

Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Etanol Limbah Ketapang (*Terminalia catappa*) dengan Metode DPPH

Hafifah Jasman^{a)*}, Ayu Rahmawati^{a)}, M. Azhari Herli^{a)}

^{a)}Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau, Pekanbaru, Indonesia

Ketapang (*Terminalia catappa*) diketahui mengandung flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas karena adanya gugus kromofor (ikatan rangkap terkonjugasi). Flavonoid dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga mengubah radikal ke bentuk yang lebih stabil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*) yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*) ditentukan dengan mengukur % inhibisi dan nilai IC₅₀ (inhibitory concentration 50%) menggunakan spektrofotometer UV Vis. Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat limbah ketapang (*Terminalia catappa*) tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ -28,521 ppm, sedangkan fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*) memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 32,53 ppm. Perbandingan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 17,68 ppm.

Kata Kunci: limbah ketapang, fraksi etil asetat, fraksi etanol, aktivitas antioksidan

Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Fraction and Ethanol Fraction of Ketapang Waste (*Terminalia catappa*) using the DPPH Method

Ketapang (*Terminalia catappa*) is known to contain flavonoids which can ward off free radicals due to the presence of chromophore groups (conjugated double bonds). Flavonoids can donate hydrogen atoms to free radicals so that they change the radicals to a more stable form. This study aims to determine the antioxidant activity of ethyl acetate fraction and ethanol fraction of ketapang waste (*Terminalia catappa*) obtained by maceration method using ethanol 96% solvent. The antioxidant activity of the ethyl acetate fraction and the ethanol fraction of ketapang waste (*Terminalia catappa*) was determined by measuring the % inhibition and the IC₅₀ (inhibitory concentration 50%) value using a UV Vis spectrophotometer. The results showed that the ethyl acetate fraction of ketapang waste (*Terminalia catappa*) did not have antioxidant activity with a value of IC₅₀ -28.521 ppm. While the ethanol fraction of ketapang waste (*Terminalia catappa*) had strong antioxidant activity with a value of IC₅₀ 32.53 ppm. Quercetin comparators had strong antioxidant activity with a value of IC₅₀ 17.68 ppm.

Keywords: Ketapang waste, ethyl acetate fraction, ethanol fraction, antioxidant activity

*Corresponding author : Program Studi Farmasi Fakultas MIPA dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Riau, Jl. Tuanku Tambusai Kota Pekanbaru, e-mail: hafifahjasman@umri.ac.id

PENDAHULUAN

Secara normal setiap sel (jaringan) tubuh manusia menjalankan metabolisme yang akan menghasilkan oksigen reaktif (oksidan). Oksidan disebut juga radikal bebas (Yuslianti, 2018). Tubuh manusia secara alami memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yakni antioksidan dari dalam tubuh atau yang disebut radikal bebas endogenus. Antioksidan endogenus terdiri dari enzim yang dapat disintesis oleh tubuh seperti katalase, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase (SOD) (Astuti, 2012).

