

AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS EKSTRAK ETANOL BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) DENGAN METODE DPPH

(FREE-RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF KECOMBRANG FLOWERS (*Etilingera elatior*) WITH THE DPPH METHOD)

ELIS SUWARNI^{1*}, KADEK DUWI CAHYADI¹

¹Akademi Farmasi Saraswati Denpasar, Jalan Kamboja No. 11A, Denpasar, Bali

Abstrak: Telah dilakukan uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) dari suku *Zingiberaceae* dengan metode DPPH. Bunga kecombrang dimaserasi dengan bantuan gelombang ultrasonik menggunakan pelarut etanol 80%. Uji aktivitas antiradikal bebas dilakukan menggunakan 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) secara KLT autografi dan spektrofotometri UV-VIS. Hasil pengujian secara KLT autografi menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang memiliki aktivitas antiradikal bebas. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan bersamaan dengan KLT autografi menunjukkan bahwa aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanol bunga kecombrang disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid, terpenoid dan tanin. Hasil pengujian secara spektrofotometri UV-VIS menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang aktif sebagai antiradikal bebas dengan nilai $IC_{50} = 47,82$ ppm. Ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) memiliki aktivitas antiradikal bebas sangat kuat dengan nilai $IC_{50} = 47,82$ ppm yang disebabkan oleh kandungan senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan tanin.

Kata kunci: antiradikal bebas, bunga kecombrang, DPPH

Abstract: Free-radical scavenging activity test of ethanol extract of kecombrang flowers (*Etilingera elatior*) from the *Zingiberaceae* family has been down. Kecombrang flowers macerated with the help of ultrasonic waves using 80% ethanol. Free-radical scavenging activity test was done using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) with TLC-autography and spectrophotometry UV-VIS metode. TLC-autography test result showed that the ethanol extract of kecombrang flowers has a free-radical scavenging activity. Fitochemistry screening result that was done at the same time with TLC-autography showed that free-radical scavenging activity of ethanol extract of kecombrang flowers caused by the content of flavonoid, terpenoid and tannin compounds. Spectrophotometry UV-VIS test result showed that the ethanol extract of kecombrang flowers active as free-radical scavenging with IC_{50} value of 47,82 ppm. Ethanol extract of kecombrang flowers (*Etilingera elatior*) has a very strong free-radical scavenging activity with IC_{50} value of 47,82 ppm caused by the content of flavonoid, terpenoid and tanin compounds.

Keywords: free-radical scavenging, DPPH, kecombrang flowers.

PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif umumnya terjadi akibat kerusakan sel, jaringan lemak, protein, sistem kekebalan, dan DNA yang disebabkan oleh berbagai faktor baik yang terjadi secara alami, akibat terkena radiasi, atau oleh zat-zat kimia yang bersifat karsinogenik. Salah satu teori mengenai penyebab penyakit degeneratif adalah teori reaksi radikal bebas. Menurut teori ini penyebab penyakit degeneratif adalah akibat timbulnya radikal hidroksil dalam mekanisme biokimia yang terjadi di dalam tubuh (Wardatun, 2011).

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan

di orbital terluarnya. Radikal bebas umumnya tidak stabil dan sangat reaktif. Beberapa contoh dari radikal bebas oksigen adalah radikal superoksida, hidroksil, peroksil, alkoksil, dan radikal hidroperoksil. *Nitric oxide* dan nitrogen dioksida termasuk dua contoh radikal bebas nitrogen (Valko *et al.*, 2007).

Salah satu cara pencegahan pembentukan radikal bebas adalah dengan menggunakan nutrisi yang dapat berperan sebagai antiradikal bebas seperti vitamin E, karoten, vitamin C, BHT, BHA, maupun obat-obatan lain yang mampu menangkap molekul radikal bebas. Antiradikal bebas berfungsi untuk melindungi sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh molekul radikal bebas (Ayoola *et*

* email korespondensi: elisuwarni@gmail.com

al., 2008). Pada kadar rendah, antiradikal bebas dapat menghambat terjadinya oksidasi dari komponen di dalam sel semisal protein, lemak, karbohidrat dan DNA (Gupta, 2006).

