

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL AKAR SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Ness.) DENGAN METODE DPPH

Yuri Pratiwi Utami<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bagian Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar

Email : [yuriutami88@gmail.com](mailto:yuriutami88@gmail.com)

### Abstract

Antioxidants are compounds that can inhibit free radical reactions in the body. One of Indonesia's traditional medicinal plants that have antioxidant activity is sambiloto (*Andrographis paniculata* (Brum) Ness.). This study aimed to examine the antioxidant activity of the extract of bitter root (*A. paniculata* (Brum) Ness.). The ethanol extract was obtained by extracting the bitter root powder by maceration for 3x24 hours and remaceration for 2x24 hours. The resulting extract is a thick blackish brown extract and has a distinctive odor with a percentage yield of 6.67%. Antioxidant activity was measured by reducing DPPH free radicals with UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 517 nm. The results showed that sambiloto root extract had very strong antioxidant activity with an IC<sub>50</sub>16,634 g/mL value against DPPH free radicals.

**Keywords** : Bitter root, antioxidant, DPPH

### Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Salah satu tumbuhan obat tradisional Indonesia yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* (Brum) Ness.). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak akar sambiloto (*A. paniculata* (Brum) Ness.). Ekstrak etanol diperoleh dengan mengekstraksi serbuk akar sambiloto dengan cara maserasi selama 3x24 jam dan dilakukan remaserasi kembali selama 2x24 jam. Ekstrak yang dihasilkan merupakan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dan bau khas dengan persen rendamen sebesar 6,67 %. Aktivitas antioksidan diukur melalui peredaman radikal bebas DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil Penelitian menunjukkan ekstrak akar sambiloto yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC<sub>50</sub>16,634 µg/mL terhadap radikal bebas DPPH.

**Kata Kunci** : Akar sambiloto, antioksidan, DPPH

### PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara disekitarnya. Sumber radikal bebas eksternal yang berasal dari luar tubuh manusia yaitu merokok, polusi lingkungan, radiasi, bahan kimia, sinar UV, ozon, beberapa jenis obat, pestisida, serta anestesi. Kadar radikal bebas yang berlebihan tersebut menjadi pemicu terjadinya berbagai penyakit dan kondisi degeneratif. Kondisi degeneratif yang dipicu sinar UV terhadap kulit seperti, penuaan dini, kerutan, eritema, kanker kulit, dan lain-lain (1).

Zat antioksidan dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dihambat. Antioksidan dapat bekerja dengan cara mengatasi efek-efek kerusakan pada kulit manusia yang diakibatkan oleh radikal bebas yang merupakan factor utama pada proses penuaan (*aging*) dan kerusakan jaringan kulit(2).

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat yaitu tanaman sambiloto(*Andrographis paniculata* (Brum) Ness.). Sambiloto adalah salah satu jenis tanaman yang mengandung senyawa aktif dan sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat. Salah satu manfaat sambiloto yaitu memiliki aktivitas sebagai antioksidan (3). Bagian tanaman yang banyak dimanfaatkan dimasyarakat secara empiris yaitu

akar. Kegunaan akar sambiloto yaitu sebagai antimikroba, antifungi, antihipertensi, antiinflamasi, analgesic, antipiretik, dan antialergi (4).

Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa flavonoid, fenol, polifenol, kurkuminoid dan tanin (5). Kandungan kimia akar sambiloto diantaranya yaitu senyawa flavanoid (6). Ekstrak akar sambiloto mengandung flavanoid, polimetok-siflavon, androrafi, panikulin, mono-O-metilwithin dan apigenin-7,4 dimetileter yang mempunyai khasiat sebagai antioksidan (7). Isolasi senyawa ekstrak akar sambiloto telah dilakukan dan menghasilkan  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, 5,2'-dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone, *trans*-cinnamat, esters rantai panjang dan  $\beta$ -sitosteryl fatty acid esters (8). Senyawa flavanoid yang terkandung dalam tanaman diketahui mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan mekanisme penangkalan radikal dengan cara meyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga mengurangi jumlah radikal bebas (9,10).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wardatun, 2011 menunjukkan bahwa daya antioksidan terbesar terdapat pada ekstrak akar sambiloto menggunakan metode Linoleat-Tiosianat dengan vitamin E sebagai kontrol positif, pada konsentrasi 0,25% sebesar 79,37% (11). Sedangkan pada penelitian ini menguji aktivitas antioksidan akar sambiloto dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap (12). Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto (*Andrographis paniculata*(Burm.F.) Ness.) dengan metode DPPH. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam penggunaan akar sambiloto sebagai antioksidan.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, *rotary Vacum Evaporator* dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu). Bahan yang digunakan yaitu akar sambiloto, aquadest, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-*

