

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI UMBI BAWANG DAYAK
(*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-
2-pikrilhidrazil)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FRACTIONS DAYAK ONION BULBS
(*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) BY DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)
METHOD**

¹Oktariani Pramiastuti*, ²Devi Ika Kurnianingtyas Solikhati, ³Aprilia Suryani

¹Prodi S1 Farmasi STIKes Bhakti Mandala Husada Slawi

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 22 Jun
2020

Accepted: 7 Mei 2021

Publish Online: 10
Mei 2021

Kata Kunci:

Bawang dayak,
infusa, KLT, IC₅₀

Keywords:

Dayak onion,
infusion, TLC, IC₅₀

Abstrak

Latar Belakang: Bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) merupakan salah satu jenis tanaman yang berkhasiat bagi kesehatan. Umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, dan steroid/triterpenoid. Kandungan metabolit sekunder tersebut diyakini memiliki aktivitas antioksidan atau anti radikal bebas. **Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi-fraksi umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). **Metode:** Umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) diekstraksi dengan cara panas yaitu metode infundasi kemudian difraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran dengan pelarut air, etil asetat, dan n-heksan. Penetapan aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) diukur serapannya pada panjang gelombang 516,5 nm. Konsentrasi sampel yang digunakan yaitu 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, dan 90 ppm. **Hasil:** pengukuran aktivitas antioksidan fraksi-fraksi umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) masing-masing menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik dengan nilai IC₅₀ (*inhibition concentration*) dari fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan secara berturut-turut yaitu 96,24±3,754 ppm; 26,98±0,507 ppm; dan 10,7±0,681 ppm.

Abstract

Background: Dayak onion (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) is one of type of plants that is beneficial for health. Dayak onion bulbs (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) are known to contain secondary metabolites of flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, phenolics, and steroids/triterpenoids. The content of secondary metabolites is believed to have antioxidant activity or anti-free radicals. **Aim:** To determine the antioxidant activity of Dayak onion tubers (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) fractions by DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). **Method:** Dayak onion bulbs (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) were extracted by infundation method and then fractioned based on the level of polarity with solvents of water, ethyl acetate, and n-hexane. Determination of antioxidant activity with DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) method and measured its absorption at a wavelength of 516.5 nm. The sample concentrations used were 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, and 90 ppm. **Result:** The results of antioxidant activity of fractions of dayak onion bulbs (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) showed good antioxidant activity respectively with IC₅₀ value (*inhibition concentration*) from water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction respectively 96.24±3.754 ppm, 26.98±0.507 ppm, and 10.7±0.681 ppm.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan faktor penyebab terjadinya berbagai macam penyakit dalam tubuh manusia. Kerusakan pada sel dan jaringan yang merupakan akar dari sebagian besar penyakit disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas dalam tubuh manusia sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Pramiastuti 2016). Sistem antioksidan didalam tubuh manusia memiliki keterbatasan, sementara pembentukan radikal bebas berlangsung terus- menerus, sehingga tubuh memerlukan asupan antioksidan yang berasal dari luar (Soares 2009). Penggunaan antioksidan sintetik dikhawatirkan dapat memberi efek samping yang berbahaya bagi kesehatan manusia karena bersifat karsinogenik. Salah satu alternatif antioksidan alami adalah tanaman bawang dayak. Umbi bawang dayak mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, steroid, dan triterpenoid (Setiawan and Febriyanti 2017).

Saat ini penggunaan tanaman sebagai alternatif pengobatan di masyarakat semakin meningkat, namun penggunaan produk-produk bahan alam umumnya masih menggunakan cara tradisional. Secara empiris khasiat tanaman bawang dayak diantaranya sebagai antikanker payudara, antidiabetes melitus, antihipertensi, menurunkan kolesterol, mencegah penyakit jantung, *stroke*, dan pengobatan kista (Nur 2011). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar yang menerima elektron atau hidrogen, dan membentuk molekul yang stabil. Adanya serapan warna violet pada panjang gelombang 517 nm ditimbulkan oleh delokalisasi elektron. Ketika seluruh DPPH telah berikatan dengan senyawa antioksidan dalam ekstrak yang dapat memberikan atom hidrogen, maka larutan akan kehilangan warna ungu dan berubah menjadi warna kuning terang (Alam, Bristi, and Rafiquzzaman 2013).

Fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair merupakan teknik pemisahan yang sering digunakan karena memiliki karakteristik yang sesuai dengan zat yang akan dipisahkan. Pemilihan pelarut dalam teknik pemisahan secara fraksinasi dimaksudkan agar senyawa- senyawa tersebut dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya (Setiawan and Febriyanti 2017). Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan penting dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan infusa dan fraksi umbi bawang dayak dengan metode DPPH, penelitian ini belum pernah dilakukan sehingga perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah amoniak, H₂SO₄ 2M, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, HCl 2M, Magnesium, HCl 1N, FeCl₃ 10%, H₂SO₄ 1N, pereaksi Liebermann-Buchard, asam asetat, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, kloroform, serbuk DPPH, akuades, asam formiat, n-butanol dan metanol.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer *UV-Vis* mini 1240 (Shimadzu), panci infundasi, termometer laboratorium, kompor listrik, neraca analitik ketelitian 0,1 mg (Mettler Toledo), corong pisah, eksikator, tabung reaksi (pyrex), labu ukur 100 mL (pyrex), *moisture analyzer*, labu ukur 10 mL (pyrex), cawan porselen, pipet ukur, batang pengaduk, pipa kapiler, kain flanel, kertas saring, krus dan *furnace*, bejana kromatografi (*chamber*), oven YNC-OV Yenaco, lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm, dan *silica gel* 60 F₂₅₄.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel umbi bawang dayak diambil di desa Harjosari Lor, Kecamatan Adiwerna, Kabupaten Tegal kemudian determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Prodi S1 Farmasi STIKes Bhakti Mandala Husada Slawi. Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian.

Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n- heksan, etil asetat,

dan air. Infusa kental umbi bawang dayak diambil sebanyak 10 g dan dilarutkan dalam 100 mL air yang selanjutnya akan dilakukan pemisahan menggunakan corong pisah dengan pelarut yang tidak saling campur satu sama lain yaitu dengan n-heksan kemudian dilanjutkan dengan etil asetat perbandingan ekstrak cair : pelarut = 1 : 1 (Setiawan and Febriyanti 2017).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Fase gerak yang digunakan etil asetat : asam formiat : air (10:2:3) dideteksi dengan penampak noda menggunakan uap amoniak, fase diam yang digunakan *silica gel* F₂₅₄. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya noda berwarna kuning yang cepat memudar (Wigati and Rahardian 2018).

2. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Fase gerak yang digunakan kloroform : etil asetat (70:30) dideteksi dengan penampak noda menggunakan pereaksi *Dragendorff*, fase diam yang digunakan *silica gel* F₂₅₄. Hasil positif ditunjukkan terbentuknya noda berwarna jingga (Wigati and Rahardian 2018).

3. Identifikasi Senyawa Tanin

Fase gerak yang digunakan n-butanol : asam asetat : air (3:1:1) dideteksi dengan penampak noda menggunakan pereaksi FeCl₃, fase diam yang digunakan *silica gel* F₂₅₄. Hasil positif menghasilkan noda berwarna biru kehitaman (Wigati and Rahardian 2018).

4. Identifikasi Senyawa Saponin

Fase gerak yang digunakan kloroform : metanol : air (64:50:10) fase diam yang digunakan *silica gel* F₂₅₄ (Wigati and Rahardian 2018).

5. Identifikasi Senyawa Fenolik

Fase gerak yang digunakan etil asetat : n-heksan (6:4) dideteksi dengan penampak noda menggunakan pereaksi FeCl₃, fase diam yang digunakan *silica gel* F₂₅₄. Hasil positif ditunjukkan terbentuk noda berwarna hijau, merah, ungu, biru kelabu, atau hitam (Putri and Haryoto 2018)

6. Identifikasi Senyawa Steroid/ Terpenoid

Fase gerak yang digunakan etil asetat : n-heksan (1:9) dideteksi dengan penampak bercak menggunakan pereaksi *Liebermann- Burchard*, fase diam yang digunakan *silica gel* F₂₅₄. Hasil positif ditunjukkan adanya noda berwarna hijau kebiruan pada UV 366 nm (Putri and Haryoto 2018).

Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,1 mM

Pembuatan larutan stok DPPH dilakukan dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 3,9 mg kemudian dimasukkan kedalam labu takar 100 mL dilarutkan dengan etanol 96 % sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1mM (Hidayati et al. 2017).

2. Penentuan Panjang Gelombang Larutan DPPH 0,1 mM

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimal dilakukan dengan cara mengukur 4 mL larutan DPPH 0,1 mM pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 400-600 nm untuk mendapatkan absorbansi $\pm 0,2-0,8$ (Nugraheni 2007).

3. Penentuan *Operating Time*

Sampel sebanyak 1 mL ditambah dengan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan selama 1 menit menggunakan *vortex* dan diukur absorbansinya tiap 5 menit selama 1 jam. Dimulai dari menit ke-0 sampai menit 60 pada λ maksimal yang diperoleh. Waktu peredaman radikal DPPH yang menghasilkan absorbansi paling stabil merupakan *operating time* (Hidayati et al. 2017).

4. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji

Sebanyak masing-masing 10 mg fraksi- fraksi umbi bawang dayak dilarutkan dalam 10 mL etanol 96 % sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Setiap sampel dibuat pengenceran dengan konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, dan 90 ppm (Setiawan and Febriyanti 2017).

5. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 3 mL larutan DPPH 0,1 mM dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambah 1 mL larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Selanjutnya dihomogenkan selama 1 menit menggunakan *vortex* dan didiamkan selama *operating time* yang didapatkan masing- masing sampel uji. Setelah itu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang

maksimal DPPH 0,1 mM yang sudah diperoleh. Sebagai kontrol digunakan larutan DPPH 0,1 mM tanpa penambahan larutan uji (Molyneux 2004).

HASIL PENELITIAN

1. Hasil Fraksinasi

Hasil fraksi n-heksan merupakan larutan berwarna kuning 0,08 g dengan nilai rendemen 0,8 %. Fraksi etil asetat yang diperoleh berwarna merah jingga kemudian diuapkan sampai terbentuk fraksi etil asetat pekat seberat 0,33 g dengan nilai rendemen 3,3 %. Fraksi air yang tersisa mengandung senyawa polar dengan warna larutan coklat pekat, kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan. Didapatkan hasil fraksi air pekat seberat 5,36 g dengan nilai rendemen 53,6 %.

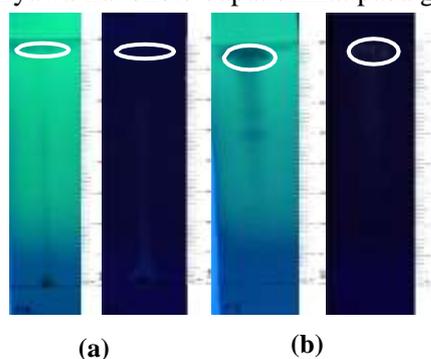
2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil identifikasi metabolit sekunder pada fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan umbi bawang dayak dengan metode kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder pada Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi N-Heksan dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa	Rf (cm)			Literatur
	Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan	
Flavonoid	0,93	0,93	-	0,94 (Wigati and Rahardian 2018)
Alkaloid	-	0,93	0,93	0,94 (Wigati and Rahardian 2018)
Tanin	0,92	0,92	0,93	0,93 (Wigati and Rahardian 2018)
Saponin	0,81	-	-	0,86 (Wigati and Rahardian 2018)
Fenolik	-	0,83	-	0,87 (Putri and Haryoto 2018)
Steroid/ Terpenoid	-	0,77	0,77	0,77 (Putri and Haryoto 2018)

Hasil kromatogram identifikasi senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil KLT senyawa flavonoid menggunakan plat *silica gel* F254 dengan fase gerak yang digunakan etil asetat : asam formiat : air (10:2:3) dideteksi dengan penampak noda menggunakan uap amoniak

Keterangan Gambar :

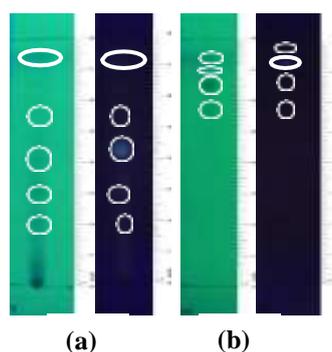
a) Fraksi Air

Dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 366 nm terdapat noda dengan nilai Rf 0,93 yang merupakan senyawa Flavonoid

b) Fraksi Etil Asetat

Dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 366 nm terdapat noda dengan nilai Rf 0,93 yang merupakan senyawa Flavonoid

Hasil kromatogram identifikasi senyawa alkaloid dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil KLT senyawa alkaloid menggunakan plat *silica gel* F²⁵⁴ dengan fase gerak yang digunakan kloroform : etil asetat (70:30) dideteksi dengan penampak noda menggunakan pereaksi Dragendorff

Keterangan Gambar:

a) Fraksi Etil Asetat

Dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 366 nm terdapat bercak dengan nilai Rf :

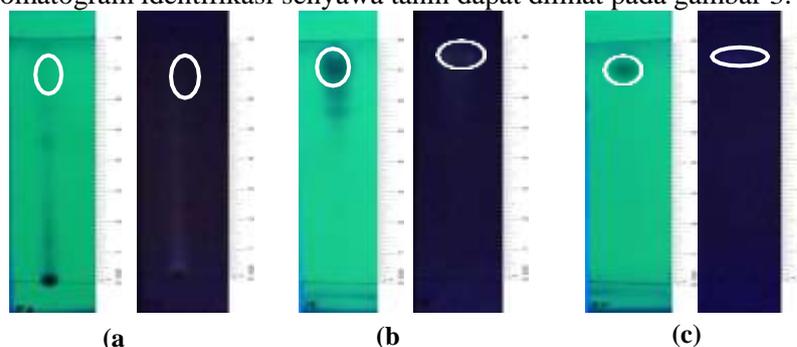
- Noda 1 = Rf 0,25
- Noda 2 = Rf 0,37
- Noda 3 = Rf 0,52
- Noda 4 = Rf 0,62
- Noda 5 = Rf 0,93 (atas) merupakan senyawa alkaloid

b) Fraksi N-Heksan

Dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 366 nm terdapat bercak dengan nilai Rf :

