



Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe* var *Rubrum*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat)

Rissa Laila Vifta[✉]¹, Restu Tutut Rahayu¹, Fania Putri Luhurningtyas¹

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo
Jalan Diponegoro, Gedanganak, Mijen, Semarang

Info Artikel

Diterima Agustus 2019

Disetujui Oktober 2019

Dipublikasikan November 2019

Keywords:

antioksidan

Medinilla speciosa Blume

Zingiber officinale Roscoe var.

Rubrum

ABTS

Abstrak

Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale Roscoe* var *Rubrum*) telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Buah parijoto memiliki kandungan senyawa flavonoid sedangkan rimpang jahe merah memiliki kandungan metabolit sekunder seperti gingerol, shogaol, dan flavonoid yang bersifat antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis aktivitas antioksidan melalui nilai IC_{50} serta kategori antioksidan kombinasi ekstrak buah parijoto dan rimpang jahe dengan metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). Aktivitas antioksidan diuji dengan metode ABTS pada seri konsentrasi 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Prinsip dari metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat) yaitu penghilangan warna kation ABTS dengan mengukur kapasitas antioksidan yang bereaksi langsung dengan radikal ABTS. Perbandingan kombinasi ekstrak buah parijoto dan rimpang jahe merah yang digunakan adalah 1:0, 1:1, 2:1, 1:2, 0:1. Hasil uji aktivitas antioksidan dari setiap kombinasi ekstrak buah parijoto:jahe merah dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah 19,73; 21,53; 16,48; 22,48 dan 25,27 ppm dengan kategori sangat kuat. Aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh buah parijoto dan rimpang jahe merah perbandingan 2:1, dengan nilai IC_{50} 16,48 ppm. Kombinasi ekstrak memberikan efek sinergisme dalam meningkatkan aktivitas antioksidan dan menghasilkan nilai IC_{50} lebih baik dibandingkan penggunaan tunggal.

Abstract

Medinilla speciosa and *Zingiber officinale* known to have antioxidant activities. *Medinilla speciosa* Blume contain high flavonoid compound while red ginger contains secondary metabolites such as gingerol, shogaol, and flavonoid are antioxidant. This research was conducted to analyze antioxidant activity through IC_{50} values and antioxidant category combination of extract of *Medinilla speciosa* and *Zingiber officinale* var *Rubrum* using ABTS method. Antioxidant activity was tested by the ABTS method in the concentration series 10, 15, 20, 25, and 30 ppm with UV-Vis spectrophotometry. The principle of the ABTS method is the removal of cation ABTS by measuring antioxidant capacity which directly react to ABTS radicals. Comparison of combinations of Parijoto extract and Red Ginger used was 1:0, 1:1, 2:1, 1:2, 0:1. The result of antioxidant activity from each combination of parijoto : red ginger obtained IC_{50} values 19.73, 21.53, 16.48, 22.48, and 25.27 ppm in very high level category. The highest antioxidant activity was shown by a combination of parijoto and red ginger at ratio of 2:1, with IC_{50} value 16.48 ppm. The combination of extracts gives synergism effect to improve antioxidant activity and IC_{50} value better than single usage.

© 2019 Universitas Negeri Semarang

[✉] Alamat korespondensi:
Jalan Diponegoro 186, Gedanganak, Ungaran
E-mail: rissa_laila@yahoo.co.id

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya reaktif dan sangat tidak stabil dimana elektron pada orbital terluarnya tidak memiliki pasangan, sehingga akan lebih mudah bereaksi dengan molekul di sekitarnya dan mengakibatkan kerusakan sel (Sari and Nugroho, 2015). Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes, dan penyakit hati. Antioksidan merupakan spesi yang mampu menangkal atau meredam radikal bebas serta mencegah terjadinya kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga terbentuk spesi baru yang sifatnya kurang reaktif (Miksusanti and Elvita, 2012).

Beberapa antioksidan alami yang dapat ditemukan pada tanaman antara lain berasal dari golongan polifenol, vitamin C, vitamin E, beta karoten dan flavonoid (Erviana *et al.*, 2016). Tanaman yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan adalah buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*). Beberapa penelitian tentang antioksidan tanaman kombinasi telah dilakukan seperti daun sirsak dan kulit buah manggis (Puspitasari *et al.*, 2015), daun stroberi (Widyastuti *et al.*, 2016), buah tomat (Pratama *et al.*, 2015), dan kayu secang (Setiawan *et al.*, 2018).