*picrylhydrazyl*), etanol 70%, etanol p.a, dan vitamin C.

### Penyiapan Simplisia

Sampel akar sambiloto diambil di Pomalaa, Sulawesi Tenggara dan dilakukan determinasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dengan hasil identifikasi/determinasi yaitu *Andrographis paniculata* (Burm.f) Ness.

Tahapan pengolahan sampel hingga menjadi simplisia yaitu pengumpulan bahan baku, akar sambiloto diambil dengan cara tanaman sambiloto dipotong dengan ukuran tertentu dari bawah permukaan tanah, setelah sampel diambil dilakukan pencucian, kemudian dilakukan sortasi basah, lalu dilakukan perajangan, selanjutnya pengeringan dilakukan dengan panas sinar matahari, kemudian disortai kering. Selanjutnya diserbukkan (13).

### Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan 150 g serbuk akar sambiloto, dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 1 L, menggunakan bejana tertutup sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 3x24 jam, kemudian disaring dengan kertas saring diambi filtratnya, kemudian dilakukan remaserasi 2x24 jam dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L, sampai filtrat berwarna jernih. Kemudian filtrat dari maserasi dan remaserasi dikumpulkan kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotavapor pada suhu 60°C/CC hingga diperoleh ekstrak kental (14,15).

### Uji aktivitas antioksidan ekstrak akar sambiloto

#### Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 0,004 gram, kemudian dilarutkan dalam metanol dan dicukupkan volumenya hingga 25 ml dengan metanol p.a hingga volume 25 mL dalam labu ukur. Larutan stok sebanyak 1.000 ppm disiapkan dengan cara menimbang ekstrak akar sambiloto sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan lalu dicukupkan volume sampai 10 mL dalam labu ukur (16).

#### Pembuatan Larutan Ekstrak akar Sambiloto

Larutan stok dibuat sebanyak 1000 ppm, ~~disiapkan~~ dengan cara ditimbang ekstrak akar sambiloto sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan lalu dicukupkan

volumenya sampai 10 ml dalam labu tentukur (16).

#### **Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Sambiloto**

Dibuat variasi konsentrasi 5, 15, 25, 35, dan 45 ppm. Tiap konsentrasi dipipet masing-masing 25, 75, 125, 175, dan 225  $\mu\text{L}$  ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan 1 mL DPPH, dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 mL. Campuran dihomogenkan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap konsentrasi sampel (16).

#### **Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C**

Larutan stok vitamin C 100 ppm disiapkan dengan cara ditimbang vitamin C sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a, volume akhir dicukupkan hingga 10 ml dalam labu tentukur.

#### **Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C**

Dibuat variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Tiap konsentrasi dipipet masing-masing 200  $\mu\text{l}$ , 400  $\mu\text{l}$ , 600  $\mu\text{l}$ , 800  $\mu\text{l}$ , dan 1000  $\mu\text{l}$  kedalam labu tentukur kemudian ditambahkan 1 ml DPPH, dicukupkan volumenya dengan methanol p.a hingga 5 ml. Campuran dihomogenkan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap konsentrasi sampel.

Presentasi inhibisi yaitu presentasi yang menunjukkan aktivitas radikal tersebut, presentasi inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang didapat diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear  $y = a + bx$ . Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai  $\text{IC}_{50}$  dari masing-masing sampel (16).

