

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA EKSTRAK DAUN PACING (*COSTUS SPECIOSA*) DENGAN METODE DPPH

Ira Rahmiyani, Diana Sri Zustika

Program Studi S1 Farmasi
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
Jl. Cilolohan No. 36 Tasikmalaya
e-mail : ira_rahmiyani@yahoo.com

ABSTRAK

Pacing merupakan tumbuhan keluarga Zingiberaceae yang diduga memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa yang diduga berpotensi sebagai antioksidan pada ekstrak daun pacing adalah senyawa golongan flavonoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak daun pacing (*Costus speciosus* (Koenig) J.E Smith) terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Ekstraksi daun pacing dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol. Ekstrak yang didapat diuji aktivitas antioksidannya terhadap radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometer yang diukur serapannya pada λ_{max} 516 nm dengan vitamin C sebagai pembanding. Parameter adanya aktivitas antioksidan pada ekstrak daun pacing ditunjukkan oleh nilai IC50. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana dan metanol daun pacing memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC50 masing-masing 57,93 dan 84,20 ppm. Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC50 169,82 ppm, sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC50 3,60 ppm.

Kata kunci : Daun pacing, maserasi, antioksidan, DPPH, spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN

Salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan manusia dalam pengobatan adalah keseimbangan antara kandungan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Kurangnya asupan antioksidan yang cukup dari makanan yang dikonsumsi oleh sebagian besar masyarakat saat ini merupakan penyebab ketidakseimbangan tersebut. Ketidakseimbangan ini menjadi penyebab radikal bebas dominan di dalam tubuh, sehingga timbul berbagai macam penyakit seperti jantung koroner, kanker, diabetes, hati dan penuaan dini. (Widjaya, 1996)

Ketertarikan terhadap senyawa penangkap radikal bebas (antioksidan) yang terkandung dalam tanaman rempah

yang sering digunakan pada pengobatan tradisional meningkat, karena secara alami dapat mencegah penyakit, meningkatkan kesehatan, atau merupakan substansi anti penuaan (Benson,1990). Salah satu yang termasuk kedalam tanaman rempah berasal dari suku temu-temuan (Zingiberaceae).

Tumbuhan jenis pacing atau yang dalam bahasa latin disebut dengan *Costus speciosus* merupakan tanaman obat-obatan yang tergolong dalam suku temu-temuan (Zingiberaceae). Pacing sering dijadikan sebagai bahan untuk membuat ramuan obat berbagai macam penyakit. Daun pacing berkhasiat sebagai obat gatal-gatal, obat luka akibat digigit serangga dan obat untuk menyuburkan rambut

(Wahyuningsih E, 2000). Tanaman Pacing memiliki aktivitas hipolipidemik, hepatoprotektif, antifertilitas, antioksidan, dan antifungi. Secara tradisional tanaman ini juga diketahui memiliki peranan untuk mengobati rheumatik, asma bronkial, dan lepra (Srivastava dkk., 2011). Berdasarkan penelitian, infusa daun pacing dapat menghambat jumlah dan kualitas spermatozoa pada mencit jantan balb/c (Sari I. P, 2012). Daun dan rimpangnya mengandung senyawa diosgenin yang berkhasiat sebagai antidiabetes (Eliza J dkk.,2008). Di Asia Selatan tanaman pacing dimanfaatkan menjadi tanaman pangan. Tunas muda, buah dan rimpangnya digunakan sebagai bahan sayuran (G.Sulakshana,2012).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan selama ini, bagian rimpang dari tanaman pacing telah banyak dibahas namun hanya sedikit yang meneliti bagian daunnya terutama potensinya sebagai sumber antioksidan. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari daun pacing.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan beberapa ekstrak daun dari tanaman pacing menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

METODO

LOGI Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Lemari pengering simplisia, alat penggiling simplisia, neraca

elektronik, labu bundar, seperangkat alat distilasi, oven, kompor listrik, mikroskop optik (Olympus), kaca objek, cover glass, spatula, gelas ukur, tabung reaksi, gelas kimia, labu Erlenmeyer, lampu, cawan penguap, krus, kuvet, lampu UV (Camag), spektrofotometer UV-sinar tampak (Hewlett Packard 8435), tanur, hairdryer, dan alat-alat lain yang lazim digunakan di laboratorium.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Serbuk simplisia daun pacing, air suling, kloralhidrat, gliserin, asam klorida, asam sulfat, serbuk magnesium, amil alkohol, anhidrida asetat, asam nitrat pekat, kloroform, metanol, etanol, n-heksana, etil asetat, toluena, kertas saring bebas abu, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, aluminium (III) klorida, besi (III) klorida, natrium hidroksida, pereaksi Liebermann-Burchard, kloroform, metilen klorida, natrium asetat, natrium karbonat, kalium fosfat, asam sitrat, asam borat, asam format, asam sulfat, besi (III) klorida, pelat KLT silika gel GF254, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), asam askorbat, kertas saring, kertas perkamen.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pacing (*Costus speciosus* (Koenig) J.E Smith) dikumpulkan dari kota Tasikmalaya dengan waktu panen pada sore hari.

