

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus* sp.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Red Jeringau Rhizome (*Acorus* sp.) by DPPH Method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Nera Umilia Purwanti^{1*}, Ressi Susanti²

¹Kelompok Bidang Ilmu Biologi Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

²Kelompok Bidang Farmakologi dan Farmasi Klinis, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

*Email korespondensi: nera.up@pharm.untan.ac.id

Abstrak

Rimpang jeringau merah (*Acorus* sp.) secara empiris digunakan oleh masyarakat Dayak untuk mengobati sejumlah penyakit seperti demam berdarah, penyakit kulit dan kolik. Sangat sedikit penelitian yang meneliti efektivitas penggunaan rimpang tanaman jeringau merah. Salah satu langkah untuk mengevaluasi efektivitas rimpang *Acorus* sp. adalah dengan melakukan studi aktivitas antioksidan rimpang tanaman. Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah metode penangkal radikal bebas DPPH (2,2 diphenyl1picrylhydrazyl) pada bagian air, bagian butanol, bagian heksana dan bagian etil asetat. Hasil penelitian diperoleh IC_{50} di dalam air adalah 31,189 ppm; fraksi butanol 13,631 ppm; fraksi heksana 28 ppm; dan bagian etil asetat adalah 8,585 ppm.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan, DPPH, Rimpang jeringau merah

Abstract

The red jeringau rhizome (*Acorus* sp.) is empirically used by the Dayak people to treat several diseases such as dengue fever, skin diseases and abdominal pain. There have not been many studies that examine the efficacy of the red jeringau rhizome. One of the steps to assess the efficacy of the red jeringau rhizome is to conduct research on the antioxidant activity of the plant rhizome. The method used to measure antioxidant activity was the DPPH free radical scavenging method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) in the water fraction, butanol fraction, n-hexane fraction and ethyl acetate fraction.

The results of the study obtained IC₅₀ in the water fraction of 31.189 ppm; butanol fraction of 13.631 ppm; n-hexane fraction of 28 ppm; and ethyl acetate fraction of 8.585 ppm.

Keywords: Antioxidant activity, DPPH, Red jeringau rhizome

Submitted: 14 Januari 2022

Accepted: 23 Februari 2022

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i1.1092>

1 Pendahuluan

Pemanfaatan tumbuhan obat tradisional di Indonesia telah lama dikenal masyarakat. Seperti diketahui, tanaman mengandung metabolit sekunder yang terdiri dari banyak senyawa dan merupakan hasil dari proses metabolisme. Metabolit sekunder tanaman berpotensi untuk mengalahkan berbagai penyakit, karena efek sinergis pada metabolit sekunder tanaman dapat memberikan efek komplementer dalam pengobatan berbagai penyakit. Selain itu, metabolit sekunder memiliki aktivitas serbaguna, yang membantu mengatasi berbagai penyakit [1].

Jeringau merah adalah tumbuhan yang hidup di tanah yang lembab. Rimpang pohon jeringau merah secara empiris digunakan oleh masyarakat Dayak untuk mengobati demam berdarah. Jeringau merah berkhasiat sebagai antiinfeksi, antiradang (radang), antitoksik, antipiretik, peluruh kencing, antilepra, antisifilis, antioksidan, memulihkan otak, neuroprotektif, dan hipertensi [2], penyakit kulit [3].

Kandungan kimia dalam rimpang tanaman jeringau merah berdasarkan proses penyaringan fitokimia telah dipelajari sebagai positif mengandung kelompok alkaloid, minyak atsiri, fenol, tanin, flavonoid dan saponin. Penapisan ini dilakukan pada ekstrak etanol rimpang tanaman jeringau merah. [4] Daun dan rimpang jeringau mengandung minyak atsiri, selain resin dan pati. Ada juga senyawa seskuiterpen seperti cadinene, kalomenone, cissaron, chrysophanol, Physcion, emodine atau (+) galbicine. Komponen utama daun dan rimpang jeringau adalah asaron [5][6] 7].

Penelitian telah dilakukan pada aktivitas rimpang jeringau merah. Salah satu langkah untuk mengetahui aktivitas rimpang *Acorus sp.* adalah dengan mengukur aktivitas antioksidan

rim pang tanaman. Aktivitas antioksidan diukur dengan mengukur scavenging radikal bebas menggunakan metode DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl).