Ekstrak buah parijoto dan rimpang jahe merah dilakukan tahap purifikasi untuk mendapatkan ekstrak dengan kandungan senyawa aktif yang tinggi dan flavonoid yang lebih murni (Lestari *et al.*, 2015). Purifikasi juga untuk menjaga beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak yang memiliki efek sinergis. Pada beberapa kasus, komponen kimia yang telah dipurifikasi atau diisolasi mengalami penurunan aktifitas farmakologis, sehingga diperlukan teknik pemilihan pelarut serta metode purifikasi yang sesuai yang dapat melindungi fungsi farmakologis senyawa bahan alam (Warditiani *et al.*, 2011).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti akan membandingkan aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak terpurifikasi buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) terhadap ekstrak tunggalnya. Pengujian antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas ABTS atau asam 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat). Prinsip pengujian dengan metode ABTS adalah mengukur daya antioksidan terhadap radikal bebas ABTS yang ditandai dengan penurunan intensitas warna dari radikal ABTS tersebut.

Metode

Seperangkat alat ekstraksi dengan metode maserasi, batang pengaduk, kertas saring, corong kaca, erlenmeyer, gelas ukur, neraca analitik OHAUS, *rotary evaporator* RE 100-Pro, *waterbath* Memmert dan corong pisah. Alat untuk uji *in vitro* meliputi labu takar, tabung reaksi, mikropipet (BioHit 1000L), pipet ukur, spatula, vial, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV Mini 1240), chamber kromatografi. Bahan uji dalam penelitian ini adalah buah parijoto dan rimpang jahe merah, etanol 96%, *n*-heksan, metanol, *n*-butanol, asam asetat dari *Merck*[®], toluen, etil asetat, ABTS, K₂S₂O₈, dan kuersetin dari *Sigma Aldrich*[®], dan aquades dari CV. *Bratachem*[®].

Tahapan penelitian meliputi pembuatan ekstrak buah parijoto dan rimpang jahe merah, purifikasi ekstrak, identifikasi flavonoid dengan KLT, serta pengujian aktifitas antioksidan. Uji aktifitas antioksidan dilakukan menggunakan metode ABTS (2,2 Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). Kombinasi buah parijoto dan rimpang jahe merah dibuat dengan perbandingan 1:0, 1:1, 2:1, 1:2, 0:1. Masing-masing perbandingan dibuat seri konsentrasi dan diukur pada panjang gelombang serta *operating time* yang telah diperoleh. Aktifitas antioksidan kombinasi buah parijoto dan rimpang jahe merah dinyatakan dalam nilai IC₅₀.

Hasil dan Pembahasan

Hasil sortasi diperoleh simplisia buah parijoto sebanyak 400 g dan rimpang jahe merah 800 g. Kedua simplisia diserbuk dengan tujuan meningkatkan luas permukaan simplisia, sehingga mempermudah cairan penyari untuk melarutkan senyawa aktif yang terkandung di dalam kedua simplisia tersebut. Hasil ekstrak yang didapatkan setelah dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 78°C dan diuapkan dengan water bath yaitu pada buah parijoto sebanyak 31,14 gram dengan rendemen sebesar 10,03% sedangkan ekstrak rimpang jahe merah sebanyak 53,69 gram dengan rendemen sebesar 17,89% sesuai yang ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil yang diperoleh sudah sesuai dengan ketentuan rendemen yang baik yaitu memiliki nilai lebih dari 10% dari berat (Septiana and Ansani, 2016). Penggunaan suhu 78°C yaitu disesuaikan dengan suhu pelarut yang digunakan yaitu etanol yang memiliki titik didih 78-79°C.

Tabel 1. Rendemen ekstrak

Simplisia	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%) b/b
Buah parijoto	300	31,143	10,03
Jahe merah	300	53,694	17,89

Purifikasi buah parijoto dan rimpang jahe merah dilakukan menggunakan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut non-polar yang diharapkan mampu menarik senyawa non metabolit sekunder yang bersifat non polar pada kedua ekstrak (Suryani, 2017). Hasil purifikasi pada Tabel 2 dan 3 menunjukkan bahwa bobot ekstrak yang telah dipurifikasi sebanyak 10 g dengan rendemen buah parijoto sebesar 64,8 % (b/b) dan ekstrak purifikasi rimpang jahe merah diperoleh 10 g dengan rendemen sebesar 82,3 % (b/b).

Tabel 2. Rendemen hasil purifikasi buah parijoto

Ekstrak	Sebelum purifikasi	Setelah purifikasi	Rendemen (%) b/b	Rerata rendemen (%) b/b
Replikasi 1	10 g	6,39 g	63,9	64,8
Replikasi 2	10 g	6,57 g	65,7	

Tabel 3. Rendemen hasil purifikasi rimpang jahe merah

Ekstrak	Sebelum purifikasi	Setelah purifikasi	Rendemen (%) b/b	Rerata rendemen (%) b/b
Replikasi 1	10 g	8,24 g	82,4	82,3
Replikasi 2	10 g	8,11 g	81,1	
Replikasi 3	10 g	8,35 g	83,5	