- Noda 1 = Rf 0,72 (bawah)
- Noda 2 = Rf 0,81
- Noda 3 = Rf 0,87
- Noda 4 = Rf 0,93 (atas) merupakan senyawa alkaloid

Hasil kromatogram identifikasi senyawa tanin dapat dilihat pada gambar 3.

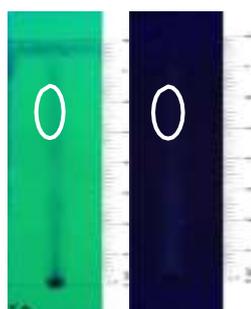


Gambar 3. Hasil KLT senyawa tanin menggunakan plat *silica gel* F₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan n-butanol : asam asetat : air (3:1:1) dideteksi dengan penampak noda menggunakan pereaksi FeCl₃

Keterangan Gambar:

- a) **Fraksi Air** = Rf 0,92 merupakan senyawa tanin
- b) **Fraksi Etil Asetat** = Rf 0,92 merupakan senyawa tanin
- c) **Fraksi N-Heksan** = Rf 0,93 merupakan senyawa tanin

Hasil kromatogram identifikasi senyawa saponin dapat dilihat pada gambar 4.

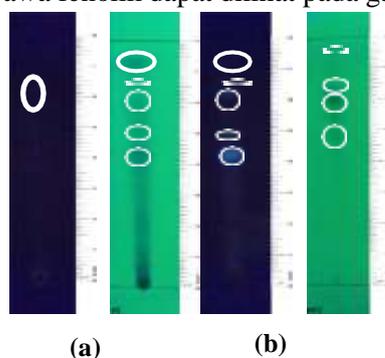


Gambar 4. Hasil KLT senyawa saponin menggunakan plat *silica gel* F₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan kloroform : metanol : air (64:50:10)

Keterangan gambar :

Fraksi Air = Rf 0,81 merupakan senyawa saponin

Hasil kromatogram identifikasi senyawa fenolik dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil KLT senyawa fenolik menggunakan plat *silica gel* F₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan etil asetat : n-heksan (6:4) dideteksi dengan penampak noda menggunakan pereaksi FeCl₃

Keterangan Gambar:

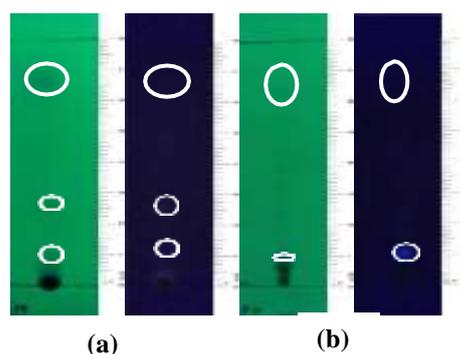
a) Fraksi Etil Asetat

- Noda 1 = Rf 0,53 (bawah)
- Noda 2 = Rf 0,62
- Noda 3 = Rf 0,75
- Noda 4 = 0,83
- Noda 5 = Rf 0,93 (atas) merupakan senyawa fenolik

b) Fraksi N-Heksan

- Noda 1 = Rf 0,56 (bawah)
- Noda 2 = Rf 0,75
- Noda 3 = Rf 0,83
- Noda 4 = Rf 0,93 (atas) merupakan senyawa fenolik

Hasil kromatogram identifikasi senyawa steroid/triterpenoid dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil KLT senyawa steroid/ triterpenoid menggunakan fase diam plat *silica gel* F₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan etil asetat : n-heksan (1:9) dideteksi dengan penampak bercak menggunakan pereaksi *Liebermann- Burchard*

Keterangan Gambar:

a) Fraksi Etil Asetat

- Noda 1 = Rf 0,1 (bawah)
- Noda 2 = Rf 0,33
- Noda 3 = Rf 0,77 (atas) merupakan senyawa steroid/triterpenoid

b) Fraksi N-Heksan

- Noda 1 = Rf 0,1 (bawah)
- Noda 2 = Rf 0,77 (atas) merupakan senyawa steroid/triterpenoid

