

MEDICINAL PLANTS  
LOGANIACEAE

KFB  
KK-2B  
GTS. 323 93  
Hat  
P



LAPORAN PENELITIAN  
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
TAHUN ANGGARAN 2002

## PENELITIAN EKSTRAK METANOL FAGRAEA AURICULATA DAN FAGRAEA CEILANICA DALAM KAITAN AKTIFITAS ANTIRADIKAL BEBAS

Peneliti:

**Drs. ACHMAD FUAD HAFID, MS., Apt.**



### **LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2002

S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 4879/J03/PG/2001

Tanggal 7 Juni 2002

Nomor Urut: 08

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**Nopember, 2002**



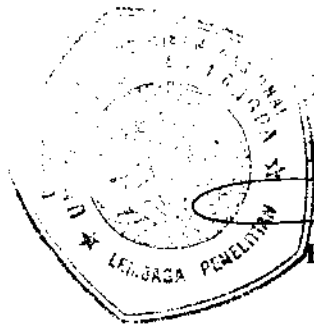
1. Puslit Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
7. Puslit Olah Raga
8. Puslit Bioenergi
9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066  
E-mail : ipunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

### IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. Judul Penelitian : Penelitian Ekstrak Metanol *Fagraea Auriculata* Dan *Fagraea Ceilanica* Dalam Kaitan Aktifitas Antiradikal Bebas
  - a. Macam Penelitian :  Fundamental  Terapan  Pengembangan
  - b. Kategori Penelitian :  I  II  III
2. Kepala Poyek Penelitian
  - a. Nama lengkap dan Gelar : Drs. Achmad Fuad Hafid, MS.,Apt.
  - b. Jenis kelamin : Laki-Laki
  - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata TK.I/Gol.IIIId/ 130 937 972
  - d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
  - e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Farmasi
  - f. Univ/Ins./Akademi : Universitas Airlangga
  - g. Bidang Ilmu yang diteliti : Fitokimia
3. Jumlah Tim Peneliti : 1 (satu) orang
4. Lokasi Penelitian : Lab. Fitokimia Farmasi Unair
5. Kerjasama dengan Instansi lain
  - a. Nama Instansi : -
  - b. A l a m a t : -
6. Jangka waktu penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 4.000.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
  - a. Dilaksanakan Tanggal : 24 Desember 2002
  - b. Hasil Penelitian : ( ) Baik Sekali (V) Baik  
( ) Sedang ( ) Kurang

Surabaya, 24 Desember 2002



Mengetahui/Mengesahkan  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.  
NIP 130 701 125

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga segala rangkaian penelitian ini sampai pada penyelesaian laporan akhir.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga, yang mempercayakan pelaksanaan penelitian ini kepada kami sekaligus mendanai.
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk dilakukannya penelitian ini.
3. Kepala Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga yang sangat berperan pada fasilitas instrumen dan konsultasi para peneliti.
4. Kepala Laboratorium Fitokimia yang sangat membantu pelaksanaan penelitian ini yang mana para peneliti yang terlibat merupakan gabungan dari kedua Laboratorium tersebut.
5. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu yang sangat berperan dalam keberhasilan penelitian ini.

Rasa terima kasih ini menyertai doa kami kepada Allah SWT. Semoga budi baik dan jerih payah selama ini memperoleh manfaat yang sebanyak-banyaknya baik bagi diri sendiri maupun bagi keluarga dan Universitas Airlangga serta masyarakat pada umumnya.

Surabaya, Januari 2003

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Kata Pengantar	ii
Daftar Isi	iii
Daftar Tabel	v
Daftar Gambar	vi
Ringkasan	vii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	2
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Tinjauan tentang Tanaman <i>Fagraea spp.</i>	3
2.1.1. Klasifikasi Tanaman	3
2.1.2. Morfologi dan Penyebarannya	3
2.1.3. Kegunaan	4
2.1.4. Kandungan Kimia	4
2.2. Tinjauan tentang Radikal Bebas	4
2.3. Tinjauan tentang Antiradikal Bebas	5
2.4. Tinjauan tentang Difenil Pikril Hidrazil (DPPH)	6
<b>BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b>	
3.1. Tujuan Penelitian	7
3.1.1. Tujuan Umum	7
3.1.2. Tujuan Khusus	7
3.2. Manfaat Penelitian	7
3.3. Hipotesis	7
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1. Bahan yang digunakan	8
4.1.1. Bahan Uji	8
4.1.2. Bahan Kimia	8
4.2. Alat yang digunakan	8
4.3. Kerangka Operasional Penelitian	9
4.4. Prosedur	10
4.4.1. Ekstraksi simplisia	10
4.4.1.1. Ekstraksi Simplisia Bagian Akar dan Batang	10
4.4.1.2. Ekstraksi Simplisia Daun	10
4.4.2. Skinning Fitokimia dan KLT-Autografi	10
4.4.3. Pengujian Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH secara Spektrofotometri	11



<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1. Hasil Ekstraksi Simplisia	12
5.2. Hasil Skrining Fitokimia dan KLT-Autografi	12
5.3. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH	16
<b>BAB VI SIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Simpulan	22
5.2. Saran	22
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	23

## DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
1	Persentase hasil ekstraksi bagian tanaman <i>Fagraea spp.</i>	12
2	Tabulasi Spot dan $R_f$ Komponen Ekstrak Metanol Bagian Tanaman <i>Fagraea spp.</i> yang meredam warna DPPH	16
3	Persamaan Regresi dan $EC_{50}$ Ekstrak metanol Bagian tanaman <i>Fagraea spp.</i>	19

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		halaman
1.	Reaksi penangkapan radikal H• oleh DPPH	6
2.	Hasil KLT ekstrak metanol <i>Fagraea spp.</i>	13
3.	Hasil KLT-Autografi ekstrak metanol <i>Fagraea spp.</i> dengan DPPH, 5 menit.	14
4.	Hasil KLT-Autografi ekstrak metanol <i>Fagraea spp.</i> dengan DPPH, 30 menit.	14
5.	Profil Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH ; 5 menit, Ekstrak Metanol <i>Fagraea spp.</i>	17
6.	Profil Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH ; 30 menit, Ekstrak Metanol <i>Fagraea spp.</i>	18
7.	Profil Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH ; 60 menit, Ekstrak Metanol <i>Fagraea spp.</i>	18
8.	Histogram EC50 ekstrak metanol <i>Fagraea spp.</i> pada 60 menit	20

## RINGKASAN

### PENELITIAN EKSTRAK METANOL *FAGRAEA AURICULATA* DAN *FAGRAEA CEILANICA* DALAM KAITAN AKTIVITAS SEBAGAI ANTI-RADIKAL BEBAS ( Achmad Fuad Hafid, 2003, 23 halaman)

---

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengungkap apakah ekstrak metanol *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* mempunyai sifat sebagai antiradikal bebas DPPH. Perlu diketahui pula potensi dari masing-masing ekstrak metanol daun, batang, akar *Fagraea auriculata* dan ekstrak metanol daun, batang *Fagraea ceilanica* dengan menentukan besarnya nilai  $EC_{50}$ -nya.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi integratif terbaru tentang pemanfaatan bagian tanaman *Fagraea spp.* pada umumnya dan khususnya *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* sebagai bahan yang mempunyai kemampuan aktivitas sebagai antiradikal bebas sehingga dapat menjadikan bahan pengembangan obat baru dan segala aspeknya.

Ekstrak metanol diperoleh dengan cara ekstraksi berkelanjutan serbuk kering *Fagraea spp.* dengan heksan, dilanjutkan dengan diklormetan dan akhirnya residu diekstraksi dengan methanol. Pengujian ekstrak secara KLT-Autografi menggunakan pereaksi penyemprot larutan 0,004% DPPH dalam methanol terhadap setiap 40  $\mu$ g ekstrak. Penentuan  $EC_{50}$  secara spektrofotometri dengan mengukur absorbansi larutan uji yang ditambah dengan larutan DPPH, pada panjang gelombang 497; 517; 537 nm. Berbagai konsentrasi larutan uji adalah 50;75;100;150;200 ppm kecuali ekstrak methanol batang *Fagraea ceilanica* pada konsentrasi 15;30;50;60;75 ppm dan perubahan adsorbansi diamati pada rentang waktu 5 sampai 60 menit.

Hasil penelitian ini adalah bahwa ekstrak metanol daun, batang, akar *Fagraea auriculata* dan ekstrak metanol daun, batang *Fagraea ceilanica* menunjukkan aktivitas sebagai anti radikal bebas DPPH.

Nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* mengindikasikan aktivitas antiradikal bebas DPPH yang lebih tinggi daripada ekstrak metanol lainnya yaitu dengan nilai  $EC_{50}=48,899$  ppm pada 60 menit. Ekstrak metanol daun *Fagraea ceilanica* mempunyai aktivitas paling rendah yaitu dengan nilai  $EC_{50}=301,648$  ppm pada 60 menit. Sedangkan ekstrak metanol batang *Fagraea auriculata* pada 60 menit menunjukkan nilai  $EC_{50}=154,210$  ppm, ekstrak metanol akar *Fagraea auriculata* dengan nilai  $EC_{50}=161,199$  ppm, dan ekstrak metanol daun *Fagraea auriculata* dengan nilai  $EC_{50}=262,244$  ppm.



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

*Fagraea spp* merupakan jenis tumbuhan yang banyak tumbuh di hutan terutama di Kalimantan, Sumatra dan Jawa. Tumbuhan ini masih belum banyak dikenal luas oleh masyarakat. Kayunya sering digunakan sebagai papan, perkakas rumah tangga dan tiang rumah. Secara tradisional daunnya digunakan sebagai alas tidur bayi prematur, penyakit beri-beri, obat panas, dan obat sakit kepala (Sangat, dkk., 2000; Saw, et.al. 1962).

Penelitian tentang *Fagraea spp.* telah dilakukan antara lain menunjukkan ekstrak metanol akar *Fagraea racemosa* menunjukkan efek vasodilator dan analgesik. Hal ini disebabkan karena ekstrak tersebut mengandung pinosresinol yang merupakan senyawa lignan (Okuyama, et.al., 1995). Senyawa tersebut juga terdapat pada ekstrak metanol buah zaitun yang telah terbukti sebagai antiradikal bebas (Robert, et.al., 2000).