Uji KLT senyawa flavonoid ekstrak buah parijoto menggunakan fase gerak *n*-butanol : asam asetat glasial : air (7 : 0,5 : 0,5) (Nuari *et al.*, 2017) dan ekstrak rimpang jahe merah menggunakan toluen : etil asetat (7 : 3) (Nuro, 2015). Pemilihan fase gerak pada uji KLT didasarkan pada sifat kepolaran dari senyawa yang terkandung pada masing-masing ekstrak. Perbandingan dan jenis fase gerak berbeda pada kedua ekstrak, hal ini dilakukan dengan pertimbangan bahwa senyawa aktif pada ekstrak cenderung relatif polar atau non polar sehingga kesesuaian sifat antara fase gerak dan ekstrak dapat memberikan pemisahan bercak yang optimal. Hal sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Megawati *et al.* (2014), bahwa penggunaan fase gerak dengan perbandingan dan kepolaran yang berbeda dapat memberikan profil bercak yang jelas.

Hasil pengujian menggunakan KLT diperoleh bercak berwarna kuning setelah pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dan berwarna biru di bawah sinar UV 366 nm, sehingga dapat disimpulkan secara kualitatif bahwa kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid. Nilai Rf pada Tabel 4 mempertegas kandungan flavonoid buah parijoto yaitu pada Rf 0,92; 0,84; 0,74; dan 0,22 dengan jenis flavonoid yaitu 0,92 (dihidrokhalkon); 0,84 (kaemferol); 0,74 (isoramnetin); 0,22 (antosianidin). Nilai Rf pada rimpang jahe merah yaitu yaitu 0,84; 0,74; 0,72; 0,54 dan 0,28. Jenis flavonoid berdasarkan nilai Rf yaitu 0,84 (kaemferol); 0,74 (khalkon); 0,72 (khalkon); 0,54 (gingerol) 0,28 (shogaol).

Tabel 4. Nilai Rf Ekstrak kasar dan terpurifikasi buah parijoto (I) dan rimpang jahe merah (II)

Sampel	Spot	Nilai Rf	Warna spot	Jenis flavonoid
BAA (7: 0,5: 0,5) Ekstrak kasar	1	0,92	Kuning lemah	Dihidrokhalkon
	2	0,84	Coklat gelap	Kemferol
	3	0,74	Coklat merah	Isoramnetin
	4	0,22	Merah padam	Antosianidin
Ekstrak purifikasi	1	0,84	Kuning lemah	Kemferol
	2	0,74	Coklat gelap	Isoramnetin
	3	0,22	Merah padam	Antosianidin
Toluene:etilasetat (7 : 3) Ekstrak kasar	1	0,84	Kuning terang	Flavonol
	2	0,76	Kuning terang	Khalkon
	3	0,74	Kuning terang	Khalkon
	4	0,54	Kuning lemah	-
	5	0,28	Tak berwarna	-
Ekstrak purifikasi	1	0,84	Kuning lemah	Flavonol
	2	0,76	Kuning lemah	Khalkon
	3	0,28	Tak berwarna	-

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum dilakukan untuk mengukur absorbansi senyawa pada daerah visibel, sehingga diperoleh serapan yang maksimum. Blanko yang digunakan adalah metanol sebagai faktor koreksi. Panjang gelombang (λ) maksimum yang diperoleh pada penelitian ini adalah 739,80 nm. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Fitriana *et al.*, 2015) didapatkan panjang gelombang maksimal ABTS sebesar 734 nm sehingga tidak berbeda jauh dengan hasil panjang gelombang yang telah didapatkan.

Penentuan *operating time* atau waktu operasional dilakukan untuk menentukan waktu sepenuhnya reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi penurunan absorbansi. Hasil pengukuran *operating time* didapatkan absorbansi stabil mulai menit ke-14, sehingga pada penelitian ini menggunakan *operating time* selama 14 menit. Pemilihan *operating time* pada menit ke-14 karena menit waktu tersebut menunjukkan waktu pertama mulai stabilnya absorbansi (Mistriyani *et al.*, 2018).

Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak buah pari-joto dan rimpang jahe merah dengan menggunakan metode ABTS (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). Pengujian dilakukan berdasarkan kemampuan dalam mereduksi atau meredam radikal bebas ABTS yang ditandai dengan berkurangnya intensitas warna biru dari larutan ABTS yang telah ditambahkan dalam sampel (Imrawati *et al.*, 2018).

Tabel 5. Aktivitas antioksidan ekstrak tunggal dan kombinasi

Perlakuan	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Parijoto tunggal	19,73
Jahe Merah tunggal	25,27
Kombinasi 1:1	21,53
Kombinasi 2:1	16,48
Kombinasi 1:2	22,53

Aktivitas penangkapan radikal bebas ABTS dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan atau sampel yang mampu mereduksi radikal ABTS sebesar 50% atau merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat suatu proses oksidasi 50% (Fitirana *et al.*, 2016; Lestari *et al.*, 2015). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas penangkapan radikal ABTS, sebaliknya nilai IC₅₀ yang tinggi maka aktivitas penangkapan radikal ABTS semakin kecil.