Dewasa ini perhatian terhadap antiradikal bebas alami dan hubungannya terhadap kesehatan semakin tinggi dan tanaman merupakan sumber antiradikal bebas alami yang sangat potensial. Indonesia sebagai negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki banyak sekali spesies tanaman. Di Indonesia, penggunaan tanaman sebagai *herbal medicine* telah dilakukan oleh masyarakat secara luas sejak dahulu kala dan saat ini pemakaiannya semakin digalakkan untuk tujuan pencegahan, pengobatan suatu penyakit serta meningkatkan daya tahan tubuh. Seiring dengan perkembangan zaman, pemakaian obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang pesat. Saat ini, obat-obatan tradisional yang umumnya berbahan baku tanaman kembali dilirik masyarakat sebagai salah satu alternatif pengobatan, disamping obat-obat modern yang sudah beredar di pasaran.

Sejumlah tanaman dan senyawa yang terkandung di dalamnya telah diketahui menunjukkan beberapa potensi terapi dan sebagiannya dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antiradikal bebas (Huda *et al.*, 2009). Tanaman memproduksi sejumlah komponen antiradikal bebas untuk melawan molekul radikal agar dapat bertahan hidup. Mayoritas aktivitas antiradikal bebas disebabkan oleh adanya kandungan senyawa golongan fenol yang meliputi senyawa fenol sederhana, asam fenolat, flavon, isoflavon, flavonoid, anthocyanin, coumarin tannin, lignan, catechin, dan isocatechin (Khalaf *et al.*, 2008; Almeida, *et al.*, 2011).

Tanaman kecombrang (*Etilingera elatior*) merupakan tanaman dari suku *Zingiberaceae* yang berbentuk semak dengan tinggi 1 – 3 meter. Bagian tanaman yang umum digunakan adalah bunga dan batangnya. Pemanfaatannya adalah sebagai pemberi cita rasa pada masakan, sebagai obat-obatan berkaitan dengan khasiatnya yaitu sebagai penghilang bau badan dan bau mulut (Hidayat dan Hutapea, 1991).

Maimulyanti & Prihadi (2015) melaporkan bahwa bunga kecombrang mengandung senyawa tanin, flavonoid, saponin dan steroid. Hasil analisis senyawa kimia dengan GC-MS menunjukkan adanya 39 senyawa kimia yang terkandung dalam bunga kecombrang dengan komponen utamanya adalah 1-dodecanol (13.82%), dodecanol (12.10%), dan 17-pentatriaconten (10.52%).

Sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etilasetat bunga kecombrang memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut 21,14 dan 68,24 µg/ml.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) dengan metode DPPH yang meliputi dua tahap, yaitu tahap I meliputi skrining fitokimia yang dilakukan bersamaan dengan uji KLT autografi, dan tahap II meliputi pengujian secara spektrofotometri.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) yang diperoleh dari desa Penarukan, Kecamatan Kerambitan, Tabanan yang telah dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “EKA KARYA” Bali. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 80%, kloroform, etilasetat, amonia, metanol p.a, Dragendorff LP, FeCl₃ 1%, Liebermann Burchard LP, dan baku DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrasil) p.a.

Alat. Timbangan analitik, blender, *vacuum rotary evaporator* (HAHN SHIN HS-2005S-N), oven, elmasonik (Elma S 40H Elmasonic), plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), spektrofotometer UV-Vis (MAPADA UV-6100 PC *Double Beam*).

Pembuatan Ekstrak Bunga Kecombrang

Bunga kecombrang segar dipotong-potong, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C. Selanjutnya simplisia bunga kecombrang diblender sehingga diperoleh serbuk halus. Sebanyak ± 50 gram serbuk simplisia ditambah 300 mL etanol 80% dalam wadah gelas, lalu diultrasonik selama 3 x 3 menit. Setiap 3 menit dilakukan pengadukan sebelum diultrasonik kembali. Hasilnya disaring, filtrat ditampung, residu yang didapatkan dimasukkan ke wadah gelas, ditambah 300 mL etanol 80% dan diultrasonik kembali selama 3 x 3 menit, filtrat digabung dengan filtrat pertama. Demikian seterusnya hingga total pelarut etanol 80% yang digunakan sebanyak 900 mL. Selanjutnya, semua filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan diuapkan dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak dengan berat yang konstan.

