



Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Herba Ciplukan (*Physalis Angulata*) Terhadap Dpph (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*)

Ghani Nurfiana Fadma Sari

Universitas Setia Budi Surakarta

Email : ghani.nurfiana@rocketmail.com

Abstrak

Antioksidan berperan sebagai pelindung tubuh yang berfungsi menangkal radikal bebas. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas untuk menjaga fungsi fisiologis tubuh, sehingga asupan dari sumber luar diperlukan untuk membantu tubuh mengatasi tekanan oksidatif. Ciplukan (*Physalis Angulata* L) secara tradisional telah digunakan secara luas untuk mengatasi berbagai macam penyakit, dan salah satu kegunaannya adalah sebagai antioksidan. Penelitian ini dilaksanakan untuk menentukan jenis dan juga mengukur aktifitas dari ekstrak dan penyaringan dari tanaman herbal. Ciplukan diekstraksi dengan maserasi ethanol 95%. Ekstrak yang dihasilkan ditambahkan dengan cairan cairan ekstraksi. Test aktifitas antioksidan dilakukan dengan mekanisme in vitro menggunakan pengurangan radikal bebas metode DPPH (1-1 difenil-2- fikrihidrazil). Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ciplukan dengan penambahan yang mengandung flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin. Actifitas anti oksidan dalam ekstrak etanol, n-penambahan heksan, penambahan etil asetat, dan penambahan air memberikan nilai IC setara 793,97; 623.20; 213.34; 407.91/mL. penambahan etil asetat memiliki aktifitas terkuat dibandingkan dengan yang lain dengan nilai IC₅₀ mendekati IC₅₀ kurcetin, dengan 3.85/mL sebagai control positif.

Abstract

Antioxidants have a role in protecting the body against free radicals. The balance between free radicals and antioxidants is needed to maintain the physiological functions of the body, so that the provision of external sources of antioxidants needs to be done to help the body overcome oxidative stress. Ciplukan (Physalis angulata L) has traditionally been widely used to treat various diseases, and one of its uses is as an antioxidant. This research was conducted to determine the class of compounds and test the antioxidant activity of extracts and fractions of ciplukan herbs. The ciplukan herbs were extracted by maceration with 95% ethanol. The extract obtained was fractionated by liquid-liquid extraction. Antioxidant activity test was carried out in vitro using free radical reduction method DPPH (1-1-diphenyl-2-pikrilhidrazil). The results showed that ciplica herbal extracts and fractions contained flavonoids, alkaloids, steroids and saponins. Antioxidant activity in ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction gave IC₅₀ values sequentially 793.97; 623.20; 213.34; 407.91 µg/mL. The ethyl acetate fraction had the strongest activity compared to the others with IC₅₀ values approaching IC₅₀ quercetin, which was 3.85 µg/mL as a positive control.

Keywords: Antioxidant, *Physalis angulata* L, DPPH

Pendahuluan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen [1]. Antioksidan sintesis seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) baru-baru ini dilaporkan berbahaya bagi kesehatan manusia [2]. Oleh karena itu, penggunaan antioksidan alami menjadi alternatif utama. Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L) merupakan jenis tanaman obat yang secara klinis terbukti memiliki kandungan aktif yaitu steroid, flavonoid dan alkaloid. Senyawa-senyawa polifenol seperti flavonoid dan galat mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal dengan



cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang [3].

Ciplukan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiarthritis dan anti-inflamasi. Aktivitas imunomodulator juga dipaparkan terdapat pada tanaman ciplukan. Di Malaysia, bagian buah digunakan untuk penyembuhan masalah digesti dan gangguan intestinal dan beberapa masalah kulit seperti luka, terbakar dan terpotong. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air daun ciplukan pada konsentrasi 25 mg/ml dapat menghambat radikal bebas dengan konsentrasi hambat sebesar 92,31 % [4].

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 515 nm yang diikuti reaksi reduksi oleh senyawa antioksidan. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil [1].

Pada penelitian ini dilakukan uji antiradikal bebas DPPH untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan ekstrak metanolik, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air herba Ciplukan dalam menghambat radikal bebas DPPH, yang bertujuan untuk mengetahui manakah dari seluruh zat uji yang memiliki potensi tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan yang bersifat antioksidan, dan dapat bermanfaat untuk memberikan dasar ilmiah potensi herba Ciplukan sebagai antioksidan dan memberikan acuan dalam usaha menemukan serta menyelidiki senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan dari tanaman yang tumbuh di Indonesia.

