



**THE 1ST SCIENTIFIC
MEDICAL MEETING
NUSA CENDANA UNIVERSITY
10 Oktober 2015 Hotel NEO by Aston Kupang**

**Memerangi Kanker Serviks
Sebagai “The Silent Killer”**

**Fakultas Kedokteran
Universitas Nusa Cendana**

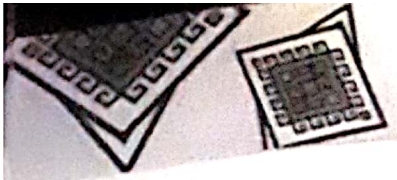
Jln. Adisucipto Pentui, PO BOX 104, Kupang 85001, NTT

Telp/Fax : (0 380) 881580 / (0 380) 881674

Website : <http://www.undana.ac.id>

Email: smm.nusa.cendana@gmail.com





Poster Presentation

Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana Kupang - NTT
10 Oktober 2015 Hotel NEO by Aston Kupang

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tanaman *Wrightia laevis* Hook F secara in vitro Dengan Metode DPPH

Fatmawati¹⁾, Maria Hilaria²⁾ dan Ni Nyoman Yuliani³⁾

^{1,2,3)}Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang

ABSTRAK

Latar Belakang: Daun *Wrightia laevis* Hook F. atau suku Timor biasa disebut daun riksusu merupakan salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional untuk mengobati patah tulang, terkilir, menurunkan bengkak dan menghilangkan rasa nyeri.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun tanaman riksusu (*wrightia laevis* Hook F) secara in vitro

Metode: Pengukuran aktivitas antioksidan pada panjang gelombang 510-520 nm dengan metode DPPH, sebagai pembanding digunakan vitamin C, untuk menghitung IC_{50} nya melalui analisis probit.

Hasil: Hasil penelitian diperoleh bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun riksusu (*Wrightia laevis* Hook F) yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50% (IC_{50}) adalah $153,373 \text{ ppm} \pm 1,251$, hal ini menunjukkan bahwa tanaman riksusu mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah sedangkan Vit C sebagai pembanding mempunyai aktivitas sangat kuat dengan nilai (IC_{50}) sebesar $7,391 \text{ ppm} \pm 0,169$

Kata kunci: Riksusu (*wrightia laevis* Hook F), Antioksidan, DPPH

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tanaman *Wrightia laevis* Hook F secara *in vitro* Dengan Metode DPPH

Fatmawati ¹⁾, Maria Hilaria ²⁾ dan Ni Nyoman Yuliani ³⁾
^{1,2,3)}Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang

ABSTRAK

Latar Belakang: Daun *Wrightia laevis* Hook F. atau suku Timor biasa disebut daun riksusu merupakan salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional untuk mengobati patah tulang, terkilir, menurunkan bengkak dan menghilangkan rasa nyeri. Penelitian Rajalakshmi dan Jyoti,(2013) tentang evaluasi antiinflamasi dan analgetik daun *Wrightia tinctoria* secara *in vitro* menunjukkan *Wrightia tinctoria* secara signifikan mempunyai daya antiinflamasi serta kandungan kimianya adalah karbohidrat, steroid, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tannin dan polifenol. Flavonoid dan terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang diketahui bermanfaat sebagai antioksidan (Christensen *et al cit* Tringali, 2001).

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun tanaman riksusu (*wrightia laevis* Hook F) secara *in vitro*

Metode: Metode pengukuran aktivitas antioksidan adalah DPPH yang diukur pada panjang gelombang 510-520 nm dengan menggunakan blanko etanol dan vitamin C sebagai pembanding. Simplisia daun tanaman riksusu dimaserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan menggunakan evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental, aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tanaman riksusu serta vit C dianalisis dan masing-masing dihitung IC₅₀ nya melalui analisis probit.

Hasil: Hasil penelitian diperoleh bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun riksusu (*Wrightia laevis* Hook f.) yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50% (IC 50) adalah 153,373 ppm ± 1,251, hal ini menunjukkan bahwa tanaman riksusu mempunyai aktivitas antioksidan yang lemah sedangkan Vit C sebagai pembanding mempunyai aktivitas sangat kuat dengan nilai (IC 50) sebesar 7,391 ppm ± 0,169

Kata kunci: Riksusu (*wrightia laevis* Hook F), Antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Sejak ribuan tahun yang lalu, obat dan pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dan obat-obatan modern dikenal oleh masyarakat. Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat merupakan pengobatan yang dimanfaatkan dan diakui masyarakat dunia untuk mencapai kesehatan yang optimal untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami (Wijayakusuma, 2000).