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan standar laboratorium, alat-alat gelas (Pyrex Iwaki®), timbangan analitik (Ohaus®), oven, penangas air (Mettler®), perangkat buchner, vortex, mikropipet, pipet volume, instrumen spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu tipe MR 2500), desikator, chamber KLT, lampu UV 254 dan UV 366 .

Bahan penelitian yang digunakan adalah bagian rimpang tanaman rimpang jeringau merah rimpang jeringau merah, DPPH (Merck), n-heksan, diklorometana, etil asetat, butanol, aquades, metanol p.a. (JT Baker), vitamin C, larutan AlCl₃ (Merck), CH₃COONa (Merck), Na₂CO₃ (Merck), (Merck), FeCl₃ (Merck), asam galat (Merck), kuersetin (Merck), folin-ciocalteu (Merck), metanol teknis, plat kromatografi lapis tipis (silika gel GF 254).

2.2 Prosedur Kerja

2.2.1 Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 300 gram simplisia rimpang *Acorus sp.* yang baik dimasukkan ke dalam toples kaca. Setelah itu dilakukan proses perendaman dengan menggunakan 200 ml etanol teknis 96% dan diaduk rata agar semua simplisia terbasahi dengan pelarut, setelah 2 jam diperoleh maserat dengan menyaring simplisia dengan cara filtrasi, direndam dalam etanol dalam wadah maserat . Serbuk simplisia

kemudian dikembalikan ke penangas air untuk perlakuan ulang dengan pelarut etanol 96% yang baru. Perlakuan ulang dilakukan setiap 1 x 2 jam sampai hampir tidak berwarna. Maserat yang diperoleh disimpan dalam labu gelas untuk selanjutnya dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak pekat dan dihitung rendemennya.

2.2.2 Fraksinasi Sampel

Larutkan total 2 g ekstrak pekat dalam 10 ml air, kemudian larutan difraksinasi dengan menambahkan 50 ml heksana. Kocok dalam labu pemisah dan diamkan selama 10 – 15 menit sampai terbentuk dua lapisan (air di lapisan bawah dan heksana di lapisan atas). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Proses penambahan heksana pada lapisan bawah yang terpisah (air) diulang sebanyak dua kali. Lapisan atas (n-heksana) terbentuk dalam tiga segmen dan disebut sebagai fraksi heksana. Air sisa hasil fraksinasi heksana selanjutnya didifusikan dengan etil asetat dan dilanjutkan dengan n-butanol. Prosesnya mirip dengan fraksinasi dengan heksana sebagai pelarut. Lapisan etil asetat nantinya akan terbentuk menjadi tiga bagian yang digabungkan kembali dan disebut fraksi etil asetat, bersama dengan lapisan n-butanol sebagai fraksi n-butanol dan air yang tersisa disebut fraksi air [8].

2.2.3 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang jeringau merah ditentukan dengan metode DPPH. Beberapa variasi konsentrasi sampel dipipet kemudian ditambahkan 2 mL DPPH. Lanjutkan dengan mengaduk campuran dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar di tempat gelap. Absorbansi larutan ini kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum (λ_{max}) 0,1 mM DPPH dalam etanol menggunakan spektrofotometer UVVis. Pengukuran absorbansi juga dilakukan pada blanko dan larutan vitamin C serta pada sampel [9].

Hasil pengukuran absorbansi dianalisis persentase aktivitas antioksidan dengan rumus persamaan 1 [10].

$$\% \text{ peredaman} = \frac{(\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 1})$$

Data % hambatan dan konsentrasi larutan digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dengan persamaan regresi linier $y = a + bx$, y sebagai % hambat 50 dan x sebagai nilai IC_{50} .

3 Hasil dan Pembahasan

Rendemen rimpang *Acorus sp.* dapat dilihat pada Tabel 1. Rendemen yang dihasilkan memberikan gambaran tentang hasil ekstraksi yang diperoleh dari simplisia yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen, semakin besar rendemen ekstraksi atau fraksinasi. Nilai rendemen juga berhubungan dengan kanungan bioaktif rimpang *Acorus sp.* Senyawa bioaktif adalah senyawa yang terdapat dalam tubuh hewan dan tumbuhan [11].