Uji Aktivitas Antiradikal Bebas secara KLT. Autografi dan Skrining Fitokimia

Uji aktivitas antiradikal bebas secara KLT autografi dilakukan bersamaan dengan skrining fitokimia terhadap golongan senyawa flavonoid, terpenoid dan tanin ekstrak etanol bunga kecombrang.

KLT Autografi

Pada uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanol bunga kecombrang secara KLT autografi, Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian ditotolkan pada pelat KLT sebanyak 5 µL. Pemeriksaan dilakukan menggunakan:

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄ (Merck)

Fase gerak: Kloroform-etil asetat-metanol (3:1:2)

Penampak noda: larutan DPPH 0,2% dalam metanol, setelah disemprot penampak noda tersebut pelat disimpan di tempat yang terlindung cahaya selama 30 menit. Adanya aktivitas antiradikal bebas ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning pada *background* ungu, dilihat dengan sinar tampak.

Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian ditotolkan pada pelat KLT sebanyak 5 µL. Pemeriksaan dilakukan menggunakan:

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄ (Merck).

Fase gerak: Kloroform-etilasetat-metanol (3:1:2).

Penampak noda: H₂SO₄ 10%

Timbulnya noda berwarna kuning di bawah sinar tampak menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid dalam sampel.

Identifikasi Terpenoid/steroid

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian ditotolkan pada pelat KLT sebanyak 5 µL. Pemeriksaan dilakukan menggunakan:

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄ (Merck)

Fase gerak: Kloroform-etil asetat-metanol (3:1:2)

Penampak noda: Pereaksi Libermann Burchard dan pemanasan pelat pada suhu 110 °C selama 10 menit.

Timbulnya noda berwarna merah ungu atau ungu di bawah sinar tampak menunjukkan adanya senyawa golongan terpenoid, dan hijau-biru menunjukkan adanya senyawa golongan steroid dalam sampel.

Identifikasi Tanin

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian ditotolkan pada pelat KLT sebanyak 5 µL. Pemeriksaan dilakukan menggunakan:

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄ (Merck).

Fase gerak: Kloroform-etil asetat-metanol (3:1:2)

Penampak noda: pereaksi FeCl₃ 1%.

Timbulnya noda berwarna hitam di bawah sinar tampak menunjukkan adanya senyawa golongan tanin dalam sampel.

Uji Aktivitas Antiradikal Bebas secara Spektrofotometri UV-VIS

Tahap-tahap yang dilakukan pada uji aktivitas antiradikal bebas secara spektrofotometri adalah:

a. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang Konsentrasi 100 ppm

Sebanyak 10 mg Ekstrak etanol bunga kecombrang dilarutkan dalam 100 mL etanol 95,6%.

b. Pembuatan Sampel Uji

Dibuat 6 sampel uji dengan konsentrasi masing-masing 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Untuk membuat sampel uji tersebut, Dari larutan induk ekstrak etanol bunga kecombrang konsentrasi 100 ppm dipipet masing-masing sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 ml dan ditambahkan etanol 95,6% sampai tanda batas. Kemudian dikocok sampai homogen.

c. Pembuatan Larutan Baku Induk DPPH 100 ppm

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 50 mL etanol 95,6% sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm.

d. Pembuatan Larutan Baku Kerja DPPH 40 ppm

Larutan baku induk DPPH 100 ppm dipipet sebanyak 8 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 20 mL, kemudian ditambah etanol 95,6% sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 40 ppm. Larutan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya.

e. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum larutan Baku Kerja DPPH

Larutan baku kerja DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 4 mL, dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang

gelombang 400 - 800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis yang akan digunakan dalam penelitian. Sebagai blangko digunakan 4 mL etanol 95,6%. Kemudian dibuat kurva antara panjang gelombang (x) dengan absorbansi (y). Dari kurva serapan tersebut, ditentukan panjang gelombang maksimum DPPH.