Salah satu tanaman yang digunakan dalam pengobatan tradisional adalah *Wrightia laevis* Hook F, masyarakat suku Timor mengenal tanaman ini dengan nama riksusu. Secara empiris tanaman ini digunakan untuk mengobati patah tulang, terkilir, menurunkan bengkak dan menghilangkan rasa nyeri.

Penelitian Rajalakshmi dan Jyoti, tentang evaluasi antiinflamasi dan analgetik daun *Wrightia tinctoria* secara *in vitro* menunjukkan *Wrightia tinctoria* secara signifikan mempunyai daya antiinflamasi. Penelitian yang sama oleh Blegur 2013 menunjukkan adanya efek analgesik dan antiinflamasi dari tanaman riksusu (*Wrightia tinctoria laevis* Hook .F) terhadap tikus putih .

Secara ilmiah diketahui komponen kimia daun tanaman *wrightia laevis* antara lain: adalah karbohidrat, steroid, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tannin dan polifenol (Rajalakshmi dan Jyoti, 2013). Golongan senyawa metabolit sekunder yang diketahui bermanfaat sebagai antioksidan adalah flavonoid dan Polifenol (Winarsih, 2007). Flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang terbukti mempunyai efek biologis sangat kuat, yaitu sebagai antioksidan yang dapat menghambat penggumpalan keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida (NO) yang berperan melebarkan pembuluh darah, dan juga menghambat pertumbuhan sel kanker (Winarsih,2007).

Sebagai upaya pengembangan obat tradisional dibutuhkan penelitian sehingga tersediannya data ilmiah yang dapat dipakai sebagai dasar untuk pengembangan fitofarmaka. Berdasarkan latar belakang diatas maka penulis tertarik untuk menguji aktivitas antioksidan secara *in vitro* ekstrak etanol daun Riksusu (*wrightia laevis* Hook F.) dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenyl-2-picrylhydrazyl*).

Rumusan Masalah

Berapa konsentrasri ekstrak daun riksusu dalam meredam radikal bebas DPPH sebesar 50% ?

Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol *wrightia laevis* Hook F dengan metode DPPH (*1,1-difenyl-2picrylhydrazil*).

2. Tujuan Khusus

Mengetahui berapa nilai IC50 ekstrak etanol daun riksusu (*wrightia laevis* Hook f.) dalam meredamradikal bebas DPPH (*1,1-difenyl-2-picrylhydrazyl*) 50%

METODE PENELITIAN

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September – Desember 2014, dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Instrumen Jurusan Farmasi Poltekes Kemenkes Kupang.

Bahan dan alat

Daun tanaman riksusu diperoleh di daerah Oesapa, bahan kimia yang dipakai untuk ekstraksi adalah etanol 70%, sedangkan untuk analisis digunakan DPPH pro analisis dan sebagai pembanding digunakan Vitamin C pro analisis

Alat-alat yang digunakan meliputi Rotavapor (*Eyela*), Beaker gelas, Erlenmeyer 250 mL (*pyrex*), Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu tipe W-1700), Neraca analitik Kern, type EW 220-3NM, Labu ukur (*pyrex*), Pipet volume, Lumpang dan Alu, Cawan porselin, Penangas air, Aluminium foil, Gelas ukur (*Pyrex*), labu takar, Sendok tanduk, Kertas perkamen, Maserator

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan simplisia daun riksusu (*wrightia laevis laevis* Hoo F.)

Daun tanaman *wrightia laevis* diambil di daerah Oesapa kabupaten Kupang, kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan cemaran yang melekat. Selanjutnya dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan setelah kering dibuat serbuk dengan cara digerus terlebih dahulu kemudian diayak, hasil ayakannya dapat digunakan untuk proses ekstraksi.

2. Maserasi simplisia daun riksusu (*wrightia laevis*, Hook,F)

Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan menggunakan pelarut Etanol 70%. Pertama-tama serbuk daun riksusu (*Wrightia laevis*. Hook. F) ditimbang 100 gram kemudian direndam (dimaserasi) dengan 250 mL etanol 70% selama 5 hari dan tiap hari dilakukan pengadukan yang homogen yang dimaksudkan untuk menarik komponen kimia aktif dari daun riksusu (*Wrightia laevis*. Hook, F). Setelah 5 hari maseratnya diambil dan untuk mendapatkan ekstrak kental dievaporasi menggunakan Rotary vacuum dan diuapkan di atas *water bath* untuk mendapatkan ekstrak kental.