Hasil penelitian ekstrak metanol batang *Fagraea blumei* yang mengandung glikosida iridoid dan flavonoid memiliki aktivitas antiradikal bebas dan senyawa tersebut juga terdapat pada daunnya (Cuendet, et.al., 1997).

Penyebaran flavonoid mempunyai kecenderungan kuat bahwa tanaman yang secara taksonomi berkaitan misalnya dari marga atau suku yang sama akan menghasilkan senyawa yang jenisnya serupa (Markham, 1988). Sehingga memungkinkan ekstrak metanol *Fagraea blumei*, *Fagraea racemosa*, *Fagraea ceilenica* dan *Fagraea auriculata* bersifat penangkap radikal bebas.

Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung elektron yang tidak berpasangan yang dapat bertindak sebagai akseptor elektron (Bast, et.al., 1991). Radikal bebas sangat reaktif sehingga dapat merusak sel yang disebabkan oleh peroksidasi lipid yang menyebabkan kerugian seperti iskemia, arterosklerosis koroner, diabetes melitus, dan penuaan kulit (Hiriguchi, et.al., 1995). Peroksidasi lipid adalah reaksi berantai yang terus

menerus menyediakan radikal bebas yang menentukan peroksidasi selanjutnya (Robert, 1990).

Antiradikal bebas adalah senyawa yang dalam jumlah kecil dibanding substrat mampu menunda atau menjaga terjadinya oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi (Haliwell, 1991).

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, bunga, buah dan biji (Harborne, 1987). Beberapa tahun belakangan diteliti kemampuan flavonoid sebagai antioksidan dimana flavonoid mempunyai kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai antiradikal bebas (Giorgio, 2000).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi integratif terbaru tentang pemanfaatan bagian tanaman *Fagraea spp.* sebagai bahan yang mempunyai kemampuan aktivitas sebagai antiradikal bebas, sehingga dapat menjadikan bahan pengembangan obat baru dan segala aspeknya.

## 1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Adakah aktivitas anti radikal bebas DPPH ekstrak metanol daun, batang dan akar *Fagraea auriculata* ?
2. Adakah aktivitas anti radikal bebas DPPH ekstrak metanol daun dan batang *Fagraea ceilanica* ?
3. Berapakah besarnya nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* ?

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan tentang Tanaman *Fagraea spp.*

##### 2.1.1. Klasifikasi tanaman (Backer, and Bakhuizen, 1965)

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Klas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Apocynales
Suku	: Loganiaceae
Marga	: <i>Fagraea</i>

##### 2.1.2. Morfologi dan Penyebarannya (Saw, et.al., 1962)

*Fagraea ceilanica* berupa pohon dan kadang epipitic, percabangan lebar, perbungaan agak besar dengan bunga banyak, kelopak berbentuk lonceng, mahkota bunga seperti kapal, buah besar dengan satu benjolan keras, daun obovatus (bulat telur terbalik) dengan tulang daun yang besar.

Tanaman ini banyak tumbuh di lahan basah yang terkena sinar matahari terutama di hutan primer dan sekunder pada aliran sungai, dengan ketinggian 1200 - 1800 m di daerah Jawa, Sumatera dan Kalimantan.

Tanaman ini tumbuh pada tempat yang terkena sinar matahari di daerah berawa hingga lahan kering dengan ketinggian 0-2000 m.

*Fagraea auriculata* merupakan tumbuhan perdu dan kadang epipitic, Perbungan dengan 1 - 3 bunga, kelopak 4 - 7 cm, mahkota 10 cm atau lebih berbentuk terompet, buah berbentuk elips berwarna kuning coklat, daunnya memanjang hingga membulat, ujung helai meruncing.

Tanaman ini banyak terdapat di Birma, Indocina, Malaysia, Sumatera, Jawa, Bali, Kalimantan dan Halmahera. Biasanya tumbuh di hutan primer dan sekunder pada ketinggian 1500 m, padang alang-alang.

### 2.1.3. Kegunaan (Saw, et.al., 1962)

Oleh masyarakat di daerah Sumatra, Jawa, Kalimantan, Malay Peninsula dan Filipina daun *Fagraea blumei* digunakan secara tradisional sebagai obat panas dan sakit kepala sedangkan getah buah sebagai lem untuk menangkap burung.

Kayu *Fagraea racemosa* digunakan untuk papan. Dekocta dari daun, akar, batang *Fagraea racemosa* dapat digunakan untuk tonik di daerah Malaya, sedangkan di Filipina kayu dan bunga digunakan sebagai antidotum gigitan ular.

Buah *Fagraea auriculata* digunakan sebagai lem untuk menangkap burung dan bunganya untuk hiasan .