Tabel 1. Rendemen Ekstrak dan Fraksi Rimpang Jeringau Merah

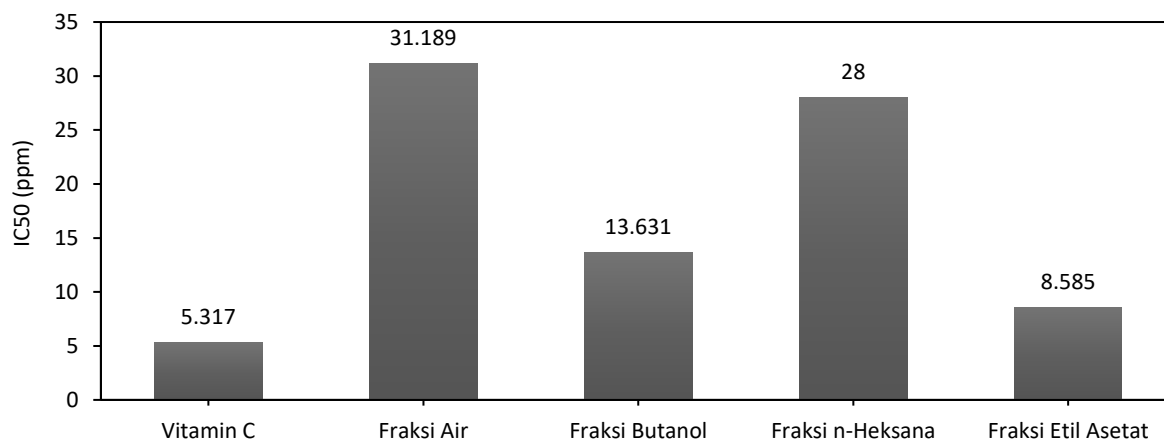
No	Ekstrak	Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Rendemen (%)
1	Simplisia daun	1751,8	531,18	30,32
2	Ekstrak etanol	300	33,87	11,29
3	Fraksi air	27,67	13,15	47,52
4	Fraksi butanol	27,67	5,8	20,96
5	Fraksi n-heksana	27,67	0,5	1,80
6	Fraksi etil asetat	27,67	0,75	2,71

Berdasarkan rendemen yang diperoleh selama fraksinasi, pada kelompok fraksi air diperoleh rendemen tertinggi dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan fraksinasi menggunakan pelarut butanol, heksana dan etil asetat. Perbedaan kepolaran pelarut ekstraksi dan fraksinasi yang digunakan juga akan mempengaruhi kandungan senyawa terlarut dalam ekstrak dan fraksi. Prinsip pemisahan dalam ekstraksi dan fraksinasi didasarkan pada perbedaan derajat polarisasi dan perbedaan berat jenis antara kedua fraksi [12].

Aktivitas antiosidan dari fraksi air, butanol, heksana dan etil asetat rimpang *Acorus sp.* diuji dengan metode DPPH (2,2-difenil pikrilhidrazil). DPPH merupakan senyawa radikal yang dapat digunakan sebagai reagen dalam uji reduksi radikal. Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan yang terdapat pada bagian yang diuji akan menghasilkan penurunan DPPH yang dapat dilihat dari ungu menjadi kuning pucat [13].

Tabel 2. Persen Inhibisi Vitamin C dan Fraksi Rimpang Jeringau Merah

No	Kelompok	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi			Rata-rata % Inhibisi
			Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
1	Vitamin C	1	33,276	33,124	27,559	31,319±3,25
		3	47,875	40,932	37,159	41,988±5,43
		5	52,571	50,016	45,104	49,230±3,79
		7	62,767	53,322	53,608	56,565±5,37
		9	69,708	64,028	61,011	64,915±4,41
2	Fraksi air	5	30,555	32,013	30,852	31,14±0,77
		15	39,405	40,752	38,817	39,658±0,99
		25	46,608	49,577	45,068	47,084±2,29
		35	49,779	55,066	53,049	52,631±2,66
		45	56,939	61,845	57,736	58,84±2,63
3	Fraksi butanol	5	40,372	35,973	40,357	38,90±2,53
		10	47,666	41,726	44,306	44,566±2,97
		15	52,904	52,991	55,124	53,673±1,25
		25	63,551	63,459	65,21	64,073±0,98
		30	71,148	66,447	70,26	69,285±2,49
4	Fraksi n-heksana	5	33,281	33,637	35,512	34,143±1,19
		10	36,746	36,272	39,086	36,588±0,27
		20	45,704	46,049	46,791	46,181±0,55
		40	57,723	59,638	57,215	58,192±1,27
		60	71,606	69,374	71,367	70,782±1,22
5	Fraksi etil asetat	1	30,239	28,518	29,482	29,413±0,86
		3	38,278	37,088	36,755	37,373±0,8
		6	44,127	46,919	41,078	44,041±2,92
		9	54,613	53,366	50,133	52,704±2,31
		12	59,224	65,333	56,749	60,435±4,41