3. Pengujian aktivitas antioksidan

- a. Penyiapan larutan DPPH 0,5 mM

Larutan pereaksi adalah 0,5 mM dalam pelarut etanol. Larutan ini dibuat dengan cara menimbang 50 mg serbuk DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambah etanol 95 % sebagian kemudian dikocok untuk melarutkan serbuk DPPH dan ditambahkan etanol 95% sampai tanda batas.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH dilakukan sebagai berikut: 1 mL larutan DPPH 0,5 mM ditambah 4 mL etanol 95%, dikocok homogen dan diukur serapannya yang diperoleh pada rentang λ 510-520 nm dengan blanko etanol.

c. Penyiapan larutan uji

Ekstrak kental daun tanaman *wrightia laevis*, dilarutkan dengan etanol pro analisis untuk dibuat konsentrasi 1000 ppm yakni 100 mg dalam etanol pro analisis untuk pembuatan 100mL, disebut larutan induk.

d. Penyiapan larutan pembanding vitamin C

Larutan pembanding vitamin C ditimbang 50 mg dilarutkan dalam 100 mL etanol 95%. Larutan ini disebut larutan induk dengan konsentrasi 500 ppm. Dari konsentrasi 500 ppm dibuat 4 konsentrasi yaitu 3, 4, 5, 6 dan 7 ppm.

e. Pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas DPPH

Larutan uji dengan berbagai konsentrasi sebanyak 4 mL ditambahkan 1 mL larutan pereaksi DPPH di masukan dalam vial dikocok. Didiamkan selama 30 menit, kemudian dibaca serapan aktivitasnya pada panjang gelombang maksimum. Blanko yang digunakan adalah etanol dan vitamin C sebagai pembanding.

Analisis Data

Hasil pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk menghitung presentase peredaman radikal bebas DPPH.

% peredaman radikal bebas DPPH dihitung dengan menggunakan rumus :

$$= \left[\frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs blanko}} \right] \times 100\%$$

Daya aktivitas antioksidan peredaman radikal bebas DPPH (Persen peredaman) ekstrak etanol daun riksusu (*Wrightia laevis* Hook F.) serta vit.C dianalisis dan masing-masing dihitung IC₅₀ nya melalui analisis regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak Etanol Daun Riksusu (*Wrightia laevis* Hook. F)

Sebanyak 100 gram simplisia yang telah halus daun riksusu dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 250 ml kemudian hasil maserasi dirotavapor dan diuapkan diatas pemanasan di atas penangas air diperoleh ekstrak kental sebanyak 65 gram dengan rendamen sebesar 20,65%.

Hasil Pengujian aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH berdasarkan dari hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan. Menurut Prakash (2001), adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH yang semula berwarna ungu menjadi kuning pucat. Perubahan intensitas warna disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH, karena elektron pada radikal DPPH berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan sehingga menjadi DPPH+H yang merupakan radikal stabil. Intensitas warna ungu yang hilang inilah yang diukur menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 519 nm dengan absorbansi DPPH sebesar 1,251. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun riksusu dengan konsentrasi 150 ppm, 160 ppm, 170 ppm, 180 ppm untuk direaksikan dengan radikal bebas DPPH dengan menggunakan waktu operasional (*operating time*) pada masing-masing konsentrasi selama 30 menit dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil persen peredaman ekstrak etanol daun riksusu (*wrightia laevis* Hook F.)

| No | Konsentrasi | Aktivitas Peredaman (%) | | | Rata-rata Aktivitas peredaman Setiap konsentrasi (%) | $\bar{X} \pm SD$ (ppm) |
|------------------|-------------|-------------------------|-------------|-------------|--|---|
| | | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | | |
| 1 | 150 ppm | 42,84 | 41,19 | 44,60 | 42,88 | 153,373 ± 1,251 atau 152,122 sampai 154,624 |
| 2 | 160 ppm | 58,43 | 62,99 | 61,55 | 60,99 | |
| 3 | 170 ppm | 64,35 | 63,87 | 66,97 | 65,06 | |
| 4 | 180 ppm | 66,67 | 69,38 | 70,02 | 68,69 | |
| IC ₅₀ | | | | | | |

(Sumber : Data Primer Penelitian)

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun riksusu diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan

pengurangan konsentrasi larutan DPPH. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul Difenil Pikril Hidrazil dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen ekstrak etanol daun riksusu sehingga terbentuk senyawa Difenil Pikril Hidrazin dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Semakin besar konsentrasi bahan uji, warna kuning yang dihasilkan akan semakin kuat. Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH ini secara kuantitatif dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Semakin besar konsentrasi bahan uji maka absorbansi yang terbaca semakin kecil, yang berarti aktivitas bahan uji dalam menangkap radikal DPPH semakin besar hal ini berarti persentasi peredaman juga semakin besar

Selanjutnya ditentukan persamaan regresi untuk kemudian dari persamaan diplotkan aktivitas 50% sehingga diperoleh harga konsentrasi efektif (IC 50) dengan menggunakan SPSS. Nilai IC 50 ekstrak etanol daun riksusu sebesar Konsentrasi ekstrak etanol daun riksusu (*Wrightia laevis* Hook F.) yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50% (IC 50) adalah $153,373 \pm 1,251$ atau $153,373$ sampai $154,624$. IC 50 merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%.