### 2.1.4. Kandungan Kimia

Penelitian menyebutkan bahwa terkandung senyawa iridoid glikosida (blumeosida A, blumeosida B, blumeosida C dan blumeosida D) dan flavonoid C-glikosida dalam ekstrak metanol kulit batang *Fagraea blumei*.(Cuendet, et.al., 1999)

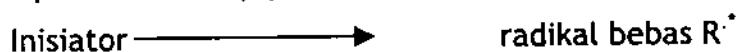
Isolasi terhadap akar *Fagraea racemosa* Jack ex Wall. dan berhasil mengisolasi senyawa lignan (+)-pinoresinol, (+)-epipinoresinol, (+)-lariciresinol dan (+)-isolariciresinol) dan senyawa fenol (syringaldehyde dan 7,8 dihydro-7-oxy coniferyl alcohol) (Okuyama, et.al., 1995).

## 2.2. Tinjauan tentang Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai spesies yang keberadannya bebas dan mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan, karena elektronnya sendirian radikal bebas menjadi lebih reaktif dari non radikal dan cenderung untuk mencari elektron guna membentuk pasangannya.(Pine,

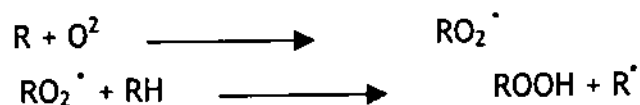
Pembentukan radikal bebas yang terdiri tiga tahap, yaitu: (Halliwell, 1991)

a. Tahap inisiasi/tahap pembentukan rantai.



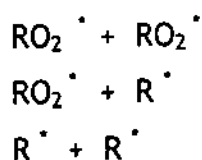
Pada tahap ini senyawa organik normal, yaitu inisiator berubah menjadi partikel radikal bebas aktif. Selain itu senyawa lain yang lebih labil misalnya peroksida, mudah pecah menjadi radikal bebas.

b. Tahap propagasi/ perpanjangan rantai.



Tahap ini merupakan tahap reaksi rantai yang sebenarnya. Pada tahap ini radikal bebas R dapat bereaksi dengan satu molekul oksigen membentuk radikal baru  $RO_2$ , yang dinamakan radikal peroksida.

c. Tahap terminasi / pengakhiran rantai.



Pada reaksi terakhir ini terjadi bila dua radikal bebas bertemu sehingga keduanya bergabung dan membentuk ikatan kovalen dengan dua elektron milik bersama dan menyebabkan molekul tersebut tidak reaktif lagi.

### 2.3. Tinjauan tentang Antiradikal Bebas

Antiradikal bebas adalah bahan yang dalam kadar rendah dapat mencegah terjadinya oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi. Secara normal didalam tubuh terdapat antiradikal bebas seperti GPx (glutathion peroksidase), SOD (superoksid dismutase), tetapi bila keseimbangan sistem dalam tubuh terganggu maka perlu penambahan antiradikal bebas dari luar guna menanggulangi timbulnya keadaan patologis. (Halliwell, 1991)

Menurut cara kerjanya antiradikal bebas dibagi menjadi tiga, yaitu: (1) Antioksidan, bekerja dengan cara bereaksi dengan radikal bebas, sehingga periode induksi reaksi oksidasi diperpanjang. Contohnya : vitamin E, tanpa adanya oksigen vitamin E stabil terhadap panas dan alkali, tetapi dengan

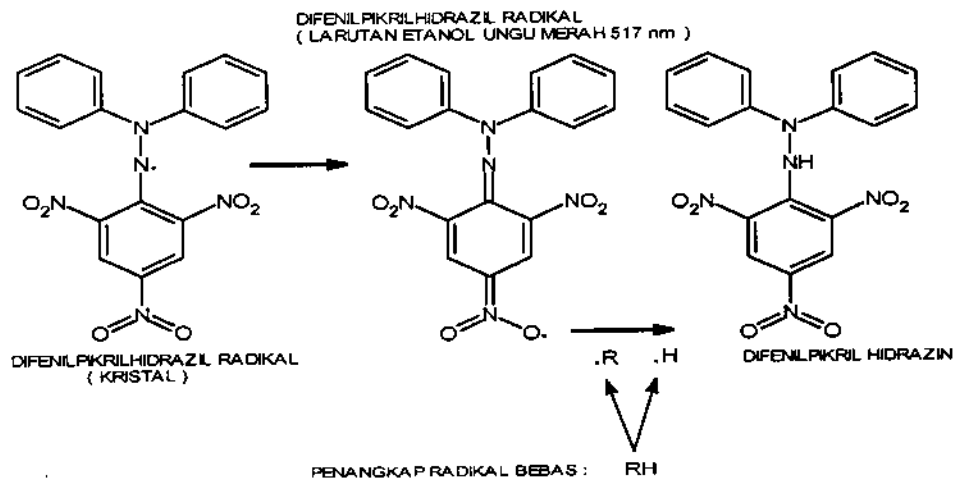
adanya oksigen, vitamin E akan teroksidasi secara perlahan dan dipercepat dengan adanya garam besi dan perak, yang lambat laun akan terurai jika terkena cahaya. (2) Bahan pereduksi, bahan yang mempunyai potensial oksidasi lebih rendah dari potensial bahan yang dilindungi sehingga dapat mencegah terjadinya oksidasi. Contohnya vitamin C, stabil pada udara kering tetapi cepat teroksidasi jika dalam bentuk larutan dengan adanya udara. (3) Antiradikal bebas sinergis, bahan yang dapat mempunyai efek antiradikal bebas yang kecil, tetapi dapat menambah kemampuan antiradikal bebas yang lain dengan jalan bereaksi dengan ion logam berat yang berfungsi sebagai katalisator reaksi oksida.