Gambar 1. IC₅₀ Vitamin C dan Fraksi Rimpang jeringau Merah

Tabel 2 menunjukkan konsentrasi penghambatan vitamin C (sebagai perbandingan), bagian air, bagian etanol, bagian heksana dan bagian etil asetat. Konsentrasi penghambatan diukur pada panjang gelombang puncak DPPH (51 nm). Nilai IC₅₀ diperoleh dari nilai persentase hambatan dengan memasukkan persamaan kurva untuk mendapatkan nilai konsentrasi IC₅₀. Pada vitamin C dan fraksi etil asetat memiliki nilai konsentrasi yang rendah sehingga memberikan nilai absorbansi yang tinggi, dapat ditunjukkan

bahwa konsentrasi senyawa antioksidan dalam vitamin C dan fraksi etil asetat tinggi, sehingga untuk mereduksi radikal bebas pada pengujian sebesar 50% diperlukan nilai konsentrasi yang kecil.

Penggunaan vitamin C sebagai senyawa pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan sekunder dengan kemampuan yang berbeda untuk melawan radikal bebas ekstraseluler. Vitamin C memiliki banyak gugus hidroksi yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas, dan gugus polihidroksi ini dapat

meningkatkan aktivitas antioksidannya. Mekanisme donor protonnya kompatibel dengan metode DPPH, yang hanya dapat mengurangi aktivitas radikal bebas dengan menerima proton dari senyawa antioksidan [14].

Hasil perbandingan senyawa yaitu vitamin C dan bagian air, bagian butanol, bagian heksana dan bagian etil asetat menunjukkan bahwa nilai IC_{50} sangat tinggi, dimana nilai IC_{50} yang diperoleh kurang dari 50. ppm. Pada grafik di atas dapat dilihat bahwa vitamin C memiliki nilai IC_{50} lebih besar dari pada air, butanol, heksana dan etil asetat yaitu 5,317 ppm. Fraksi etil asetat memiliki IC_{50} sebesar 8,585 ppm, fraksi butanol memiliki IC_{50} sebesar 13,631 ppm, fraksi heksana memiliki IC_{50} sebesar 28 ppm dan fraksi air memiliki IC_{50} sebesar 31,189 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa bagian air, bagian butanol, bagian heksana dan bagian etil asetat rimpang jeringau merah memiliki daya penangkap radikal bebas yang kuat (sangat kuat). Senyawa yang diduga dapat menghasilkan antioksidan pada tumbuhan adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenol berkorelasi dengan aktivitas antioksidan, umumnya dengan meningkatnya senyawa fenolik (monofenol atau polifenol), aktivitas antioksidan akan tinggi. Flavonoid merupakan senyawa yang masuk ke dalam senyawa polifenol. Atom hidrogen dari gugus OH fenolik dapat dengan cepat diserap oleh radikal bebas (donor proton hidrogen), yang membuat senyawa fenolik memiliki potensi antioksidan [15].

Metode DPPH dipilih dalam uji penangkal radikal bebas karena memiliki keuntungan sederhana (cukup larut dan tanpa perlu menghasilkan paratus yang lebih baru dengan mereaksikan dengan reagen seperti pada metode nitrit oksida), fabrikasi (hanya bereaksi antara sampel yang diduga memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dengan DPPH yang dilarutkan dalam metanol pa), cepat (hanya membutuhkan waktu inkubasi 30 menit kemudian diukur dengan spektrofotometer), UV-Vis, sensitif (hanya konsentrasi rendah yang dapat diukur) dan sampel yang digunakan kecil [16]. Metode ini dapat digunakan sebagai langkah awal untuk menentukan aktivitas antioksidan. Antioksidan melindungi tubuh dari radikal bebas yang dapat merusak tubuh. Radikal bebas yang mengambil elektron dari

DNA dapat menyebabkan mutasi DNA dengan mengubah struktur DNA. Proses penuaan juga dipengaruhi oleh adanya radikal bebas, dimana mitokondria diinisiasi oleh radikal bebas yang menyebabkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) [17].

