan alat sentrifus. Lapisan atas dari larutan hasil sentrifus dipisahkan sebanyak 2,5 ml lalu ditambahkan 2,5 ml aquades dan 0,5 ml $FeCl_3$ 6 mM yang kemudian absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 700 nm (Adaramola and Onigbinde, 2016). Peningkatan nilai absorbansi menunjukkan peningkatan daya reduksi.

Analisis data

Data penangkalan radikal bebas dan daya reduksi ekstrak yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varians pada tingkat kepercayaan 95% dan bila perlakuan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur (BNJ, α 0,05). Data hasil analisis ditampilkan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Total fenol dan flavonoid

Senyawa fenolik merupakan salah satu kelompok senyawa fitokimia yang memiliki satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa ini tersebar luas dalam tumbuhan dan merupakan metabolit sekunder yang melimpah dalam tumbuhan. Tumbuhan mengandung senyawa fenolik yang bervariasi dari senyawa fenolik yang sederhana seperti asam fenolat dan antosianin sampai senyawa-senyawa yang membentuk polimer yang besar seperti tannin dan senyawa-senyawa tersebut berada dalam jumlah yang berbeda-beda (Dai and Mumper, 2010).

Hasil analisis kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak metanol, etanol dan etilasetat kulit kayu akway menunjukkan bahwa semua ekstrak yang diuji mengandung senyawa fenol dan flavonoid dengan jumlah yang berbeda-beda. Kandungan total fenol dan flavonoid tertinggi diperoleh pada ekstrak metanol kemudian diikuti oleh ekstrak etanol dan etilasetat. Kandungan total fenol ekstrak metanol, etanol, dan etilasetat masing-masing sebesar 182,22; 148,80; dan 22,21 mg EAG/g, sedangkan kandungan flavonoidnya masing-masing sebesar 103,23; 82,14; dan 2,30 mg EQ/g ekstrak (Tabel 1).

Tabel 1. Kandungan total fenol (mg EAG/g) dan flavonoid (mg EQ/g) ekstrak akway

Macam Ekstrak	Total Fenol	Flavonoid
Metanol	182,22±4,06	103,23±4,78
Etanol	148,80±6,52	82,14±3,30
Etilasetat	22,21±1,87	2,30±0,58

Kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak kulit kayu akway meningkat sesuai dengan meningkatnya polaritas pelarut yang digunakan. Proses ekstraksi dengan metanol yang bersifat lebih polar daripada etanol dan etilasetat, yang dapat menghasilkan ekstrak dengan kandungan total fenol dan flavonoid yang paling tinggi.

Tabel 2. Aktivitas penangkalan radikal DPPH (%) ekstrak kulit kayu akway dan vitamin C

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH			
	Metanol	Etanol	Etilasetat	Vitamin C
0	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a
100	79,00 \pm 4,57 ^d	62,00 \pm 2,12 ^{cd}	18,96 \pm 0,90 ^{ab}	86,27 \pm 4,99 ^d
200	90,00 \pm 0,00 ^d	87,00 \pm 4,24 ^d	26,97 \pm 0,67 ^{ab}	88,31 \pm 3,27 ^d
400	90,00 \pm 0,00 ^d	88,17 \pm 2,60 ^d	41,00 \pm 1,88 ^{bc}	88,36 \pm 3,34 ^d
800	90,00 \pm 0,00 ^d	89,35 \pm 0,92 ^d	73,44 \pm 4,52 ^d	89,41 \pm 3,40 ^d

Keterangan: superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata

Tabel 3. Daya reduksi ekstrak kulit kayu Akway dan vitamin C

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Daya reduksi ekstrak akway dan vitamin C (absorbansi)			
	Metanol	Etanol	Etilasetat	Vitamin C
0	0,04 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a	0,04 \pm 0,01 ^a
100	0,36 \pm 0,01 ^{ab}	0,26 \pm 0,01 ^{ab}	0,15 \pm 0,01 ^a	0,40 \pm 0,02 ^{abc}
200	0,54 \pm 0,00 ^{abc}	0,37 \pm 0,01 ^{ab}	0,23 \pm 0,00 ^a	0,62 \pm 0,02 ^{abc}
400	0,84 \pm 0,03 ^{bcd}	0,54 \pm 0,00 ^{abc}	0,30 \pm 0,01 ^{ab}	0,98 \pm 0,18 ^{cd}
800	1,27 \pm 0,15 ^d	0,82 \pm 0,07 ^{bcd}	0,43 \pm 0,01 ^{abc}	2,05 \pm 0,08 ^e