#### 2.4. Tinjauan tentang Diphenil Pikril Hidrazil ( DPPH )

DPPH (  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  ) serbuk berwarna hijau BM = 394,33 sebagai radikal bebas yang larut dalam metanol , alkohol. Bila senyawa tersebut dilarutkan dalam metanol atau alkohol akan berwarna ungu dan apabila bereaksi dengan antiradikal maka warna larutan akan memucat. Perubahan ini diamati pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer.

Reaksi yang terjadi berjalan dengan kecepatan tertentu sesuai persamaan berikut:

Gambar 1. Reaksi penangkapan radikal H• oleh DPPH.



## BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

### 3.1. Tujuan Penelitian

#### 3.1.1. Tujuan umum

Penelitian Pemanfaatan *Fagraea spp.* sebagai bahan yang mempunyai aktivitas sebagai Anti-Radikal Bebas DPPH dan inisiasi kultur jaringan tanaman.

#### 3.1.2. Tujuan khusus

1. Mengetahui adanya aktivitas anti radikal bebas DPPH ekstrak metanol daun, batang dan akar *Fagraea auriculata* ?
2. Mengetahui adanya aktivitas anti radikal bebas DPPH ekstrak metanol daun dan batang *Fagraea ceilanica* ?
3. Menentukan besarnya nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* ?

### 3.2. Manfaat Penelitian

Memberikan data ilmiah bahwa tanaman *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* mempunyai aktivitas anti radikal bebas DPPH.

### 3.3. Hipotesis

Ekstrak metanol *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* mempunyai aktifitas anti radikal bebas DPPH.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Bahan yang digunakan

##### 4.1.1. Bahan uji

1. Serbuk simplisia daun, batang, dan akar *Fagraea auriculata*. diperoleh dari Klakah, Lumajang (600 m).
2. Serbuk simplisia daun dan batang *Fagraea ceilanica*. diperoleh dari Kampus B-Unair.

##### 4.1.2. Bahan Kimia

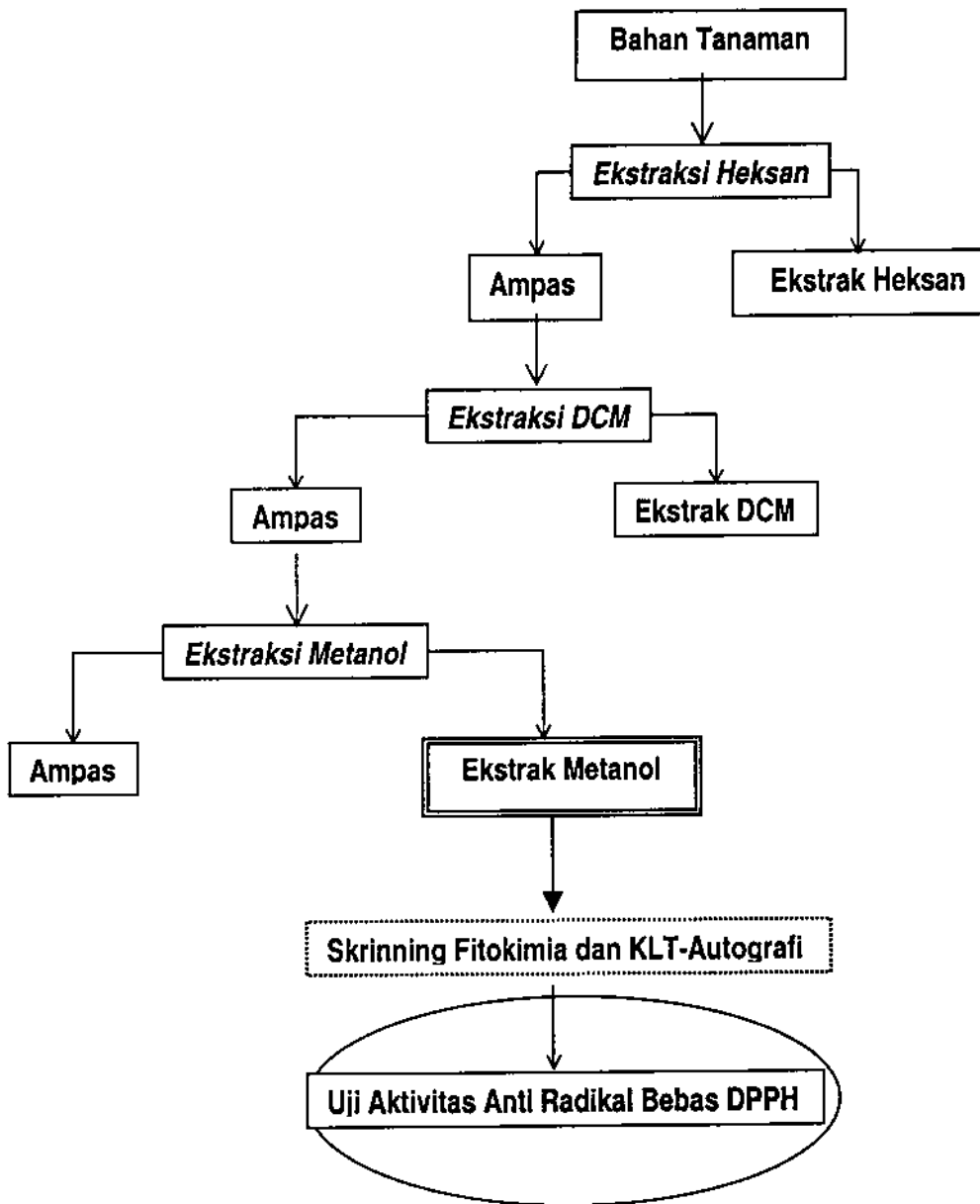
- $\text{CeSO}_4$
- DPPH SIGMA™
- Diklorometana p.a.
- *n*-Heksana p.a.
- Metanol p.a.
- Metanol redistilasi
- Silika gel GF<sub>254</sub>