Metode Penelitian

1. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah herba ciplukan, Etanol 96%, Etil Asetat, *n*-heksan, aquadest, reagen dregendorf, pereaksi Lieberman Burchard, pereaksi Anisaldehyd, pereaksi Sitroborat, Ammonia, plat KLT Silica GF 254, metanol p.a. ((Merck, *Germany*), 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil, quercetin. Peralatan yang digunakan bejana maserasi, corong pisah, cawan porselen, corong pisah, evaporator, ayakan nomor 40, peralatan gelas (*Pyrex*), neraca analitik, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis, alat Moisture Analyzer.

2. Jalannya penelitian

a. Pembuatan serbuk dan penetapan susut pengeringan serbuk simplisia

Tanaman sebelum digunakan harus dipastikan terlebih dahulu dengan dilakukan determinasi tanaman. Herba Ciplukan yang telah ditetapkan identitasnya, dipilih yang tidak terlalu muda, tidak terlalu tua, masih segar dan dipetik siang hari. Herba selanjutnya dicuci dengan air, dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Pembuatan serbuk menggunakan ayakan ukuran 40 mesh.

b. Pembuatan Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan.

Ekstrak etanolik dibuat dengan cara, 400 g serbuk herba Ciplukan dimasukkan dalam panci lalu ditambah dengan etanol 96% sebanyak 3000 ml. Maserasi dilakukan selama lima hari dengan penggojogan. Setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas, selanjutnya ampas dibilas dengan etanol 96% sebanyak 1000ml. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotaevaporator* (suhu pada 40°C) selanjutnya disebut ekstrak etanolik herba Ciplukan.

c. Pembuatan Fraksi *n*-Heksan, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air



Ekstrak etanolik yang diperoleh kemudian ditimbang 10 g dan disuspensi dengan air sebanyak 75 ml lalu dipartisi dengan *n*-heksan 75 ml sebanyak tiga kali pada corong pisah. Lapisan *n*-heksan selanjutnya dikumpulkan dan dipekatkan dengan *vaccum rotaevaporator*, sari *n*-heksan yang kering ini selanjutnya disebut fraksi *n*-heksan. Lapisan berair sisa partisi dengan *n*-heksan kemudian dipartisi lagi dengan 75 ml etil asetat sebanyak tiga kali. Lapisan etil asetat dipisahkan dan dipekatkan dengan *vaccum rotaevaporator* dan diperoleh fraksi etil asetat. Lapisan air diuapkan di atas *waterbath* sampai kental, yang kemudian disebut fraksi air. Fraksi yang didapat masing-masing ditimbang untuk mendapat persen rendemen terhadap bobot awal.

d. Uji Kandungan Senyawa

Identifikasi senyawa kimia dapat dilakukan dengan menggunakan KLT. Identifikasi golongan senyawa dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi-fraksi yang diperoleh dengan penampak bercak di antaranya : alkaloid (reagen dragendorff), flavonoid (uap ammonia dan pereaksi sitroborat), steroid dan terpenoid (reagen lieberman burchard), tanin (peraksi $FeCl_3$), saponin (pereaksi anisaldehyda)

e. Penetapan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing larutan sampel dan larutan quersetin dikocok dengan 1,0 ml larutan DPPH, campuran larutan kemudian disimpan dalam tempat gelap hingga tercapai Operating Time. Pengukuran absorbansi dibaca pada Operating Time dan panjang gelombang absorpsi maksimal yang sudah didapat. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan kontrol negatif larutan DPPH 0,45 mM tanpa zat uji

f. Analisis Data

Aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH dihitung dengan menggunakan rumus persen peredaman sebagai berikut:

$$\text{Peredaman (\%)} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Data selanjutnya dihitung dengan persamaan regresi linier berdasarkan rumus $Y = a + bX$ dengan metode probit. Persamaan regresi linier digunakan untuk menghitung IC_{50} .

Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak kental etanolik yang didapatkan dari 400 gram serbuk adalah 58,47 gram sehingga memiliki rendemen sebesar 14,61%. Ekstraksi dilakukan dengan etanol karena etanol merupakan pelarut universal sehingga dapat mengekstraksi hampir semua kandungan kimia dalam simplisia. Ekstrak kental etanolik yang didapatkan kemudian dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksan, etil asetat, dan air dimaksudkan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya, dimana fase *n*-heksan akan melarutkan kandungan senyawa tanaman yang bersifat nonpolar, fase etil asetat melarutkan senyawa yang bersifat semipolar, dan fase air melarutkan kandungan senyawa kimia tanaman yang bersifat polar. Hasil partisi dapat dilihat pada Tabel 1.