Di Indonesia banyak tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat, baik sebagai pangan maupun sebagai obat. Akan tetapi untuk limbah tanaman masih jarang (Rahayu *et al.*, 2015). Salah satu contohnya adalah limbah ketapang yang dapat dijumpai di tepi jalan sebagai pohon peneduh. Daun ketapang yang berguguran sering dimanfaatkan oleh pecinta ikan cupang untuk meningkatkan mutu ikan cupang dan mengobati ikan cupang dari berbagai penyakit. Masyarakat terkadang tidak menyadari bahwa limbah daun ketapang juga dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit dan pemelihara kesehatan yang bernilai ekonomis.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun ketapang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan terpenoid (Katiki *et al.*, 2017). Daun ketapang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Anand *et al.*, 2015), antivirus (Amalraj & Gopi, 2017), antinflamasi (Coulibaly *et al.*, 2014), antimikroba, hepatoprotektor (Kinoshita *et al.*, 2007), antibakteri dan antifungi (Machado-Gonçalves *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti melakukan uji aktivitas antioksidan dari fraksi etanol dan fraksi etil asetat limbah ketapang (*Terminalia catappa*) berdasarkan aktivitas pengikatan terhadap DPPH. Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah atau menunda terjadinya reaksi radikal bebas dalam oksidasi lemak (Ahmad *et al.*, 2012). Radikal bebas adalah atom atau gugus atom yang memiliki elektron tak berpasangan sehingga bersifat reaktif. Radikal bebas dapat terus-menerus terbentuk di dalam tubuh manusia, jika jumlahnya sangat banyak dapat berpotensi mengoksidasikan lemak, menonaktifkan berbagai enzim dan mengganggu DNA sehingga menyebabkan mutasi sel yang dapat menimbulkan kanker (Sari *et al.*, 2015). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi ilmiah di bidang farmasi dalam upaya pemanfaatan senyawa antioksidan dari limbah ketapang.

METODE PENELITIAN

A. Pengambilan dan pengolahan sampel

Limbah ketapang (*Terminalia catappa*) diperoleh dari jalan di Kota Pekanbaru. Determinasi tumbuhan uji dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Riau. Pengolahan tumbuhan meliputi sortasi

basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering dan penggilingan menjadi serbuk simplisia.

A.1. Pembuatan ekstrak limbah ketapang

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 600 mg, diekstraksi dengan metode maserasi sebanyak 1000 ml menggunakan etanol 96%. Selama 6 jam pertama sampel sekali-kali diaduk, kemudian didiamkan selama 3 hari. Maserat dipisahkan dengan kertas saring. Proses penyarian dilakukan sebanyak tiga kali dengan menggunakan etanol 96%. Maserat yang diperoleh dipekatkan pada tekanan rendah dengan suhu 45-50°C menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

A.2. Fraksinasi limbah ketapang

Fraksinasi terhadap ekstrak kental etanol dilakukan berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut organik. Ekstrak etanol (20 g) dilarutkan dalam pelarut etanol 70% sebanyak 50 ml, difraksinasi dengan pelarut etil asetat (50 ml) dengan menggunakan corong pisah sehingga diperoleh 2 fase, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi etanol. Hasil fraksinasi diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 45-50°C dan didapatkan fraksi etil asetat kental dan fraksi etanol kental limbah ketapang (Iwansyah *et al.*, 2017).

B. Uji aktivitas antioksidan

B.1. Pembuatan larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 50 ppm dilakukan dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol 96 % (Brand-Williams *et al.*, 1995).

B.2. Pembuatan larutan stok sampel

Larutan stok sampel 500 ppm dibuat dengan cara menimbang fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*) sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan etanol 96 % lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Variasi konsentrasi dibuat 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

B.3. Pembuatan larutan pembanding

Larutan pembanding dibuat 100 ppm dengan cara menimbang sebanyak 1 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

B.4. Pengukuran daya antioksidan blanko

Pengujian dilakukan dengan memipet 4 ml DPPH, divorteks dan diinkubasi suhu 37°C dalam ruangan gelap. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

B.5. Pengukuran daya antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang

Pengujian dilakukan dengan mengambil 0,5 ml larutan fraksi etil asetat dan fraksi etanol dari berbagai konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm dan 200 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH, divorteks dan diinkubasi suhu 37°C dalam ruangan gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

B.6. Pengukuran daya antioksidan pembanding kuersetin

Uji dilakukan dengan mengambil 0,5 ml kuersetin dari berbagai konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Masing-masing ditambahkan 3,5 ml DPPH, divorteks dan diinkubasi suhu 37°C dalam ruangan gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm (Brand-Williams *et al.*, 1995).