f. Pengukuran Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH secara Spektrofotometri UV-VIS

Larutan sampel uji dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm masing-masing dipipet sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambah larutan baku kerja DPPH 40 ppm masing – masing sebanyak 2 mL sehingga diperoleh larutan sampel uji yang siap diukur dengan konsentrasi akhir masing-masing adalah 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 ppm. Selanjutnya, dibuat larutan blanko dengan memipet larutan baku kerja DPPH 40 ppm sebanyak 2 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah etanol 95,6% sebanyak 2 mL. Kemudian, semua larutan sampel uji dan blanko masing-masing dihomogenkan, didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, di tempat yang terlindung dari cahaya, lalu diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-VIS.

g. Pengolahan Data

Aktivitas antiradikal bebas sebagai persen peredaman absorbansi DPPH ditentukan menggunakan rumus berikut:

$$= \frac{\% \text{peredaman} \text{ absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Nilai peredaman 0% menunjukkan larutan uji tidak memiliki aktivitas antiradikal bebas, sedangkan nilai peredaman 100% menunjukkan peredaman total. Berdasarkan pengukuran dan data yang diperoleh, dibuat kurva antara konsentrasi sampel dalam satuan ppm (x) dengan % peredaman DPPH (y), kemudian dibuat persamaan regresi linier menggunakan rumus:

$$y = bx + a.$$

$$y = \% \text{ peredaman DPPH}$$

$$x = \text{konsentrasi sampel dalam satuan ppm}$$

Selanjutnya dimasukkan nilai $y = 50\%$ sehingga diperoleh harga *inhibitory concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang memiliki penghambatan absorbansi DPPH sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antiradikal bebas yang semakin tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

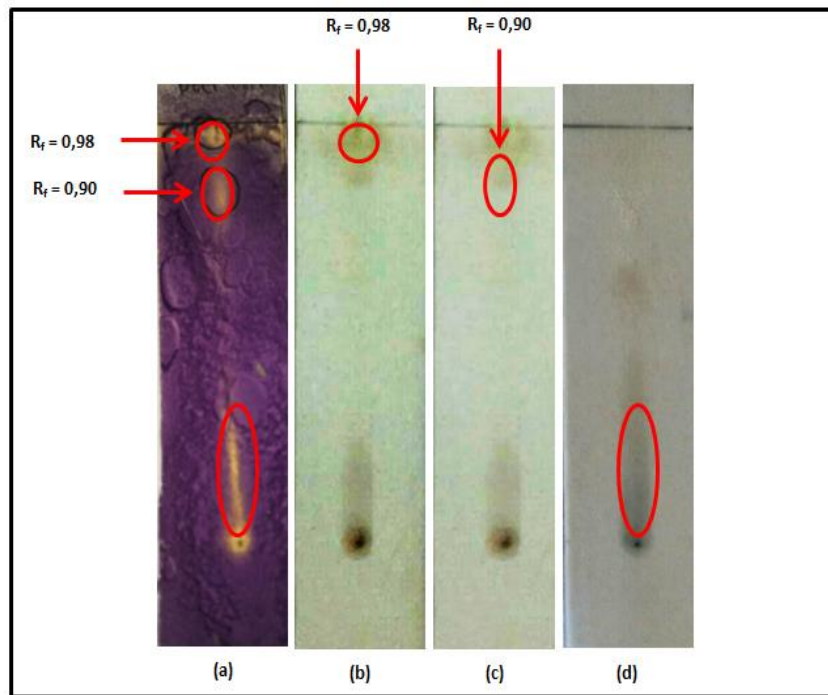
Hasil Ekstraksi Bunga Kecombrang

Ekstraksi bunga kecombrang yang dilakukan secara maserasi dengan bantuan gelombang ultrasonik menggunakan pelarut etanol 80% menghasilkan ekstrak sebanyak 673 mg (rendemen 1,35 %).