3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi N-Heksan

Replikasi	Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi N-Heksan
1	92,82 ppm	27,23 ppm	11,43 ppm
2	95,66 ppm	26,40 ppm	10,59 ppm
3	100,26 ppm	27,32 ppm	10,08 ppm
Rata-rata	96,24 ppm	26,98 ppm	10,7 ppm
SD	3,754	0,507	0,681
Kategori	Kuat	Sangat Kuat	Sangat Kuat

PEMBAHASAN

Umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) yang digunakan adalah umbi yang berumur 3 bulan atau yang sudah mengeluarkan bunga, umbi berbentuk bulat telur memanjang, dan berwarna merah dengan panjang \pm 5 cm. Pemilihan bahan uji pada kondisi tersebut karena produksi metabolit sekunder diharapkan sudah maksimal dengan kadar yang seragam (Puspawati, Adirestuti, and Menawati 2013). Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa bawang dayak yang ditanam di tempat terbuka menunjukkan peningkatan kandungan metabolit sekunder (bioaktif) pada umbi berumur 12 minggu. Semakin banyak metabolit sekunder yang dikandung maka akan semakin kuat aktivitas antioksidannya (Kuntorini 2013).

Metode fraksinasi yang digunakan yaitu metode partisi cair-cair dengan tujuan untuk memisahkan zat aktif berdasarkan tingkat polaritasnya, sehingga senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar, senyawa yang bersifat semipolar akan tertarik dalam pelarut semipolar, begitu pula pada senyawa nonpolar akan tertarik ke pelarut nonpolar (Harborne 1987). Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi

adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi (D. Pratiwi, Wahdaningsih, and Isnindar 2013).

Identifikasi flavonoid menggunakan uap amoniak menunjukkan hasil positif yaitu adanya noda berwarna kuning yang cepat memudar. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh noda pada fraksi air, dan fraksi etil asetat, sedangkan pada fraksi n-heksan tidak terdeteksi. Penelitian yang dilakukan Wigati dan Rahardian (2018) menunjukkan bahwa identifikasi senyawa flavonoid yang dilakukan memperoleh nilai Rf 0,94 hal ini sesuai dengan bercak yang diperoleh pada identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid fraksi air, dan fraksi etil asetat. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 1.

Pada identifikasi senyawa alkaloid, plat silika gel disemprot dengan pereaksi *Dragendorff* hasil positif ditandai dengan terbentuknya noda berwarna jingga (Wigati and Rahardian 2018). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil kromatogram fraksi etil asetat diperoleh 5 noda dengan nilai Rf 0,93 (atas); 0,62; 0,52; 0,37; dan 0,25 (bawah), diduga noda yang identik senyawa alkaloid berada pada noda kelima (atas) dengan nilai Rf 0,93. Pada kromatogram fraksi n-heksan diperoleh 4 noda dengan nilai Rf 0,93 (atas); 0,87; 0,81; dan 0,72 (bawah), diduga noda yang identik senyawa alkaloid berada pada noda keempat dengan nilai Rf 0,93. Hasil yang diperoleh didukung penelitian Wigati dan Rahardian (2018) dengan perolehan nilai Rf 0,94 pada identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa alkaloid. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 2.

Tanin merupakan senyawa golongan fenolik dengan kerangka cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil (-OH). Identifikasi tannin menggunakan $FeCl_3$ sebagai penampak bercak kemudian dideteksi dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm, hasil positif pada plat KLT terdapat noda berwarna biru kehitaman yang berarti menunjukkan adanya reaksi antara $FeCl_3$ dengan gugus hidroksil pada senyawa tannin (Wigati and Rahardian 2018). Hasil pengamatan masing-masing sampel fraksi air memperoleh noda pada Rf 0,92, fraksi etil asetat dengan nilai Rf 0,92 dan fraksi n-heksan pada nilai Rf 0,93. Diduga pada Rf tersebut adalah senyawa tanin karena noda berwarna biru kehitaman setelah disemprot dengan $FeCl_3$ yang disebabkan adanya reaksi dengan gugus hidroksil pada senyawa tanin. Hasil yang diperoleh didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Wigati dan Rahardian (2018) yang memperoleh nilai Rf 0,93 sehingga dapat disimpulkan bahwa, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) mengandung senyawa tanin. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 3.

Identifikasi senyawa saponin dideteksi dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm nampak noda berwarna biru. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh pada fraksi air diperoleh nilai Rf 0,81 sedangkan pada fraksi etil asetat diperoleh nilai Rf 0,93 dan fraksi n-heksan dengan nilai Rf 0,9. Nilai Rf pada fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan melebihi nilai Rf penelitian yang dilakukan oleh Wigati dan Rahardian (2018) pada identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa saponin yaitu 0,86. Pada fraksi air dapat dinyatakan mengandung senyawa saponin karena nilai Rf fraksi air identik dengan nilai Rf yang diperoleh pada penelitian Wigati dan Rahardian (2018). Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 4.