Keterangan: superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata

Perbedaan kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak kulit kayu akway yang bergantung pada sifat polaritas pelarut diduga disebabkan perbedaan kelarutan senyawa-senyawa fenolik dalam pelarut yang digunakan. Menurut Zlotek *et al.* (2016), perbedaan struktur senyawa-senyawa fenolik akan menentukan kelarutannya dalam pelarut yang berbeda sifat polaritasnya sehingga jumlah senyawa fenolik yang terekstrak bergantung pada jenis pelarut yang digunakan.

Peningkatan kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak dengan meningkatnya sifat polaritas pelarut yang digunakan juga dilaporkan pada proses ekstraksi beberapa tumbuhan lainnya. Proses ekstraksi daun *Helicteres hirsuta* dengan menggunakan pelarut metanol, etanol, dan etilasetat menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki kandungan total fenol dan flavonoid yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan etilasetat (Pham *et al.*, 2015). Hasil yang serupa juga dilaporkan oleh Sultana *et al.* (2009) dimana proses ekstraksi kulit kayu *Delonix regia* dengan menggunakan pelarut metanol, etanol, dan aseton masing-masing menghasilkan kandungan total fenol sebesar 0,58; 0,42; dan 0,1 g EAG/100g sedangkan kandungan flavonoidnya sebesar 0,21; 0,16; dan 0,09 g EC/100g.

Proses ekstraksi kulit kayu akway menggunakan pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda. Hasil ekstraksi senyawa fenolik dalam kulit kayu akway menunjukkan bahwa senyawa fenolik kulit kayu akway lebih larut dalam pelarut metanol yang bersifat lebih polar dibandingkan etanol dan etilasetat. Hasil tersebut menunjukkan pelarut yang bersifat lebih polar sangat cocok untuk proses ekstraksi senyawa fenolik dalam kulit kayu akway.

Penangkalan radikal bebas DPPH

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan dalam larutan akan menghasilkan warna ungu. Senyawa ini akan mengalami perubahan warna dari warna ungu menjadi kuning bila menerima atom hidrogen atau elektron dari senyawa yang lain. Sifat tersebut digunakan untuk mengevaluasi aktivitas

antioksidan atau kemampuan mendonorkan elektron dari berbagai ekstrak tanaman atau tumbuhan (Babu *et al.*, 2013).

Hasil pengujian kemampuan menangkalkan radikal bebas DPPH ekstrak kulit kayu akway menunjukkan bahwa kemampuan menangkalkan radikal bebas ekstrak meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak (Tabel 2). Pada konsentrasi ekstrak 100 $\mu\text{g/ml}$ ekstrak metanol, etanol, dan etilasetat, hasil penangkalan radikal bebas masing-masing sebesar 79,00; 62,00; dan 18,96%. Kemampuan menangkalkan radikal bebas tersebut masing-masing meningkat menjadi 90,00; 89,35; dan 73,44% pada konsentrasi ekstrak 800 $\mu\text{g/ml}$. Peningkatan kemampuan menangkalkan radikal bebas DPPH dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak juga dilaporkan pada ekstrak etanol *Tripala* pada konsentrasi 0,2-1,0 mg/ml (Babu *et al.*, 2013), ekstrak etanol buah *Averrhoa bilimbi*, *Artocarpus lacucha* dan *Cucumis melo* pada konsentrasi 2-10 $\mu\text{g/ml}$ (Aklima *et al.*, 2014) dan ekstrak metanol daun dan bunga *Crataegus azarolus* pada konsentrasi 10-400 $\mu\text{g/ml}$ (Lakache *et al.*, 2016).