#### 4.2. Alat yang digunakan

- Alat-alat gelas
- Vacuum Rotavapour R-114
- Brand Transverpette
- Chamber
- Mikrokapiler
- Perkolator
- Shimadzu double monochromator recording Spectrofotometer UV-Vis 365
- Timbangan analitik



### 4.3. Kerangka Operasional Penelitian



#### 4.4. Prosedur

##### 4.4.1. Ekstraksi Simplisia *Fagraea spp.*

Serbuk simplisia ditimbang 125 g, dilakukan 3 kali maserasi masing-masing selama 24 jam dengan pelarut *n*-heksan, ampas dianginkan-anginkan sampai kering. Setelah kering dilakukan 3 kali maserasi masing-masing selama 24 jam dengan pelarut Dikrolometana. Setelah dikeringkan ulangi maserasi dengan Metanol. Filtrat disaring dan masing-masing fraksi dikumpulkan untuk dirotavapour. Dalam penelitian ini hanya ekstrak metanol yang digunakan sebagai ekstrak uji. Sehingga berdasar proses ekstraksi yang diuraikan di atas, maka yang dimaksud dengan ekstrak metanol dalam penelitian ini sama dengan fraksi metanol pada prosedur di atas.

##### 4.4.2. Skrinning Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)- Autografi.

Larutan uji dengan konsentrasi 10.000 ppm ditotolkan sebanyak 4 $\mu$ l pada plate silika gel GF<sub>254</sub>. Plate dielusi menggunakan eluen yang sesuai. Setelah eluasi selesai, plate diangkat dan keringkan.

Amati penampakan spot di bawah UV, plate disemprot dengan larutan DPPH 0,004% dalam metanol. Masing-masing ekstrak ditotolkan sebanyak 40  $\mu$ g. Aktivitas teramati sebagai spot yang berwarna putih pucat sampai kekuningan dengan latar belakang ungu.

Setelah warna ungu hilang, plate disemprot dengan larutan CeSO<sub>4</sub>. Senyawa polifenol teramati sebagai spot yang berwarna ungu sampai coklat dengan latar belakang kuning.

#### 4.4.3. Pengujian Aktivitas Antiradikal Bebas DPPH secara Spektrofotometri

Tambahkan 300  $\mu$ l larutan sampel dengan larutan DPPH ad 3,0 ml kemudian dilihat absorban pada 3 panjang gelombang. Hitung persen peredaman absorbansi untuk 5 konsentrasi. Absorbansi diamati pada panjang gelombang 497; 517 dan 537 nm pada masing-masing ekstrak dan diamati pada rentang waktu 5 sampai 60 menit. Konsentraasi yang digunakan adalah 50-200 ppm kecuali ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* pada konsentrasi 15-80 ppm. Aktivitas terukur sebagai EC-50 (*efective concentration*) yang diperlukan untuk meredam absorbansi hingga 50%.

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Ekstraksi Simplisia *Fagraea spp.*

Bahan uji adalah ekstrak metanol bagian tanaman *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica* yang diperoleh dengan ekstraksi berkelanjutan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut berturut-turut heksan, diklorometana, dan metanol. Dengan metode ini, secara teoritis akan diperoleh ekstrak metanol murni dalam arti bahwa ekstrak hanya mengandung komponen-komponen polar yang tersari dengan metanol, sehingga hasil uji menggambarkan aktivitas yang diberikan oleh komponen-komponen polar tersebut. Persentase hasil ekstraksi masing-masing dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Persentase Hasil Ekstraksi Bagian Tanaman *Fagraea spp.*

Simplisia	Persentase Hasil % (b/b)		
	Fraksi n-Heksan	Fraksi Diklorometana	Fraksi Metanol
Akar <i>Fagraea auriculata</i>	2,2	2,1	5,2
Batang <i>Fagraea auriculata</i>	1,2	1,3	9,5
Akar <i>Fagraea ceilanica</i>	1,07	0,27	7,5
Batang <i>Fagraea ceilanica</i>	0,6	0,5	5
Daun <i>Fagraea auriculata</i>	0,6	0,5	5
Daun <i>Fagraea ceilanica</i>	0,6	0,5	5