Identifikasi senyawa golongan fenolik diperoleh noda pada plat KLT yang terpisah dengan cukup baik ditandai dengan nilai Rf pada kromatogram fraksi etil asetat diperoleh sebanyak 5 noda dengan nilai Rf 0,93 (atas); 0,83; 0,75; 0,62 dan 0,53 (bawah). Nilai Rf yang identik dengan senyawa fenolik pada fraksi etil asetat berada pada noda kelima dengan nilai Rf 0,93. Pada kromatogram fraksi n-heksan diperoleh 4 noda dengan nilai Rf 0,93 (atas); 0,83; 0,75; dan 0,56 (bawah). Nilai Rf yang identik dengan senyawa fenolik pada fraksi n-heksan berada pada noda ketiga dengan nilai Rf 0,83. Semua noda yang terdeteksi berwarna biru dibawah lampu UV 366 nm. Hasil positif pada plat KLT terdapat noda berwarna biru kehitaman yang berarti menunjukkan adanya reaksi antara $FeCl_3$ dengan gugus hidroksil pada senyawa golongan fenol (Ariyani, 2008 didalam Wigati & Rahardian, 2018). Diduga nilai Rf yang identik tersebut

senyawa fenolik, hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Putri dan Haryoto (2018) yang menyatakan nilai Rf pada identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa fenolik sebesar 0,87 sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan mengandung senyawa fenolik. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 5.

Identifikasi senyawa steroid/triterpenoid pada fraksi etil asetat terdeteksi 3 noda dengan nilai Rf 0,77 (atas); 0,33; dan 0,1 (bawah). Hasil kromatogram fraksi n-heksan terdapat 2 noda dengan nilai Rf 0,77 dan 0,1. Nilai Rf yang identik dengan senyawa steroid/triterpenoid berada pada noda dengan nilai Rf 0,77. Noda yang identik diduga senyawa steroid/triterpenoid, hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Putri dan Haryoto (2018) yang mendapatkan nilai Rf 0,77. Hasil kromatogram dapat dilihat pada gambar 6.

Pemilihan metode DPPH untuk penentuan aktivitas antioksidan didasarkan pada keunggulannya seperti mudah, cepat, sederhana, reproduibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Isnindar, Wahyuono, and Setyowati 2011). Dalam penelitian uji aktivitas antioksidan infusa umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimal DPPH terlebih dahulu. Penentuan panjang gelombang maksimal bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang mempunyai serapan maksimal, yaitu saat senyawa berwarna yang terbentuk telah optimal sehingga diperoleh kepekaan yang maksimal (Rastuti and Purwati 2012). Hasil pengukuran absorbansi pada larutan DPPH 0,1 mM adalah sesuai dengan range absorbansi yaitu $\pm 0,2 - 0,8$ (Nugraheni 2007). Panjang gelombang maksimal yang didapatkan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nadhira et al (2018) yaitu 516,5 nm.

Penentuan *operating time* (OT) digunakan untuk menentukan waktu yang paling tepat larutan uji dalam meredam radikal DPPH, *operating time* ini menunjukkan bahwa reaksi antara larutan uji dan DPPH telah stabil yang dapat ditunjukkan dengan tidak terjadinya penurunan absorbansi. Pengukuran *operating time* yang sesuai akan diperoleh keterulangan yang tinggi. Hal ini disebabkan karena pada awal reaksi, absorbansi pada senyawa yang berwarna ini akan meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Gandjar and Rohman 2007). Pada penentuan *operating time* dilakukan pengamatan 5 menit dalam interval waktu 60 menit. Hasil penentuan *operating time* pada fraksi air adalah menit ke 25 dan menit ke 30 sehingga diperoleh *operating time* selama 27 menit 30 detik. Pada fraksi etil asetat *operating time* terjadi pada menit ke 5, menit ke 10, dan menit ke 15 sehingga diperoleh *operating time* selama 10 menit. Sedangkan pada fraksi n-heksan *operating time* terjadi pada menit ke 5 dan menit ke 10 sehingga diperoleh *operating time* selama 7 menit 30 detik.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada seri konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, dan 90 ppm dengan tiga kali replikasi. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui absorbansi DPPH yang tersisa setelah ditambahkan sampel (Setiawan and Febriyanti 2017). Penurunan absorbansi diukur terhadap absorbansi kontrol yaitu absorbansi DPPH dalam etanol 96% tanpa penambahan sampel uji, nilai absorbansi kontrol yang diperoleh yaitu 0,583. Penurunan absorbansi DPPH ditunjukkan dengan terjadinya degradasi warna DPPH dari ungu menjadi kuning pucat (Kuntorini and Astuti 2010).