Peningkatan kemampuan menangkalkan radikal bebas DPPH ekstrak dengan meningkatnya konsentrasi diduga disebabkan oleh peningkatan jumlah senyawa fenol dan flavonoid yang bersifat antioksidan di dalam ekstrak yang digunakan. Makin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan menyebabkan makin banyak jumlah senyawa fenol dan flavonoid yang ada dalam ekstrak. Senyawa fenol dan flavonoid telah dikenal merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan dan memiliki aktivitas antioksidan (Lin *et al.*, 2016).

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa ekstrak metanol merupakan ekstrak yang memiliki kemampuan menangkalkan radikal bebas DPPH yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan etilasetat. Pada konsentrasi yang sama, yaitu 200 $\mu\text{g/ml}$ ekstrak metanol, etanol, dan etilasetat menghasilkan kapasitas penangkalan radikal bebas DPPH masing-masing sebesar 90,00; 87,00; dan 26,97%. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa kapasitas penangkalan radikal bebas DPPH dari ekstrak metanol dan etanol pada konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ tidak berbeda nyata,

namun demikian kapasitas penangkal radikal bebas kedua ekstrak tersebut berbeda nyata dengan ekstrak etilasetat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelarut metanol dan etanol merupakan pelarut terbaik dalam proses ekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan dalam kulit kayu akway karena menghasilkan kapasitas penangkal radikal bebas DPPH tertinggi bila dibandingkan dengan pelarut etilasetat. Disamping itu juga bila dibandingkan dengan kapasitas penangkal radikal bebas DPPH dari vitamin C, ekstrak metanol dan etanol merupakan ekstrak yang memiliki kapasitas penangkal radikal bebas DPPH yang setara dengan vitamin C. Nilai kapasitas penangkal radikal bebas DPPH ekstrak metanol dan etanol pada konsentrasi 200 µg/ml masing-masing sebesar 90,00 dan 87,00%, bila dibandingkan dengan nilai kapasitas penangkal radikal bebas vitamin C pada konsentrasi yang sama, yaitu sebesar 88,31% dapat menghasilkan kapasitas penangkal radikal bebas masing-masing sebesar 101,91 dan 98,52%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etanol kulit kayu akway merupakan sumber antioksidan yang potensial untuk dikembangkan karena memiliki kapasitas penangkal radikal bebas yang setara dengan vitamin C.

Daya reduksi

Daya reduksi ekstrak sering digunakan sebagai indikator aktivitas antioksidan yang potensial. Pengujian daya reduksi ekstrak sering menggunakan metode reduksi Fe^{+3} menjadi Fe^{+2} . Ekstrak yang memiliki kemampuan reduksi mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut merupakan pendonor elektron yang dapat mereduksi ion-ion metal yang mempercepat proses oksidasi sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan sekunder (Kasote *et al.*, 2015).

Pengujian kemampuan reduksi ekstrak kulit kayu akway dilakukan pada konsentrasi 100-800 µg/ml dan dibandingkan dengan kemampuan reduksi vitamin C pada konsentrasi yang sama sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan bahwa kemampuan reduksi diantara ekstrak yang diuji sangat bervariasi (Tabel 3). Pada ketiga ekstrak yang diuji, yaitu ekstrak metanol, etanol dan etilasetat, hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol merupakan ekstrak yang memiliki kemampuan reduksi yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan etilasetat. Kemampuan reduksi ekstrak metanol berkisar pada 0,36-1,27, ekstrak etanol sebesar 0,26-0,82 sedangkan ekstrak etilasetat berkisar 0,15-0,43. Kemampuan reduksi ekstrak kulit kayu akway berkorelasi positif dengan kandungan total fenolnya. Semakin tinggi kandungan total fenol ekstrak menyebabkan semakin tinggi pula kemampuan reduksinya. Ekstrak metanol yang memiliki kemampuan reduksi paling tinggi diduga disebabkan karena ekstrak metanol mengandung total fenol yang paling tinggi, yaitu 182,22 mg EAG/g dibandingkan dengan ekstrak etanol sebesar 148,80 mg EAG/g dan etilasetat sebesar 22,21 mg EAG/g ekstrak. Hasil yang sama juga diperoleh pada *Agrimonia eupatoria* dan *Syzygium aromaticum*. Ekstrak aseton *Agrimonia eupatoria*