Sebagai hasil dari pengujian aktivitas antioksidan pada rimpang tanaman *Acorus sp.* dari fraksi air, butanol, heksana dan etil asetat, ditemukan bahwa rimpang *Acorus sp.* memiliki sifat antioksidan oksidan yang sangat kuat (di bawah 50 ppm). Aktivitas antioksidan rimpang *Acorus sp.* dapat menjadi salah satu mekanisme penggunaan rimpang jeringau merah sebagai bahan pengobatan beberapa penyakit.

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh : Pada fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} sebesar 8,585 ppm; fraksi butanol memiliki IC_{50} sebesar 13,631 ppm; fraksi n-heksana memiliki IC_{50} sebesar 28 ppm; dan fraksi air memiliki IC_{50} sebesar 31,189 ppm. Aktivitas antioksidan pada fraksi air, fraksi butanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana termasuk dalam golongan sangat kuat.

5 Kontribusi Penulis

Nera Umilia Purwanti sebagai author dan Ressi Susanti sebagai co-author.

6 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

7 Daftar Pustaka

- [1] M.I. Rizky, L. Chabib, A. Nabil, B. Yusuf, Tanaman dengan aktivitas anti-asma, J. Pharmascience. 2 (2015) 1–9.
- [2] M.N. Somchit, M.R. Sulaiman, A. Zuraini, L. Samsuddin, N. Somchit, D.A. Israf, S. Moin, Antinociceptive and antiinflammatory effects of *Centella asiatica*, Indian J. Pharmacol. 36 (2004) 377–380.
- [3] S.I. Saman, N. Bialangi, W.J.A. Musa, J.P. Kimia, F. Matematika, U.N. Gorontalo, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rimpang Jeringau, Jur. Pendidik. Kim. Fak. Mat. Dan IPA. Univ. Gorontalo. (2013).
- [4] S.R. Safrina N., Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus sp.*) Terhadap Radang Kaki Tikus Jantan

- Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan, *CDK-265*. 45 (2018) 409–413.
- [5] S.A. Ganjeala D., An Update on Chemical Composition and Bioactivities of *Acorus* Species, *Asian J. Plant Sci.* 10 (2011) 182–189.
- [6] A. Wahyuni, A. Kadir, A. Najib, Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Fraksi n-Heksana Daun Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* Linn.), *As-Syifaa*. 04 (2012) 58–64.
- [7] S.S. Prawanayoni, S.K. Sudirga, Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antijamur Daun Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) Sebagai Pengendali Jamur *Athelia rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Busuk Batang Pada Tanaman Kedelai, *Metamorf. J. Biol. Sci.* 7 (2020) 10. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2020.v07.i02.p02>.
- [8] Firdaus I, Retnowati R, Sutrisno, Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan Pelarut n-Butanol, *Kim. Student J.* 1 (2015) 785–790.
- [9] D. Pratiwi, S. Wahdaningsih, Isnindar, The Test of Antioxidant Activity from Bawang Mekah Leaves (*Eleutherine Americana* Merr.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil) Method, *Tradit. Med. J.* 18 (2013) 2013.
- [10] S. Werdyani, D.S. Hartati, P. Jumaryatno, J. Farmasi, Penentuan fraksi aktif antioksidan ekstrak etanol daun benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang tumbuh pada pohon rambutan, *J. Ilm. Farm.* 15 (2019) 70–79. <http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF70>.
- [11] W.F. Dewatisari, L. Rumiyantri, I. Rakhmawati, Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.*, *J. Penelit. Pertan. Terap.* 17 (2018) 197. <https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>.
- [12] L. Pratiwi, A. Fudholi, R. Martien, S. Pramono, 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 Ekstrak etanol, 2016.
- [13] D. Tristantini, A. Ismawati, B. Tegar Pradana, J. Gabriel Jonathan, Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L), *Pros. Semin. Nas. Tek. Kim.* “Kejuangan.” (2016).
- [14] Purba E. Rinawati, Martosupono M., Kurkumin sebagai Senyawa Antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IV*, 2009.
- [15] Rafi M, Widyastuti N., Suradikusumah E., Darusman LK., Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol, dan Flavonoid Total, *J. Bahan Alam Indones.* 8 (2012) 159–165.
- [16] Nurfadillah, Chadijah St., Rustiah W., Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), *Al-Kimia.* 4 (2016) 78–86.
- [17] Werdhasari A., Peran Antioksidan Bagi Kesehatan, *J. Biotek Medisiana Indones.* 3 (2014) 59–68.