Proses degradasi warna DPPH berbanding lurus dengan konsentrasi sampel yang ditambahkan, dari nilai absorbansi DPPH yang diperoleh dapat ditentukan persen penghambatan terhadap radikal DPPH (% inhibisi). Persentase penghambatan ini diperoleh dari perbedaan nilai absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel yang diuji pada panjang gelombang maksimal. Selanjutnya persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi radikal

DPPH sebesar 50 %. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Setiawan and Febriyanti 2017).

Penentuan nilai IC_{50} dari infusa, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dilakukan dengan cara memasukkan nilai hasil perhitungan ke dalam persamaan regresi linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis (x) dan nilai % inhibisi sebagai ordinat (y). Nilai IC_{50} diperoleh dari nilai x setelah mengganti $y = 50$ pada $y = a + bx$. Berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, dinyatakan kuat 50 – 100 ppm, dinyatakan sedang jika nilai IC_{50} 101 – 250 ppm, dinyatakan lemah 250 – 500 ppm, dan dinyatakan tidak aktif jika nilai $IC_{50} > 500$ ppm (Wahyu 2014).

Berdasarkan tabel 2. di atas dapat disimpulkan bahwa tingkat intensitas aktivitas antioksidan yang diperoleh sampel fraksi air tergolong kuat dengan rata-rata nilai $IC_{50} > 50$ ppm yaitu rata-rata nilai IC_{50} 96,24 ppm pada fraksi air. Sedangkan intensitas aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan tergolong sangat kuat karena rata-rata nilai $IC_{50} < 50$ ppm yaitu 26,98 ppm pada fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan memiliki nilai rata-rata IC_{50} 10,7 ppm (Armala 2009).

Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS dan diuji Kruskal-Wallis diperoleh nilai signifikansi sebesar $0,016 < 0,05$ dan Mann-Whitney diperoleh nilai signifikansi $\leq 0,05$ yang berarti ada perbedaan signifikan nilai IC_{50} dari fraksi-fraksi umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb).

Diduga bahwa golongan senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan fraksi air adalah senyawa tanin, dan flavonoid. Senyawa yang diduga memberikan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat adalah golongan senyawa alkaloid, fenolik, tanin, dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion Hidrogen. Ion Hidrogen hanya memiliki satu buah proton dan tidak memiliki elektron, sehingga dalam elektron radikal yang terdapat pada atom nitrogen di senyawa DPPH berikatan dengan ion hidrogen dan menghasilkan DPPH tereduksi (Gurav et al. 2007). Radikal pada DPPH dapat tereduksi ketika bereaksi dengan donor hidrogen yang terdapat dalam senyawa fenolik (Arazo et al. 2011).

Pada fraksi n-heksan diduga senyawa yang memberikan aktivitas antioksidan adalah tanin, steroid/triterpenoid dan alkaloid dengan mekanisme antioksidan sekunder yaitu sebagai penangkap radikal bebas. Alkaloid juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang kuat, salah satunya adalah alkaloid jenis quinolizidine (Maiza et al. 2007). Selain itu senyawa golongan steroid/triterpenoid dalam fraksi n-heksan diduga turut berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan. Mekanisme yang diperankan oleh steroid/triterpenoid sebagai penangkap radikal bebas (L. Pratiwi et al. 2016).

Perbedaan nilai IC_{50} dari 3 sampel uji yaitu fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan dikarenakan ada perbedaan polaritas pelarut yang digunakan. Berdasarkan hasil uji hipotesis yang telah dilakukan fraksi air memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat karena memiliki tingkat kepolaran yang lebih besar daripada pelarut etil asetat dan pelarut n-heksan. Sedangkan karakteristik senyawa yang terdapat pada umbi bawang dayak sebagian besar merupakan senyawa polar seperti fenolik dan flavonoid sehingga kelarutannya lebih besar pada infusa dan fraksi air, hal ini memungkinkan memberikan aktivitas antioksidan yang baik (Setiawan and Febriyanti 2017).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh Fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm dengan nilai IC_{50} berturut-turut 26,98 ppm dan 10,7 ppm, sedangkan fraksi air memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} 96,24 ppm karena nilai $IC_{50} > 50$ ppm. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan diduga dari kandungan

senyawa metabolit sekunder didalam infusa umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill) Urb.).

SARAN

Perlu dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode yang lain seperti metode Tiosianat, metode FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), ABTS (2,2-Azinobic 3-ethylbenzothiazoli-6-Sulfoniacid) terhadap infusa kental umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*) beserta fraksi-fraksinya. Dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi dan analisis instrumen untuk mengetahui struktur senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.