dengan kandungan total fenol paling tinggi, yaitu 220,31 mg EAG/g pada konsentrasi 62,5-1000 µg/ml memiliki kemampuan reduksi paling tinggi, yaitu 0,25-2,27, dibandingkan dengan ekstrak etanol dan air dengan kandungan total fenol masing-masing sebesar 123,9 mg EAG/g dan 118,47 mg EAG/g menghasilkan kemampuan reduksi yang lebih rendah yaitu masing-masing sebesar 0,09-1,62 dan 0,12-0,95 (Muruzovic *et al.*, 2016). Pada ekstrak aseton *Syzygium aromaticum* yang mengandung total fenol tertinggi, yaitu 200,20 mg EAG/g juga menghasilkan kemampuan reduksi yang paling tinggi, yaitu sebesar 0,88 dibandingkan ekstrak metanol dan air masing-masing sebesar 0,81 dan 0,76 (Adaramola and Inigbinde, 2016).

Daya reduksi ekstrak juga sangat bergantung pada konsentrasi ekstrak yang digunakan. Semua ekstrak yang diuji menunjukkan peningkatan kemampuan reduksi dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Kemampuan reduksi ekstrak metanol, etanol, dan etilasetat pada konsentrasi 100 µg/ml masing-masing sebesar 0,36; 0,26; dan 0,15 kemudian meningkat masing-masing menjadi 1,27; 0,82; dan 0,43 pada konsentrasi 800 µg/ml. Peningkatan kemampuan reduksi ekstrak dengan bertambahnya konsentrasi juga dilaporkan pada ekstrak air, etanol, dietileter dan aseton dari *Agrimonia eupatoria* (Muruzovic *et al.*, 2016), ekstrak air, metanol dan etilasetat *Eremurus himalaicus* (Mushtag *et al.*, 2017) dan subfraksi ekstrak metanol *Salvia mirzayanii* (Moein *et al.*, 2008).

Tabel 3 juga menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang sama, kemampuan reduksi ekstrak kulit kayu akway lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C. Daya reduksi ekstrak kulit kayu akway pada konsentrasi 100-800 µg/ml berkisar 0,36-1,27 sedangkan vitamin C pada konsentrasi yang sama berkisar 0,40-2,05. Berdasarkan analisis statistik daya reduksi ekstrak metanol pada konsentrasi 800 µg/ml yaitu sebesar 1,27 dan tidak berbeda nyata dengan daya reduksi vitamin C sebesar 0,98 pada konsentrasi 400 µg/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daya reduksi ekstrak metanol kulit kayu akway adalah sekitar setengah dari vitamin C.

Kesimpulan

Ekstrak metanol kulit kayu akway merupakan ekstrak yang memiliki kandungan total fenol dan flavonoid, aktivitas menangkal radikal bebas dan daya reduksi yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan etilasetat. Ekstrak metanol dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami karena memiliki aktivitas antioksidan yang setara dengan vitamin C.

Daftar Pustaka

- Adaramola, B., Onigbinde, A. 2016. Effect of extraction solvent on phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity of Cove Bud. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences 11(3):33-38. DOI:10.9790/3008-1103013338.
- Aklima, J., Mojumder, S., Sikdar, D. 2014. Total phenolic content, reducing power, antioxidative and anti-amylase activities of five Bangladeshi