C. Analisis data

Aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*) dan antioksidan pembanding kuersetin dinyatakan dengan persen inhibisi, yang dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi fraksi etil asetat dan fraksi etanol ataupun antioksidan pembanding (kuersetin) dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a + bx$, digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*inhibitory concentration 50%*) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh dari IC_{50} . Nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel (fraksi maupun antioksidan pembanding kuersetin) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50 %.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Limbah ketapang yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ketapang yang sudah gugur sebanyak 4000 gram. Setelah limbah ketapang dikeringkan menghasilkan simplisia sebanyak 1000 gram dengan rendemen simplisia sebesar 25%. Serbuk limbah ketapang kemudian diayak dan hasil ayakan yang digunakan untuk ekstraksi sebanyak 600 gram, diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 1000 mL. Selama 6 jam pertama sampel sekali-kali diaduk, kemudian didiamkan selama 3 hari. Maserat dipisahkan dengan kertas saring. Proses penyarian dilakukan sebanyak tiga kali dengan menggunakan etanol 96%. Maserat yang diperoleh dipisahkan pada tekanan rendah dengan

suhu 45-50°C menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

Hasil rendemen ekstrak limbah ketapang dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96 adalah 36 gram (6 %). Hasil ini lebih rendah daripada penelitian sebelumnya dimana rendemen yang diperoleh menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol pada penelitian sebelumnya sebesar 15,64 % (Nuria *et al.*, 2014).

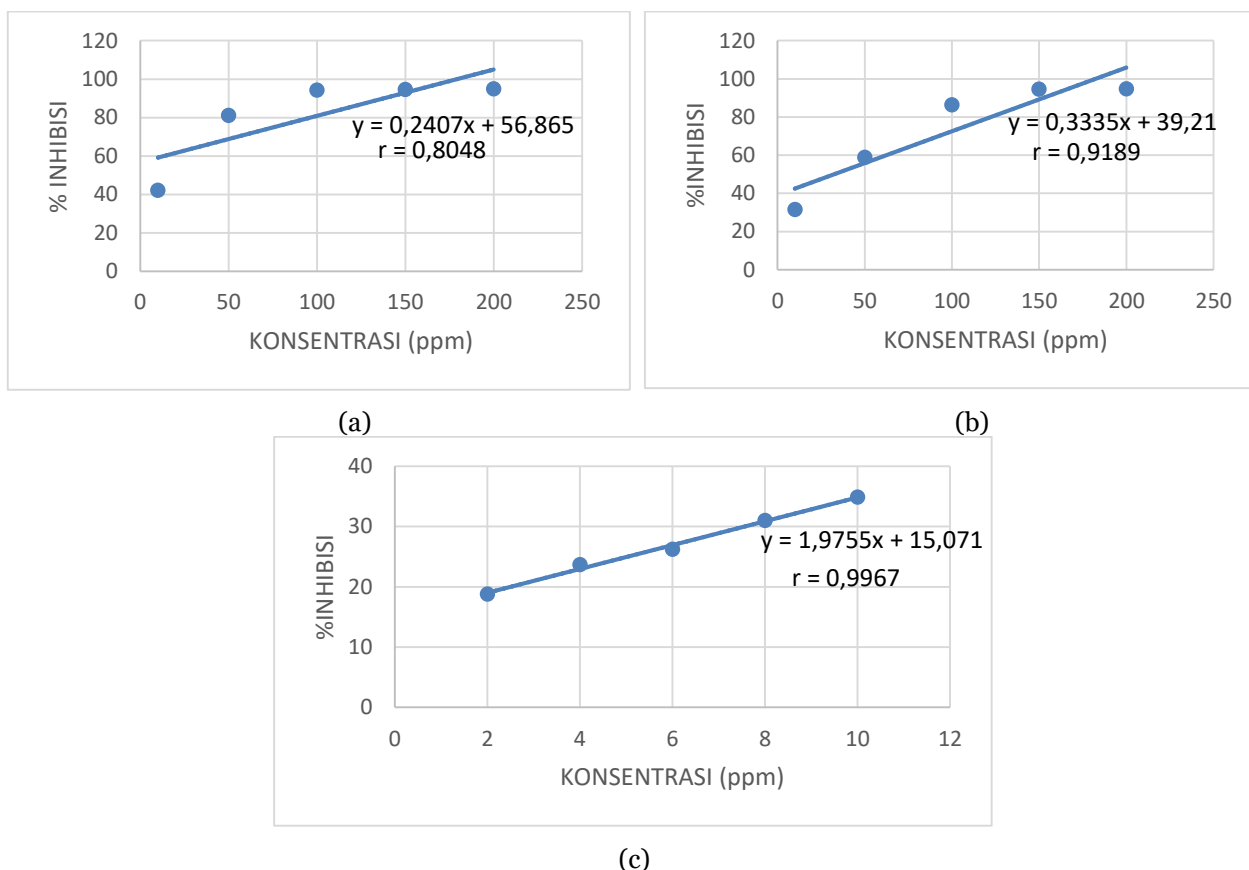
Uji DPPH fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*). Pengukuran absorbansi fraksi etil asetat dan fraksi etanol limbah ketapang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV Vis dengan panjang gelombang 517 nm dan volume yang diambil sebanyak 0,5 mL dan DPPH sebanyak 3,5 mL. Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 10, 50, 100, 150 dan 200 ppm sedangkan konsentrasi pembanding adalah 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah kuersetin. Suatu senyawa dinyatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 10$ ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 10-50 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 ppm, lemah apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-250 ppm dan tidak aktif apabila IC_{50} di atas 250 ppm (Phongpaichit *et al.*, 2007).