Tabel 1. Hasil rendemen fraksi ekstrak etanol herba Ciplukan

Nama pelarut	Rendemen(%)			Rata-rata Rendemen (%)	Senyawa	Fase Gerak	Pereaksi	Hasil setelah disemprom		Kesimpulan
	I	II	III					254 nm	366 nm	
<i>n</i> -heksan	23,85	24,02	23,92	23,93						
etil asetat	38,56	39,24	39,12	38,97	Alkaloid	Metanol:kloroform (0,5:9,5)	Dragendorff	Gelap Coklat		+
air	33,55	34,81	34,29	34,21	Flavonoid	Kloroform : etil asetat (6:4)	Sitro borat	Gelap Kuning		+
					Steroid	<i>n</i> -heksan:Etil Asetat (7:3)	Lieberman - Buchard	Gelap Ungu		+
					Saponin	kloroform:metanol:air (6:3:1)	Anisaldehyd	Gelap Ungu		+

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol herba ciplukan secara kromatografi

Ekstrak etanol herba ciplukan yang diperoleh melalui metode maserasi, kemudian dianalisis kandungan kimianya menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

Senyawa yang diidentifikasi merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin. Hasil identifikasi kandungan senyawa secara KLT dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan senyawa secara KLT

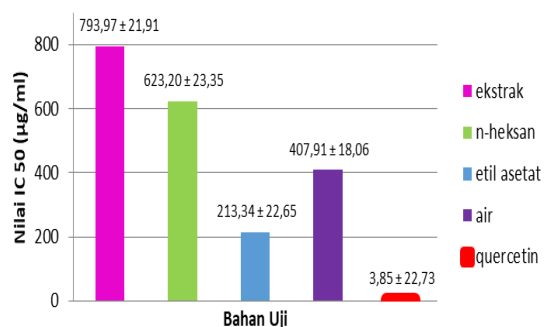
Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan

Panjang gelombang maksimum DPPH dalam etanol yang didapatkan pada penelitian ini adalah 517 nm. Pengukuran aktivitas peredaman radikal DPPH selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna violet larutan DPPH menjadi warna kuning karena bereaksi dengan antioksidan diikuti dengan penurunan serapan pada panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna tersebut menunjukkan adanya aktivitas yang dapat dilihat dari prosentase peredamannya.

Quercetin digunakan sebagai kontrol positif karena telah terbukti aktivitas antioksidannya. IC₅₀ merupakan yakni daya konsentrasi larutan uji yang mampu meredam 50% larutan radikal bebas DPPH. Semakin kecil harga IC₅₀, maka semakin efektif sebagai antioksidan. Hasil nilai IC₅₀ dari masing-masing larutan uji ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, dan fraksi air dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil nilai IC₅₀ dari masing-masing larutan uji



Fraksi *n*-heksan memiliki nilai IC₅₀ tertinggi yaitu 793,91 µg/mL yang menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas antioksidan paling lemah dibanding fraksi lainnya. Hal ini sesuai dengan identifikasi KLT dari fraksi heksan yang tidak menunjukkan bercak flavonoid dimana flavonoid yang mempunyai peranan penting dalam aktivitas antioksidan. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dengan nilai IC₅₀ terendah yaitu 213,34 µg/mL karena adanya kemungkinan senyawa aktif antioksidan yang terkandung pada fraksi etil asetat. Selain itu, berdasarkan identifikasi KLT fraksi etil asetat menunjukkan bercak yang mengarah pada senyawa flavonoid dengan salah satu bercak terdeteksi mempunyai karakteristik seperti pada bercak quercetin.

Aktivitas antioksidan pada fraksi air lebih lemah dari pada fraksi etil asetat dengan nilai IC₅₀ 407,91 µg/mL. Hal ini kemungkinan karena fraksi air meskipun mengandung senyawa yang mengarah flavonoid pada identifikasi KLT tetapi senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka fraksi etil asetat mempunyai potensi yang tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan yang bersifat antioksidan.

Kesimpulan

Herba Ciplukan memiliki aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH. Ekstrak etanolik, fraksi air, fraksi heksan, dan fraksi etil asetat secara berturut-turut memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 793,97 ; 623,20 ; 213,34 ; 407,91 µg/mL

Fraksi etil asetat memiliki aktivitas paling kuat dibandingkan lainnya dengan nilai IC₅₀ mendekati IC₅₀ quercetin yaitu 3,85 µg/mL sebagai kontrol positif.

Ekstrak dan fraksi herba ciplukan mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid dan saponin

Daftar Pustaka

- Sunarni, T. 2005. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae, *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 53-61.
- Hernani M. dan Rahardjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.



Windono T., *et al*, 2001. Uji Peredaman Radikal Bebas Terhadap 1,1- difenil-2-pikrilhidrazyl dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinera L.*) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus*. Vol 1. hlm 35- 39.

Krishna Murali, Vadluri Ajender, Kumar Manoj. 2013. In Vitro Determination Of Antioxidant Activity Of Physalis Angulata Lnn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* : 4(3): (P) 541 - 549