- fruits. *International Food Research Journal* 21(1): 119-124.
- Babu, B., Gurumurthy, P., Borra, S.K., Cherian, K.M. 2013. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Tripala* determined by using different in vitro models. *Journal of Medical Plant Research* 7(39):2898-2905. DOI:10.5897/JMPR2013.5124.
- Bicas, J.L., Neri-Numa, I.A., Ruiz, A.L.T.G., DeCarvalho, J.E., Pastore, G.M. 2011. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors. *Food and Chemical Toxicology* 49(7):1610-1615. DOI:10.1016/j.fct.2011.04.012.
- Cepeda, G.N. 2008. Daya hambat akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Agrotek* 1(3):41-50. DOI:10.30862/agt.v1i3.161.
- Cepeda, G.N., Santoso, B.B., Lisangan, M.M., Silamba, I. 2010. Penapisan fitokimia akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Agrotek* 1(8):28-33. DOI:10.30862/agt.v1i8.212.
- Cepeda, G.N., Santoso, B.B., Lisangan, M.M., Silamba, I. 2011a. Komposisi kimia minyak atsiri daun akway. *Makara Sains* 15(1): 63-66. DOI:10.7454/mss.v15i1.880.
- Cepeda, G.N., Santoso, B.B., Lisangan, M.M., Silamba, I. 2011b. Komposisi kimia minyak atsiri kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Bionatura* 13(2):118-124.
- Cepeda, G. N., Lisangan, M.M., Silamba, I. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook f.) terhadap bakteri patogen. *Agritech* 35(2): 170-177. DOI:10.22146/agritech.9403.
- Dai, J., Mumper, R.J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15: 7313-7352. DOI:10.3390/molecules15107313.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., Ju, Y-H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis* 22(3): 296 - 302. DOI: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.
- Kasote, D.M., Katyare, S.S., Hegde, M.V., Bae, H. 2015. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences* 11(8): 982-991. DOI: 10.7150/ijbs.12096.
- Lakache, Z., Tigrine-Kordjani, N., Tigrine, C., Aliboudhar, H., Kameli, A. 2016. Phytochemical screening and antioxidant properties of methanolic extract and different fractions of *Crataegus azarolus* leaves and flowers from Algeria. *International Food Research Journal* 23(4): 1576-1583.
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., Chen, S. 2016. An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules* 21(10):1374. DOI: 10.3390/molecules21101374.
- Mercier, B., Frost, J., Frost, M. 2009. The essential oil of turpentine and its major volatile fraction (α - and β -pinene): A review. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 22(4):331-342. DOI:10.2478/v10001-009-0032-5.
- Moein, M.R., Moein, S., Ahmadzadeh, S. 2008. Radical scavenging and reducing power of *Salvia mirzayanii* subfractions. *Molecules* 13(11):2804-2813. DOI: 10.3390/molecules13112804.
- Muruzovic, M.Z., Mladenovic, K.G., Stefanovic, O.D., Vasic, S.M., Comic, L.R. 2016. Extracts of *Agrimonia eupatoria* L.as source of biological active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities. *Journal of Food and Drug Analysis* 24:539-547. DOI:10.1016/j.jfda.2016.02.007.
- Mushtag, A., Masoodi, M.H., Wali, A.F., Ganai, B.A. 2017. Total phenolic content, total flavonoid content, in vitro antioxidant activity and antimicrobial activity against human pathogenic bacteria of *Eremurus himalaicus* an edible herb of North Western Himalayas. *Free Radicals and Antioxidants* 7(1):90-94. DOI: 10.5530/fra.2017.1.14.
- Neto, J. D. N., Dos Santos, P.S., De Sousa, D.P., De Freitas, R.M. 2013. Antioxidant effects of nerolidol in mice hippocampus after open field test. *Neurochemical Research* 38(9):1861-1870. DOI: 10.1007/s11064-013-1092-2.
- Pham, H.N.T., Nguyen, V.T., Vuong, Q.V., Bowyer, M.C., Scarlett, C.J. 2015. Effect of extraction solvents and drying methods on the physicochemical and antioxidant properties of *Helicteres hirsuta* Lour. leaves. *Technologies* 3:285-301. DOI:10.3390/technologies3040285.
- Stevens, P.F. 2017. Canellales. *Angiosperm Phylogeny Website*. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Diakses pada bulan Juli 2017.
- Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14:2167-2180. DOI:10.3390/molecules14062167.
- Syakir, M., Bermawie, N., Augusta, H., Paisey, E.N. 2011. Karakterisasi sifat morfologi dan penyebaran kayu akway (*Drimys* sp.) di Papua Barat. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 17(4): 169-173.
- Zlotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., Swieca, M. 2016. The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23(5): 628-633. DOI : 10.1016/j.sjbs.2015.08.002.