Fraksi etil asetat limbah ketapang (*Terminalia catappa*) tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} -28,521 ppm. Fraksi etanol limbah ketapang (*Terminalia catappa*) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} 32,53 ppm (IC_{50} 10-50 ppm). Pembanding kuersetin memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 17,68 ppm (IC_{50} 10-50 ppm). Senyawa antioksidan dapat bereaksi dengan radikal DPPH dengan mekanisme antioksidan mendonasikan atom hidrogen dan sehingga menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu ke kuning (Molyneux, 2004).

Uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat limbah ketapang mengandung flavonoid dan fenolik, sedangkan fraksi etanol limbah ketapang mengandung saponin dan alkaloid. Senyawa pada ketapang yang dapat memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang dapat menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga aktivitas antioksidan dapat dihasilkan dengan reaksi netralisasi radikal bebas atau menghentikan reaksi berantai (Handayani *et al.*, 2014). Senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas antioksidan adalah quinolon, kafein dapat berfungsi dengan meredakan radikal, hidroksi dan melatonin dapat berperan menjaga sel dari pengaruh toksisitas obat-obatan dan radiasi. Saponin mampu meredakan superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekular (Yuhernita & Juniarti, 2011).

Tabel 1. Hasil pengukuran persen inhibisi dan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat, fraksi etanol limbah ketapang dan pembanding kuersetin

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | % inhibisi | IC ₅₀ (ppm) |
|------------------------------------|-------------------|------------|------------------------|
| Fraksi etil asetat limbah ketapang | 10 | 42,13 | -28,521 |
| | 50 | 81,17 | |
| | 100 | 94,29 | |
| | 150 | 94,60 | |
| | 200 | 94,91 | |
| Fraksi etanol limbah ketapang | 10 | 31,52 | 32,53 |
| | 50 | 58,86 | |
| | 100 | 86,38 | |
| | 150 | 94,55 | |
| | 200 | 94,81 | |
| Kuersetin | 2 | 18,79 | 17,68 |
| | 4 | 23,68 | |
| | 6 | 26,25 | |
| | 8 | 31,01 | |
| | 10 | 34,87 | |



Gambar 1. Grafik konsentrasi terhadap % inhibisi (a) fraksi etil asetat limbah ketapang (b) fraksi etanol limbah ketapang (c) pembanding kuersetin

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat limbah ketapang tidak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ -28,521 ppm. Fraksi etanol limbah ketapang dan kuersetin memiliki antioksidan kuat dengan masing-masing nilai IC₅₀

32,53 ppm dan 17,68 ppm.