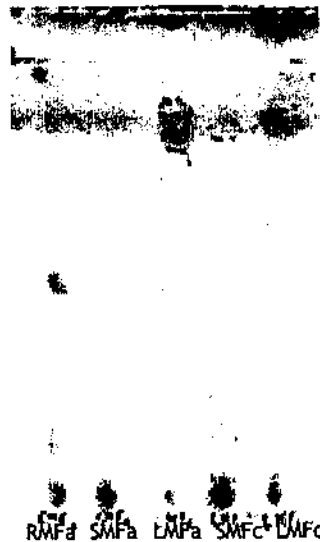
#### 5.2. Hasil Skrinning Fitokimia dan Krotamografi Lapis Tipis (KLT)- Autografi

Pada penelitian ini skrining dimaksudkan untuk mendeteksi komponen-komponen ekstrak yang mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH, terutama golongan polifenol dengan menyemprotkan larutan DPPH 0,004% pada plate silika gel hasil eluasi ekstrak dengan eluen yang sesuai. Hasil yang diperoleh adalah timbulnya spot berwarna kuning pucat sampai putih dengan latar belakang berwarna ungu.

Golongan polifenol dengan penyemprotan  $CeSO_4$  akan terdeteksi sebagai spot yang berwarna ungu sampai coklat dan fluoresensi biru dengan lampu UV<sub>254</sub>

(ditunjukkan dengan lingkaran bergaris putus-putus), dan ungu menggunakan lampu UV<sub>365</sub> (ditunjukkan dengan lingkaran bergaris tebal). Dengan mengkomparasikan hasil penampakan spot dengan hasil penyemprotan DPPH, diasumsikan bahwa efek peredaman warna DPPH oleh komponen-komponen yang terdeteksi disebabkan aktivitas polifenol dalam ekstrak.

Untuk dapat melihat perbedaan efek peredaman antara ekstrak metanol *Fagraea* spp. dibuat larutan ekstrak dalam metanol dengan konsentrasi yang sama (10.000 ppm), kemudian masing-masing larutan ditotolkan 4,0 mikroliter. Jumlah penotolan dibuat sekecil mungkin ( $\pm 40 \mu\text{g}$ ) supaya terjadi pemisahan antar komponen ekstrak yang sempurna sehingga spot peredaman warna DPPH yang dihasilkan murni aktivitas komponen tersebut.



Gambar 2. Hasil KLT-Autografi ekstrak metanol *Fagraea* spp. pada plate Silika gel GF<sub>254</sub> dengan eluen CHCl<sub>3</sub>-MeOH-Air (75:25:1) setelah disemprot dengan larutan CeSO<sub>4</sub>.



Gambar 3. Hasil KLT-Autografi ekstrak metanol *Fagraea spp.* pada plate Silika gel GF<sub>254</sub> dengan eluen CHCl<sub>3</sub>-MeOH-Air (75:25:1) 5 menit setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,004% dalam MeOH.



Gambar 4. Hasil KLT-Autografi ekstrak metanol *Fagraea spp.* pada plate Silika gel GF<sub>254</sub> dengan eluen CHCl<sub>3</sub>-MeOH-Air (75:25:1) 30 menit setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,004% dalam MeOH

Hasil yang diperoleh seperti yang ditunjukkan gambar 2. Ekstrak metanol akar dan batang *Fagraea auriculata* mengandung komponen polifenol yang terdeteksi dengan  $\text{CeSO}_4$  pada  $R_f=0,5$  dan  $R_f<0,3$ ; dengan lampu  $\text{UV}_{365}$  spot pada  $R_f=0,5$  berfluorosensi ungu. Ekstrak metanol daun *Fagraea auriculata* mengandung komponen polifenol dengan spot-spot berfluorosensi biru pada  $\text{UV}_{254}$  pada  $R_f>0,5$ ; Spot paling atas adalah klorofil, berfluorosensi merah pada  $\text{UV}_{254}$ , spot dengan  $R_f=0,5$  saja yang terdeteksi dengan  $\text{CeSO}_4$ . dengan  $\text{UV}_{365}$  tampak berfluorosensi ungu.

Ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* mengandung komponen-komponen polifenol yang terdeteksi dengan  $\text{CeSO}_4$  pada  $R_f=0,5$ ; dengan  $\text{UV}_{365}$  spot tersebut berwarna ungu, sedangkan spot pada  $R_f=0,8$  dan  $R_f<0,4$  tampak berfluorosensi biru pada  $\text{UV}_{254}$ . Ekstrak metanol daun *Fagraea ceilanica* pada  $R_f>0,5$  mengandung lebih sedikit polifenol yang terdeteksi dengan  $\text{UV}_{254}$  daripada ekstrak metanol daun *Fagraea auriculata*, akan tetapi pada  $R_f<0,3$  terdapat spot polifenol yang terdeteksi dengan  $\text{CeSO}_4$ .