REFERENSI

- Alam, Md Nur, Nusrat Jahan Bristi, and Md Rafiquzzaman. 2013. "Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity." *Saudi Pharmaceutical Journal* 21(2): 143–52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.
- Arazo, Migdalia et al. 2011. "Antioxidant Properties of Pulp and Peel of Yellow Mangosteen Fruits." *Emirates Journal of Food and Agriculture* 23(6): 517–24.
- Armala, M.M. 2009. "Daya Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Herba Kenikir (*Cosmos Caudatus* H. B. K.) Dan Profil KLT." *Skripsi Universitas Islam Indonesia*: 39.
- Gandjar, Ibnu Gholib, and Abdul Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gurav, Shailendra S. et al. 2007. "Free Radical Scavenging Activity of Polygala Chinensis Linn." *Pharmacologyonline* 2: 245–53.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hidayati, Devi Nisa et al. 2017. "Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Jantung Pisang Mas (*Musa Acuminata* Colla) Menggunakan Meotode DPPH." *Journal of Pharmacy* 14(1): 9–14.
- Isnindar, Subagus Wahyuono, and Erna Prawita Setyowati. 2011. "Isolation and Identification of Antioxidant Compound of Persimmon Leaves (*Diospyros Kaki Thunb.*) Using DPPH (2,2 Diphenyl-1-Pikrilhidrazil) Method." *Majalah Obat Tradisional* 16(3): 161–69.
- Kuntorini, Evi Mintowati. 2013. "Kemampuan Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr) Pada Umur Berbeda." *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*: 297–302.
- Kuntorini, Evi Mintowati, and Maria Dewi Astuti. 2010. "Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.)." *Sains dan Terapan Kimia* 4(1): 15–22. <http://ppjp.unlam.ac.id/journal/index.php/jstk/article/download/2043/1790>.
- Maiza, B. F et al. 2007. "Antioxidant Activities Alkaloid Extract of Two Algerian Species of *Fumaria*." *Fumaria caapreolata and Fumaria bastardii* 1(2–3): 28–35.
- Molyneux, Philip. 2004. "The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity." *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 26(May): 211–19.
- Nadhira, Arina Nisyya et al. 2018. "Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* Dc .) Dan Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia* L .) Terhadap Aktivitas Antioksidannya." *Annual Pharmacy Conference.*: 103–7.
- Nugraheni. 2007. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sunchus Arvensis* L.) Serta Penentuan EC50 Dengan Metode*

DPPH (1,1-difenil-2-Pikrilhidrazil). Semarang.

- Nur, Alia Mustika. 2011. "Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) Dalam Bentuk Segar, Simplisia Dan Keripik, Pada Pelarut Nonpolar, Semipolar Dan Polar." *Institut Pertanian Bogor*: 1–109.
- Pramiastuti, Oktariani. 2016. *Isolasi Dan Identifikasi Pinostrobin Dan Pinocembrin Dari Rimpang Temu Kunci (*Bosenbergia Pandurata* (Roxb). (*Schlecht*) Serta Uji Aktivitas Antioksidannya*. Yogyakarta: Universitas Gadjahmada Press.
- Pratiwi, Dina, Sri Wahdaningsih, and Isnindar. 2013. "The Test of Antioxidant Activity From Bawang Mekah Leaves (*Eleutherine Americana* Merr.) Using Dpph (2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method." *Trad. Med. J* 18(January): 10–11.
- Pratiwi, Liza, Achmad Fudholi, Ronny Martien, and Suwidjiyo Pramono. 2016. "Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia Mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers." *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 1(2): 71.
- Puspawati, Ririn, Putranti Adirestuti, and Rizka Menawati. 2013. "Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr.) Sebagai Herbal Antimikroba Kulit." *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 1(1): 31–37.
- Putri, Erika Nur Anisa, and Haryoto. 2018. "Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D." *Publikasi Ilmiah* 4: 64–72.
- Rastuti, Undri, and Purwati Purwati. 2012. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kalba (*Albizia Falcataria*) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekundernya." *Molekul* 7(1): 33.
- Setiawan, Nur Candra Eka, and Aninda Febriyanti. 2017. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr Dengan Metode DPPH (The Antioxidant Activity Of Extract And Factions *Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr Bulbs By DPPH Method)." *Journal of Current Pharmaceutical Sciences* 1(1): 2598–2095.
- Soares, S. 2009. "Cigarette Smoking and Fertility." *Reproductive Biology Insights* 2(1): 39–46.
- Wahyu, I. 2014. *Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Mete (*Anacardium Occidentale* L.) Dengan Metode DPPH*. Surakarta: Akademi Farmasi Nasional.
- Wigati, Dyan, and Ryan Radix Rahardian. 2018. "Penetapan Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Hasil Perkolasi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.)Merr)." *JIFFK: Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik* 15(2): 36.