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol untuk ekstraksi karena etanol dapat melarutkan dengan baik senyawa golongan polifenol dan flavonoid yang memiliki kemampuan mengikat radikal bebas. Etanol juga dapat melarutkan senyawa baik yang bersifat polar, semipolar, maupun yang nonpolar serta lebih mudah berpenetrasi menembus membran sel untuk menarik komponen yang terkandung di dalamnya. Pelarut etanol yang digunakan adalah etanol 80% dengan pertimbangan kandungan air yang ada dapat menarik lebih banyak senyawa-senyawa yang larut air serta meningkatkan *swelling* dari dinding sel tanaman sehingga senyawa yang terekstraksi menjadi lebih banyak (Tiwari *et al.*, 2011). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan bantuan gelombang ultrasonik. Metode tersebut telah terbukti menjadi metode yang paling efisien berdasarkan hasil, waktu ekstraksi dan selektivitas (Trusheva *et al.*, 2007).

Hasil Uji Aktivitas Antiradikal Bebas secara KLT Autografi dan Skrining Fitokimia

Uji aktivitas antiradikal bebas secara KLT autografi dan skrining fitokimia terhadap golongan senyawa flavonoid, tanin dan terpenoid ekstrak etanol bunga kecombrang dilakukan dalam waktu bersamaan menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄, dan fase gerak Kloroform-etil asetat-metanol (3:1:2). Sistem eluen tersebut digunakan karena lebih banyak memisahkan noda yang beraktivitas anti-radikal bebas dibandingkan sistem eluen lain yang telah diujikan. Hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram hasil KLT autografi dan skrining fitokimia ekstrak etanol bunga kecombrang menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄, dan fase gerak Kloroform-etil asetat-metanol (3:1:2): (a) Uji KLT Autografi, setelah disemprot larutan DPPH 0,2% dalam metanol, dan didiamkan 30 menit pada suhu kamar, ditempat terlindung dari cahaya, dilihat di bawah sinar tampak; (b) Uji senyawa flavonoid, setelah disemprot pereaksi H₂SO₄ 10%, dilihat di bawah sinar tampak; (c) Uji senyawa terpenoid/steroid, setelah disemprot pereaksi Libermann Burchard dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit, dilihat di bawah sinar tampak; (d) Uji senyawa tanin, setelah disemprot pereaksi FeCl₃ 1%, dilihat di bawah sinar tampak.

Dari gambar 1.(a) dapat diketahui bahwa hasil KLT autografi menunjukkan adanya 2 (dua) noda berwarna kuning pada *background* ungu dengan nilai $R_f = 0,98$ dan $0,90$. Selain itu, terdapat satu noda berwarna kuning pada *background* ungu yang bentuknya memanjang (berekor) sehingga tidak dapat ditentukan nilai R_f -nya. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang memiliki aktivitas antiradikal bebas.

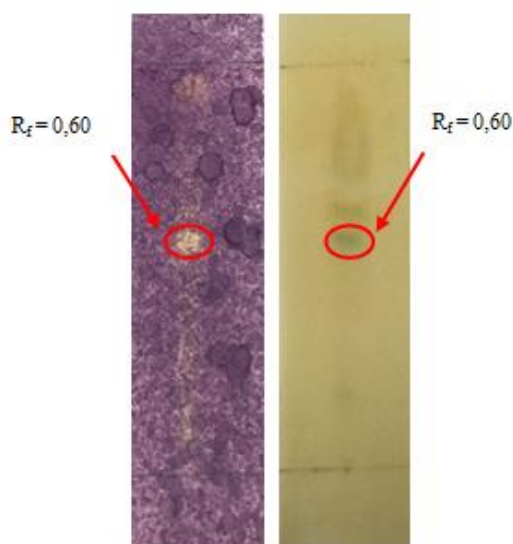
Hasil skrining fitokimia pada gambar 1.(b) menunjukkan bahwa noda dengan nilai $R_f = 0,98$ pada hasil KLT autografi memberikan reaksi positif terhadap senyawa flavonoid, yaitu menunjukkan warna kuning setelah disemprot H₂SO₄ 10%, dilihat di bawah sinar tampak.