Senyawa kimia yang digunakan sebagai pembanding aktivitas penangkap radikal bebas DPPH terhadap ekstrak etanol daun riksusu adalah vitamin C dengan perlakuan yang sama dengan ekstrak etanol daun riksusu. Vitamin C dibuat dalam 4 seri konsentrasi yakni 6 ppm, 8 ppm, 9 ppm, 10 ppm, hasilnya terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Persen Peredaman Vitamin C

| No | Konsentrasi | Aktivitas Peredaman (%) | | | Rata-rata Peredaman aktivitas Setiap konsentrasi (%) | $\bar{X} \pm SD$ (ppm) |
|----|------------------|-------------------------|-------------|-------------|--|--|
| | | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | | |
| 1 | 6 ppm | 39,67 | 45,40 | 44,20 | 43,09 | 7,391 ± 0,169 atau 7,222 sampai 7,560 |
| 2 | 8 ppm | 46,36 | 51,88 | 51,24 | 49,82 | |
| 3 | 9 ppm | 58,27 | 59,23 | 56,67 | 58,06 | |
| 4 | 10 ppm | 66,97 | 65,45 | 66,64 | 63,35 | |
| | IC ₅₀ | | | | | |

(Sumber : Data Primer Penelitian)

Hasil pengujian aktivitas antioksidan vitamin C terlihat pada tabel diatas menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat hal tersebut ditunjukkan dengan menurunnya absorbansi DPPH setelah bereaksi dengan vitamin C, dari perhitungan nilai IC₅₀ sebesar 7,391 ppm ± 0,169 ppm atau 7,222 ppm sampai 7,560 ppm. Vitamin C yang digunakan sebagai pembanding adalah vitamin C pro analis yang merupakan senyawa murni sehingga kemampuannya dalam mengikat radikal bebas sangat kuat.

Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC 50 kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50- 100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC 50 bernilai > 150 ppm (Edhisambada, 2011). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun riksusu termasuk antioksidan lemah karena nilai IC 50 > 150 ppm, lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun riksusu kemungkinannya disebabkan karena zat aktif sebagai antioksidan yang ada dalam daun riksusu baik itu flavonoid, polifenol yang tersari dalam ekstrak etanol jumlahnya kecil, kemungkinan lain ekstrak etanol daun riksusu mengandung zat-zat lain selain flavonoid dan polifenol yang masih ikut terlarut, sehingga aktivitasnya sebagai penangkap radikal bebas lebih kecil.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Ekstrak etanol daun riksusu (*Wrightia laevis* Hook F.) mengandung flavonoid dan polifenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun riksusu (*Wrightia laevis* Hook F.) yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50% (IC 50) adalah 153,373 ppm ± 1,251
3. Konsentrasi Vitamin C yang menyebabkan penangkapan radikal bebas 50% (IC 50) adalah 7,391 ppm ± 0,169

Saran

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan yakni fraksinasi/separasi senyawa antioksidan yang dipandu uji aktivitas antiradikal bebas DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979. *Farmakope Indonesia* Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
-, 1995. *Materi Medika Indonesia* : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Indonesia.
- Edhisambada, 2011. Metode Uji Aktivitas Antioksidan Radikal 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil (DPPH). <http://edhisambada.wordpress.com> (diakses 25 Maret 2014)
- Blegur , F dan Tenda, P.E, 2013. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Riksusu (*Wightia laevis* Hook f.) pada Udem Kaki Tikus Putih Jantan Galur Wistar terinduksi Karagenin
- Harbone, 1987. *Metode Fitokimia*. Kampus ITB. Bandung.
- Rajalakshmi, G and Jyoti H. 2012. Anti-Inflammatory Activity Of *Wrightia tinctoria* Leaves By Membrane Stabilization. <http://www.ijpsr.info/docs/IJPSR12-03-10-008.pdf>. (diakses 11 Mei 2013)
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kasinus
- Zuhra C.F, Tarigan J.R, Sihotang H. 2008 Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk . *Jurnal Biologi Sumatera*, Januari 2008, hlm. 7 – 10 ISSN 907-537