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol akar sambiloto sebagai antioksidan. Penelitian ini menggunakan

sampel akar sambiloto yang mengandung flavanoid, polimetok-siflavon, androrafi, panikulin, mono-O-metilwithin dan apigenin-7,4 dimetileter yang mempunyai khasiat sebagai antioksidan (11,17).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto dengan menggunakan DPPH. Prinsip dari uji adalah adanya donasi atom hydrogen dari substansi yang diujikan pada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenil pikril hidrazil yang ditandai dengan adanya perubahan warna. Perubahan warna yang akan terjadi adalah perubahan warna dari larutan berwarna ungu menjadi warna kuning (12). Selain itu, pengerjaannya juga mudah, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman menggunakan DPPH secara spektrofotometer (18) dan metode ini hanya digunakan untuk menguji senyawa-senyawa antioksidan yang larut dalam pelarut organik khususnya alkohol (12).

Pengamatan terhadap intensitas warna pada penelitian ini dilakukan pada konsentrasi ekstrak akar sambiloto yang berbeda beda yaitu 5, 15, 25, 35, dan 45 ppm yang bertujuan untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH.

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan parameter  $\text{IC}_{50}$  (*inhibition concentration*) untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode uji menggunakan DPPH.  $\text{IC}_{50}$  merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) (19). Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto menggunakan metode DPPH, diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  adalah  $16,634 \mu\text{g/mL}$  dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif dengan nilai rata-rata  $\text{IC}_{50}$  adalah  $4,731 \mu\text{g/mL}$ . Walaupun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C, namun efeknya tergolong antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai  $\text{IC}_{50}$  yang diperoleh. Jika nilai  $\text{IC}_{50}$  suatu ekstrak berada  $< 50$  ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (12). Hasil pengujian aktivitas vitamin C terlampir pada tabel.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto termasuk kategori sangat kuat. Hal ini diduga karena kandungan senyawa yang terkandung dalam tanaman tersebut berupa flavanoid. Pernyataan ini dipertegas oleh penelitian Sandrasari (2008) (20), senyawa fenolik berupa flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas flavonoid sangat bergantung terhadap jumlah dan lokasi gugus – OH dimana dalam hal ini berperan dalam menetralkan radikal bebas. Kemampuan flavonoid dalam menekan radikal bebas pun berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron.

### KESIMPULAN

Ekstrak akar sambiloto memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu 16,634  $\mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan sangat kuat.

### DAFTAR PUSTAKA

- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Muliawati, E.S. 2002. Kajian Tingkat Serapan Hara, Pertumbuhan dan Produksi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) pada Beberapa Komposisi Media Tanam dan Tingkat Penyiraman. Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik APINMAP. Bogor.
- Widyawati, Tri. 2007. "Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)." Majalah Kedokteran Nusantara Volume 40 Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Leswara, D. dan N. Katrin. 1998. Perbandingan Daya Antioksidan Beberapa Jenis Benalu Menggunakan Metode Spektrofotometri. Warta Tumbuhan Obat. Jakarta. Vol 4. Hal 10-12.
- Yuniarti, T. 2008. Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional, Cetakan Pertama MedPress, Yogyakarta.
- Prapanza, E. & Marianto, L.M. 2003. Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Tan, M.C., Oyong, G.G., Shen, C.C. dan Ragansa, C.Y., 2016. Chemical Constituents of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 8(8); 1398-1402. www.ijppr.com
- Pokorny, J., N. Yanishleva, and M. Gordon. 2001. Antioxidant in Food. Woodhead Publishing Ltd. England.
- Wardatun Sri. 2011. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Dengan Metode Linoleat – Tiosianat". Bogor : Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan.
- Molyneux, P., 2004, The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioksidan Activity, Songklanakarin J. Sci. Technol.
- Marinova G dan Batchvarov V., 2011, "Evaluation of Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by DPPH", Bulgarian Journal of Agricultural Science, 17 ( No 1 ), 11-24, Institute of Cryobiology and Food Technologies, BG – 1407 Sofia, Bulgaria..