Berdasarkan hasil aktivitas antioksidan buah pari-joto dan rimpang jahe merah pada Tabel 5 diperoleh nilai IC₅₀ pada masing-masing kombinasi ekstrak buah pari-joto dan rimpang jahe merah diperoleh pada perbandingan (1:0) yaitu sebesar 19,73 ppm, perbandingan (0:1) sebesar 25,27 ppm, perbandingan (1:1) sebesar 21,53 ppm, perbandingan (2:1) sebesar 16,48 ppm, perbandingan (1:2) sebesar 22,53 ppm mL dan kontrol positif pada kuersetin sebesar 1,20 ppm. Artinya pada konsentrasi tersebut larutan uji dapat meredam radikal ABTS sebesar 50%. Aktivitas antioksidan dari semua seri perbandingan kombinasi tersebut termasuk kategori sangat kuat karena memiliki IC₅₀ kurang dari 50 ppm.

Simpulan

Kombinasi ekstrak buah pari-joto dan rimpang jahe merah memiliki peningkatan aktivitas antioksidan dengan metode ABTS. Hasil aktivitas antioksidan pada ekstrak kombinasi buah pari-joto dan rimpang jahe merah dengan metode ABTS pada perbandingan (1:0) sebesar 19,73 ppm, perbandingan (1:1) sebesar 21,53 ppm, perbandingan (1:2) sebesar 22,48 ppm, perbandingan (0:1) sebesar 25,27 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Program Studi Farmasi serta Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Ngudi Waluyo yang telah memberikan kesempatan dalam penelitian ini sehingga terlaksana dengan baik dan lancar.

Daftar Pustaka

- Erviana, L., Malik, A., & Najib, A. 2016. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2): 164-168
- Fitriana, W.D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. 2016. Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(3): 297-301
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., & Ersam, T. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Symposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains*. Bandung. 657-60
- Imrawati, I., Mus, S., Gani, S.A., & Bubua, K.I. 2018. Antioxidant Activity of *Muntingia calabura* L. Leaves Ethyl Acetate Fraction. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(2)
- Lestari, A.B.S., Fudholi, A., Nugroho, A.K., & Setyowati, E.P. 2015. The effect of Simplex Powder *n*-Hexane Purification on Asiaticoside Content, Free Radical Scavenging and Total Phenolic Content of Gotu Kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) Ethanolic Extract. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(1): 10-16

- Megawati, R.C., Musa, W.J., & Sihaloho, M. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak Kental Metanol Buah Pare (*Momordica charantia* L). *KIM Fakultas Matematika dan IPA*, 2(2)
- Miksusanti, M., & Elfita, E. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Penelitian Sains*, 15(2)
- Mistriyani, Riyanto, S., dan Rohman. 2018. Antioxidant Activities of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) Peel in vitro. *Food Research*, 2(1): 119–123
- Nuro, W.L. 2015. Formulasi Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Rosc. Var. Rubrum) Menggunakan Span 60 dan Uji Efektivitas terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 3(1)
- Pratama, M., Baits, M., & Yaqin, R.N. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tomat Buah (*Lycopersicon esculentum* Mill, var. pyriforme Alef) dan Daun Tomat Sayur (*Lycopersicon esculentum* Mill, var. commune Bailey) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1)
- Puspitasari, M.L., Wulansari, T.V., Widyaningsih, T.D., Maligan, J.M., & Nugrahini, N.I.P. 2015. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1)
- Sari, K.R.P., & Nugroho, A.E. 2015. Effect of Herbal Combination of *Andrographis paniculata* (Burm. f) Ness and *Gynura procumbens* (Lour.) Merr Ethanolic Extracts in Alloxan-Induced Hyperglycemic Rats. *International Food Research Journal*, 22(4): 1332-1337
- Septiana, A.T., & Asnani, A. 2016. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*, 6(1): 22-28
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2): 82-89
- Suryani, S. 2017. Formulasi dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Terpurifikasi Daun Paliasa (*Kleinhovia Hospita* L.) yang Berefek Antioksidan. *Pharmakon*, 6(3)
- Warditiani, N.K., Widjaja, I.N.K., & Noviyanti, N.W. 2014. Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness Menggunakan Metode Purifikasi dan Kristalisasi. *Jurnal Farmasi Udayana*, 31-34
- Widyastuti, W., Kusuma, A.E., Nurlaili, N., & Sukmawati, F. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Stroberi (*Fragaria x ananassa* AN Duchesne). *JSFK (Jurnal Sains Farmasi & Klinis)*, 3(1): 19-24