ACKNOWLEDGEMENT

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Kemenriskek BRIN atas Dana Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun Anggaran 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Mun'im, A., & Elya, B. 2012. Study of antioxidant activity with reduction of DPPH radical and xanthine oxidase inhibitor of the extract of *Ruellia tuberosa* LINN Leaf, *International Research Journal of Pharmacy*. 3: 66–70.
- Amalraj, A., & Gopi, S. 2017. Medicinal properties of *Terminalia arjuna* (Roxb.) Wight & Arn.: a review, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 7(1):65-78.
- Anand, A.V., Divya, N., & Kotti, P.P. 2015. An updated review of *Terminalia catappa*, *Pharmacognosy Reviews*. 9(18): 93–98.
- Astuti, S. 2012. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas, *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*. 13(2): 126–136.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, In *LWT - Food Science and Technology*. 28(1): 25 - 30.
- Coulibaly, K., Zirih, G. N., Guessenn-Kouadio, N., Oussou, K. R., & Dosso, M. 2014. Antibacterial properties studies of trunk barks of *Terminalia ivorensis*, a commercial and medicinal species on some methicillin-resistant *Staphylococci* species strains, *African Health Sciences*. 14(3): 753-756.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., Sudir, M. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Sm) menggunakan metode DPPH, *Pharmaceutical Sciences and Research*. 1(2): 86-93.
- Iwansyah, A.C., Damanik, M.R.M., Kustiyah, L., & Hanafi, M. 2017. Potensi fraksi etil asetat daun torbangun (*Coleus amboinicus* L.) dalam meningkatkan produksi susu, bobot badan tikus, dan anak tikus, *Jurnal Gizi Dan Pangan*. 12(1): 61-68.
- Katiki, L.M., Gomes, A.C.P., Barbieri, A.M.E., Pacheco, P.A., Rodrigues, L., Verissimo, C.J., Gutmanis, G., Piza, A.M., Louvandini, H., & Ferreira, J.F.S. 2017. *Terminalia catappa*: chemical composition, in vitro and in vivo effects on *Haemonchus contortus*, *Veterinary Parasitology*. 246: 118–123.
- Kinoshita, S., Inoue, Y., Nakama, S., Ichiba, T., & Aniya, Y. 2007. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, *Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin, *Phytomedicine*. 14(11): 755-762.
- Machado-Gonçalves, L., Tavares-Santos, A., Santos-Costa, F., Soares-Diniz, R., Câmara-de Carvalho-Galvão, L., Martins-de Sousa, E., & Beninni-Paschoal, M.A. 2018. Effects of *Terminalia catappa* Linn. extract on *Candida albicans* biofilms developed on denture acrylic resin discs, *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 10(7): 642-647.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211-219.
- Sari, N.P.K., Ritmaleni, & Sardjiman. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Tetrahidroheksagamavunon-5 (Thhg-5) ISBN-e: 978-602-73159-0-7. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VII*. Surakarta, 18 April 2015.
- Nuria, M.C., Chabibah, Z., Banu, S., & Fithria, R.F. 2014. Penelusuran potensi fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak metanol daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai antidiare, *e-Publikasi Ilmiah Fakultas Farmasi Unwahas Semarang*, DOI: [10.31942/jiffk.voio.1219](https://doi.org/10.31942/jiffk.voio.1219).
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., & Kirtikara, K. 2007. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 51(3): 517-525.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. 2015. Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami, *Al-Kimiya*, 2(1): 1-8.
- Yuhernita, & Juniarti. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan, *MAKARA of Science Series*. 15(1): 48–52.
- Yuslianti, E. R. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish, Yogyakarta.