Prosedur Penelitian

Pengumpulan Bahan

Daun pacing dikumpulkan dalam

keadaan segar tanpa mempertimbangkan umur tanaman.

Determinasi

Determinasi tanaman pacing sebagai bahan baku penelitian dilakukan di Herbarium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Preparasi Bahan

Bahan baku penelitian daun pacing dikumpulkan dalam keadaan segar, kemudian dilakukan sortasi basah, dicuci dengan air mengalir, dikeringkan dengan cara dianginkan, sortasi kering, kemudian daun yang telah kering dibuat serbuk.

Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Daun Pacing

Simplisia daun pacing dikarakterisasi melalui pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik simplisia, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, susut pengeringan, penetapan kadar sari larut air, dan penetapan kadar sari larut etanol.

Penapisan Fitokimia Simplisia Daun Pacing

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh daun pacing. Senyawa metabolit sekunder yang diujikan adalah alkaloid, flavonoid, polifenolat, tanin, steroid, triterpenoid, monoterpen, seskuiterpen, saponin, serta kuinon.

Ekstraksi dan pemekatan Daun Pacing

Serbuk daun pacing yang diperoleh

diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol.

Filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50-60°C hingga terbentuk ekstrak kental. Hitung nilai rendemen dari ekstrak yang diperoleh.

Pemantauan dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pacing Secara Kualitatif

Pemantauan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Uji ini dilakukan dengan cara masing-masing ekstrak daun pacing ditotolkan pada lempeng silika gel GF254, yang selanjutnya dielusi dengan menggunakan fase gerak n-heksana-aseton (8:2) dan diamati dibawah sinar UV λ 254 nm dan λ 366 nm hingga terlihat beberapa bercak yang timbul, serta diidentifikasi menggunakan penampak bercak universal larutan H₂SO₄ 10% dan penampak bercak larutan DPPH 0,2% untuk melihat adanya aktivitas antioksidan secara kualitatif yang ditandai dengan adanya warna kuning pada bercak dan ungu pada pada latar belakang lempeng silika gel GF254 yang dilihat pada sinar tampak.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pacing Secara Kuantitatif

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH bertujuan untuk mengukur kapasitas antioksidan total pada masing-masing ekstrak yaitu ekstrak n-heksana,

etil asetat dan etanol secara spektrofotometri UV- sinar tampak (Blois, 1958).

Absorbansi larutan DPPH yang berisi sampel uji diukur, kemudian dihitung aktivitas antioksidan dengan menghitung persentase peredaman, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004)

Sampel dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 50 µg/mL kemudian ditambah dengan larutan DPPH dengan konsentrasi 50 µg/mL (perbandingan volume 1:1). Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm.

Aktivitas antioksidan diukur sebagai persen penurunan absorbansi DPPH pada sampel uji yang dihitung dengan menggunakan rumus :

$$Q = (100 (A_o - A_s)) / A_o$$

Keterangan :

- Q = Persentase penurunan absorbansi DPPH (%)
- A_o = Absorbansi larutan DPPH
- A_s = Absorbansi larutan DPPH setelah penambahan sampel uji

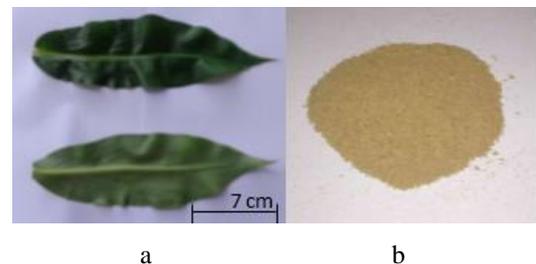
Penetapan IC₅₀ Peredaman Radikal Bebas DPPH

Dibuat enam variasi konsentrasi sampel uji/pembanding, kemudian diambil 2 mL sampel uji/pembanding dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH (perbandingan volume 1:1), diinkubasi selama 30 menit, lalu absorbansi diukur pada λ 516 nm. Untuk menentukan IC₅₀ diperlukan

persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi, dengan persentase peredaman sebagai sumbu y dan konsentrasi antioksidan sebagai sumbu x. IC₅₀ dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan regresi sebagai y, kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC₅₀. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding.