Hasil skrining fitokimia pada gambar 1.(c) menunjukkan bahwa noda dengan nilai $R_f = 0,90$ pada hasil KLT autografi memberikan reaksi

positif terhadap senyawa terpenoid/steroid, yaitu menunjukkan warna merah ungu setelah disemprot pereaksi Libermann Burchard dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 10 menit, dilihat di bawah sinar tampak.

Hasil skrining fitokimia pada gambar 1.(d) menunjukkan bahwa noda memanjang (berekor) pada hasil KLT autografi memberikan reaksi positif terhadap senyawa tanin, yaitu menunjukkan warna hitam setelah disemprot pereaksi FeCl₃ 1%, dilihat di bawah sinar tampak.

Untuk mendapatkan pemisahan yang lebih baik, KLT autografi dan skrining fitokimia terhadap senyawa tanin dilakukan lagi dengan sistem eluen yang lain, yaitu (Butanol-Asam asetat-Air (4:1:5)). Kromatogram hasil KLT dapat dilihat pada gambar 2.

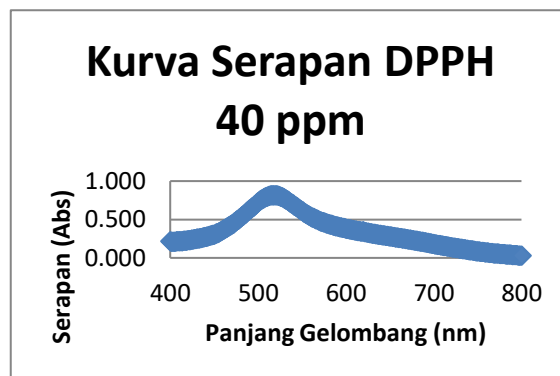


Gambar 2. Kromatogram hasil KLT autofografi dan skrining fitokimia senyawa tanin ekstrak etanol bunga kecombrang menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄, dan fase gerak Butanol - Asam asetat - Air (4:1:5): (a) KLT autofografi, setelah disemprot larutan DPPH 0,2% dalam metanol, dan didiamkan 30 menit ditempat terlindung dari cahaya, dilihat di bawah sinar tampak; (b) Uji senyawa tanin, setelah disemprot pereaksi FeCl₃ 1%, dilihat di bawah sinar tampak .

Dari gambar 2 dapat diketahui bahwa hasil KLT autofografi menunjukkan adanya noda berwarna kuning pada *background* ungu dengan nilai R_f = 0,60. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa noda tersebut memberikan reaksi positif terhadap senyawa tanin, yaitu menunjukkan warna hitam setelah disemprot pereaksi FeCl₃ 1%, dilihat di bawah sinar tampak.

Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Baku Kerja DPPH

Pada penentuan panjang gelombang maksimum DPPH, Larutan DPPH 40 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 - 800 nm. Kemudian dibuat kurva hubungan antara panjang gelombang (x) dengan absorbansi (y) yang dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva Hubungan antara panjang gelombang (x) dengan absorbansi (y) Larutan DPPH 40 ppm.

Dari gambar 3 dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimum DPPH adalah 518 nm.

Hasil Pengukuran Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH secara Spektrofotometer UV-VIS

Larutan sampel uji dengan konsentrasi akhir masing-masing 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 ppm, setelah dihomogenkan, didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar di tempat yang terlindung dari cahaya, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 518 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-30 setelah pencampuran karena berdasarkan literatur, waktu yang dibutuhkan DPPH untuk bereaksi sempurna adalah 15-30 menit (Molyneux, 2003).

Untuk meningkatkan ketelitian, pengukuran aktivitas antiradikal bebas secara spektrofotometri ini dilakukan 2 (dua) kali. Aktivitas antiradikal bebas sebagai persen peredaman absorbansi DPPH ditentukan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{peredaman} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