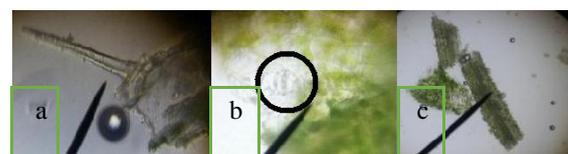
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Simplisia Daun Pacing



Gambar 1 Makroskopik daun pacing a. simplisia daun pacing b. serbuk simplisia daun pacing

Pemeriksaan makroskopik dilakukan untuk mengetahui ciri khas simplisia daun pacing dan serbuk simplisia daun pacing menggunakan panca indera. Pemeriksaan makroskopik meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa daun pacing. Daun pacing segar berbentuk memanjang, ujung meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, mengkilat, permukaan bawah berbulu lembut, berwarna hijau, panjang 8-35 cm, lebar 3-10 cm. Sedangkan serbuk simplisia daun pacing berwarna coklat, berbau menyengat, dan rasa pahit.



Gambar 2 Mikroskopik daun pacing a. rambut penutup (perbesaran 400x), b.

stomata parasitik (perbesaran 400x),
c. serabut sklerenkim (perbesaran
100x)

Tabel 1 Hasil Pengujian Parameter Simplisia
Daun
Pacing

Penetapan	Hasil (%)
Susut Pengerangan	6,00
Kadar Air	6,00
Kadar Sari Larut Air	20,91
Kadar Sari Larut Etanol	8,49
Kadar Abu Total	13,13
Kadar Abu Tidak Larut	
Asam	4,45
Kadar Abu Larut Air	5,19

Hasil Ekstraksi Daun Pacing

Proses ekstraksi ini menghasilkan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol dengan nilai persen rendemen masing-masing adalah 1,98%, 3,34%, dan 9,51%. Banyaknya rendemen ekstrak metanol menunjukkan banyaknya senyawa-senyawa yang ada dalam simplisia daun pacing lebih banyak tertarik oleh pelarut polar.

Hasil Uji Penapisan Fitokimia Daun

Pacing

Berdasarkan data yang ditunjukkan pada Tabel 2, senyawa-senyawa yang memberikan hasil positif pada masing-masing ekstrak yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, serta kuinon merupakan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan (Winarsi, 2011).

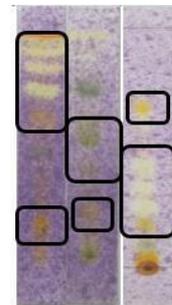
Tabel 2 Hasil Penapisan Fitokimia
Simplisia dan Ekstrak Daun
Pacing

Senyawa	Hasil			
	Simplisia	ekstrak		
		n-heksana	EtAc	MeOH
Alkaloid	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+

Polifenol	+	-	-	+
Tanin	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-
Mono dan Seskuiterpenoid	+	+	+	+
Quinon	+	+	+	+

Hasil Pemantauan Ekstrak Daun Pacing dan Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif

Ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan timbulnya bercak warna kuning dengan latar belakang ungu seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak menggunakan penyemprot DPPH 0,2% a. ekstrak n-heksana, b. ekstrak etil asetat, c. ekstrak metanol

Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pacing secara Kuantitatif

Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun pacing dilakukan terhadap radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Kelebihan menggunakan radikal bebas DPPH antara lain umum digunakan secara in vitro, serta merupakan metode pengukuran antioksidan yang sensitif, sederhana, cepat, dan tidak

membutuhkan banyak reagen (Ozcelik, Lee, dan Min, 2003). Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menghitung nilai IC50 senyawa antioksidan. IC50 didefinisikan sebagai konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC50 maka semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004).

Pada saat ekstrak direaksikan dengan DPPH, larutan DPPH yang berwarna ungu (difenilpikrilhidrazil) akan berubah menjadi kuning (difenilpikrilhidrazin) yang menunjukkan elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004).

Tabel 3 Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Pacing dan Vitamin C

Sampel	C (ppm)	% I	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak n-heksana	20	40,34	$y = 0,0025x + 0,358$ $R^2 = 0,9906$	57,93
	40	45,86		
	60	50,52		
	80	55,00		
	100	61,89		
Ekstrak etil asetat	120	64,14	$y = 0,0009x + 0,3484$ $R^2 = 0,9979$	169,82
	50	39,48		
	100	43,10		
	150	48,62		
	200	52,93		
	250	57,24		
Ekstrak metanol	300	61,38	$y = 0,0016x + 0,3686$ $R^2 = 0,9943$	84,20
	25	40,34		
	50	44,48		
	75	49,65		
	100	52,41		
	125	56,03		
Vitamin C	150	60,17	$y = 9,8446x + 14,504$ $R^2 = 0,9993$	3,60
	1,5	29,17		
	2	34,60		
	2,5	38,77		
	3	44,02		
	3,5	48,91		
	4	53,99		

Keterangan: %I Persen Inhibisi (Persen Peredaman)

Hasil absorbansi uji aktivitas antioksidan ekstrak daun pacing digunakan untuk perhitungan nilai persen inhibisi (% peredaman). Selanjutnya, dibuat regresi linier antara konsentrasi dengan persen Inhibisi. Dari data kurva regresi linier masing-masing ekstrak menunjukkan

bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan persen Inhibisi. Hal ini diperlihatkan dari nilai koefisien korelasi (R²) diatas 0,99. Ini menunjukkan bahwa lebih dari 99% daya inhibisi dipengaruhi oleh konsentrasi sampel, dan kurang dari 1% dipengaruhi

oleh faktor lain. Nilai IC50 diperoleh dari plotting terhadap persamaan regresi linier dengan x sebagai konsentrasi sampel dan y sebagai persen aktivitas antioksidan.

Ekstrak n heksana, etil asetat, dan metanol daun pacing masing-masing memiliki nilai IC50 berturut-turut 57,93; 169,82 dan 84,20 ppm, sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai IC50 8,90 ppm. Menurut Blois (1958), suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC50 antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC50 berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC50 berkisar antara 150-200 ppm. Mengacu pada batasan ini maka dapat dikatakan bahwa ekstrak n heksana dan metanol daun pacing memiliki aktivitas antioksidan kuat, sedangkan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lemah. Ekstrak n heksana memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan dengan ekstrak metanol dan etil asetat.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak simplisia daun pacing (*Costus speciosus* Koenig J.E Smith) dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH dengan nilai IC50 berturut-turut 57,93; 169,82, dan 84,20 ppm, sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki nilai IC50 8,90

ppm. Data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak n heksana dan metanol memiliki aktivitas antioksidan kuat, sedangkan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lemah.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai golongan senyawa dalam simplisia daun pacing (*Costus speciosus* Koenig J.E Smith) yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

A.Sabitha Rani†, G. Sulakshana and Sudeshna Patnaik,2012. Review : *Costus speciosus*, an Antidiabetic Plant. *Fonscientia Journal Pharmacy Research*. Vol.1(3),p 52-53.

Blois, M.S., (1958): Antioxidant Determination by the use of Stable Free radicals, *Nature*,181, 1199-2000

Benson, EE., 1990. Journal : Free Radical Damage in Stored Plant Germplasms. Rome:International Board for Plant Genetic Resources. , Rome, 1-3

Droge W. (2002) : Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, *J Physiological Reviews*, (82), 1, 47-95

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2008) : *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*, Jakarta, Ditjen POM – DepKes RI

Evan W.J.(2000) :Vitamin E, Vitamin C, and Exercise, *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2) 647s-652s

Eliza J, Daisy P, Ignacimuthu

S,2008. *Journal of Health Sciences*, 54(6), 675-681

Kim, D.K., Lee, K.W., Lee, H.J. (2002): Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals, *J Agric Food Chem.*, 50, 3713-7

Molyneux, P. (2003): The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J Sci Tech.*, 26(2), 211-219

Oski, F.A.(1980) :Vitamin E –A Radical defense, *J Med.*, 303, 454-455

P.S Ika, R Siti, M.R Dicky. 2013.

Infusa daun pacing *Costus speciosus* (KOEN) J.E Smith sebagai penghambat jumlah dan kualitas spermatozoa pada mencit jantan balb/c. *Traditional Medicine Journal*. Vol. 18(1), p 59-66.

Silalahi, J. (2001) : Free Radicals and Antioxidant Vitamins in Degenerative Disease. *J Indo Med Assoc.*, II. 1-13

Srivastava, S., Singh, P., Mishra, G., Jha, K.K. & Khosa, R.L., 2011, *Costus speciosus* (Keukand): A review, *Der Pharmacia Sinica* 2 (1): 118-128.

Wahyuningsih, E. 2000. *Zingiberaceae Katalog Tumbuhan Obat di Indonesia*. Jakarta : Unas press.