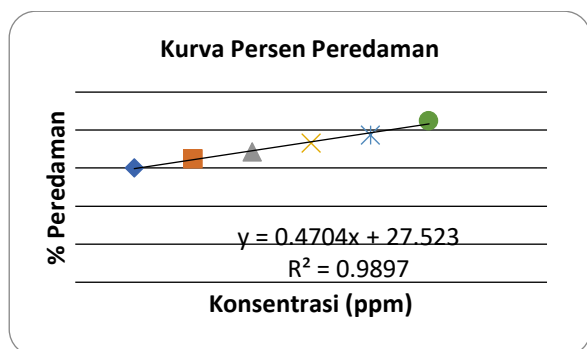
Hasil perhitungan persen peredaman absorbansi DPPH pada 2 (dua) kali pengukuran dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Persen Peredaman DPPH pada Beberapa Konsentrasi Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	% Peredaman DPPH		
	Pengukuran 1	Pengukuran 2	Rata-rata
5	25,47	34,52	29,99
10	29,68	35,15	32,41
15	31,78	36,84	34,31
20	34,94	38,31	36,62
25	38,10	39,15	38,62
30	43,78	40,63	42,20

Dari tabel 1 dapat diketahui bahwa persen peredaman DPPH meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang memiliki aktivitas antiradikal bebas.

Dari nilai presentase peredaman DPPH rata-rata pada masing-masing konsentrasi, selanjutnya dibuat kurva regresi, yaitu kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak(x) dengan persen peredaman DPPH (y), yang dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak (x) dengan persen peredaman DPPH (y).

Dari kurva hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen peredaman di atas didapatkan persamaan regresi $y = 0,470x + 27,52$. Dari persamaan tersebut dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dengan mengganti nilai $y = 50$. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol bunga kecombrang adalah 47,82 ppm.

Tingkat kekuatan antiradikal bebas dengan metode DPPH meliputi: Sangat kuat, jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm; Kuat, jika nilai $IC_{50} = 50-100$ ppm; Sedang, jika nilai $IC_{50} = 100-250$ ppm; dan Lemah, jika nilai $IC_{50} = 250-500$ ppm (Putri dan Hidayat, 2015). Berdasarkan tingkat kekuatan antiradikal

bebas tersebut, maka aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanol bunga kecombrang termasuk dalam tingkat sangat kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) memiliki aktivitas antiradikal bebas sangat kuat dengan nilai $IC_{50} = 47,82$ ppm yang disebabkan oleh kandungan senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, J.R.G.D.S., De Oliveira, M.R., Guimarães, A.L., De Oliveira, A.P., Ribeiro, L.A.D.A., Lúcio, A.S.S.C., And Júnior, L.J.Q. 2011. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol. 2 (4): 367-374.
- Ayoola G.A., Folawewo A.D., Adesegun S.A., Abioro O.O., Adepoju-Bello A.A., Coker, H.A.B. 2008. Phytochemical and antioxidant screening of some plants of Apocynaceae from South West Nigeria. *African Journal of Plant Science*, Vol. 2 (9): 124-128.
- Gupta, V.K., Sharma, S.K. 2006. Plants as Natural Antioxidants. *Natural Product Radiance*, Vol. 5(4): 326-334.
- Hidayat, S. S., Hutapea, J.R., 1991, Inventaris tanaman Obat Indonesia. Edisi I: 440-441.

Badan Penelitian dan Pengembangan
Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Huda-Faujan, N., Noriham, A., Norrakiah, A.S., and Babji, A.S. 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8 (3): 484-489.
- Khalaf, N.A., Shakya, A.K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., Farah, H. 2008. Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk. J. Biol.*, 32: 5155.
- Maimulyanti, A., Prihadi, A. R., 2015, Chemical composition, phytochemical and antioxidant activity from extract of *Etilingera elatior* flower from Indonesia, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(6): 233-238.
- Molyneux, P. 2003. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.
- Putri, A.A.S., dan Hidajati, N., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*), *UNESA Journal of Chemistry* Vol. 4, No.1.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia.*, Vol. 1 (1): 98-106.
- Trusheva, B., Trunkova, D., Bankova, V. 2007. Different Extraction of Biologically Active Components from propolis; a Preliminary Study. In: *Chemistry Central Journal*. Vol 1 issue 13.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
- Wardatun, Sri. 2011. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar, kulit batang dan daun tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) dengan metode linoleat – tiosianat. *Fitofarmaka*, Vol. 1 No.2: 9-13.