Hasil pada gambar 3. menunjukkan bahwa komponen ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* dengan segera dapat memberikan peredaman kuat terhadap warna DPPH pada harga  $R_f<0,3$  ekstrak metanol daun *Fagraea ceilanica* tampak memberikan peredaman yang paling lemah. Sedangkan komponen ekstrak metanol akar *Fagraea auriculata* dengan harga  $R_f<0,3$  tampak memberikan peredaman yang lemah, demikian juga dengan ekstrak metanol daun *Fagraea auriculata*. Sedangkan komponen-komponen ekstrak metanol batang *Fagraea auriculata* meredam yang lemah pada  $R_f<0,3$  dan  $R_f=0,6$ ; spot-spot dominan pada  $R_f=0,5$  tampak tidak memberikan peredaman.

Setelah 30 menit (gambar 4) tampak adanya peningkatan efek peredaman terhadap warna DPPH, terutama dihasilkan oleh komponen-komponen dengan  $R_f$  sepanjang eluasi ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* dan komponen dengan  $R_f=0,6$  dan  $R_f<0,3$  ekstrak batang *Fagraea auriculata*. Komponen-komponen dengan harga  $R_f$  yang sama pada ekstrak metanol akar dan daun *Fagraea auriculata* memberikan peningkatan efek peredaman yang tidak berarti. Demikian juga dengan ekstrak metanol daun *Fagraea ceilanica*.

Tabel 2. Tabulasi Spot dan  $R_f$  Komponen Ekstrak Metanol Bagian Tanaman *Fagraea spp.* yang meredam warna DPPH

Ekstrak	Harga $R_f$ Spot yang meredam DPPH					
	Setelah 5 menit			Setelah 30 menit		
	CeSO <sub>4</sub>	Biru	Ungu	CeSO <sub>4</sub>	Biru	Ungu
Akar <i>Fagraea auriculata</i>	<0,3*			<0,3*		
Batang <i>Fagraea auriculata</i>	<0,3*	0,6		<0,3*	0,6*	
Batang <i>Fagraea ceilanica</i>	<0,3*	0,4*-0,55		<0,3*	<0,8*	
Daun <i>Fagraea auriculata</i>	<0,3*			<0,3*		
Daun <i>Fagraea ceilanica</i>	<0,2*			<0,4*		

Keterangan : \* Kuat

Dengan demikian (tabel 2.) dapat diketahui bahwa komponen-komponen polifenol yang memberikan efek meredam warna DPPH secara bermakna hanyalah komponen-komponen yang berfluorosensi biru dengan UV<sub>254</sub> dan komponen-komponen yang terdeteksi dengan CeSO<sub>4</sub> pada harga  $R_f$  rendah, sedangkan komponen-komponen dengan fluorosensi ungu pada UV<sub>365</sub> tidak memberikan efek peredaman yang berarti. Dari harga  $R_f$  dapat disimpulkan bahwa komponen-komponen tersebut relatif lebih polar dari komponen lainnya. Pada pemeriksaan selanjutnya akan diketahui lebih perbedaan aktivitas dan peningkatan aktivitas dari komponen-komponen yang terkandung dalam ekstrak metanol akan mempengaruhi harga EC<sub>50</sub>.

### 5.3. Hasil Pemeriksaan Aktivitas Anti-Radikal Bebas DPPH secara Spektrofotometri

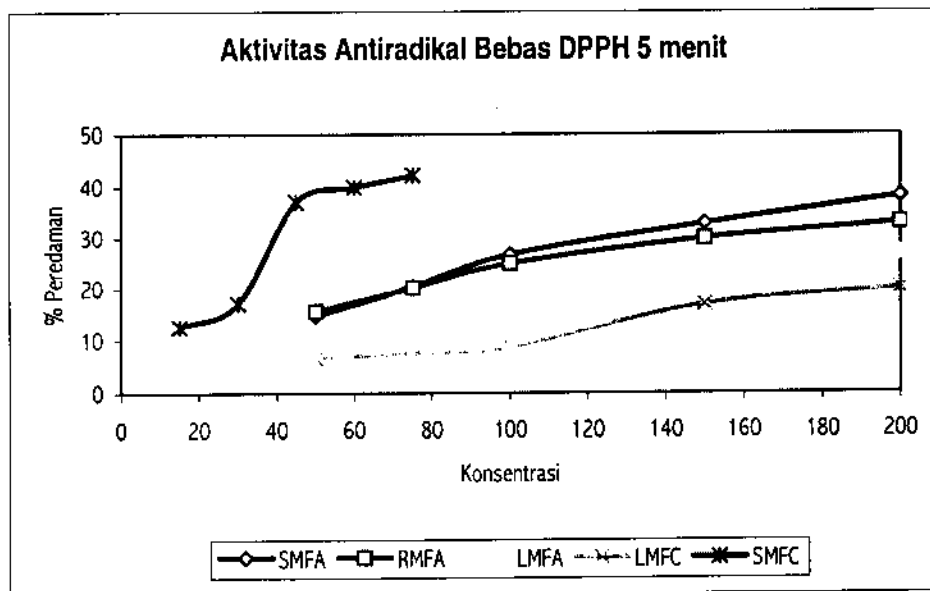
Pemeriksaan aktivitas anti radikal bebas DPPH secara spektrofotometri dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan DPPH 0,004%. Aktivitas diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul Difenil Pikril Hidrazil (DPPH)



dengan atom Hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen bahan uji sehingga terbentuk senyawa Difenil Pikril Hidrazin yang berwarna kuning.

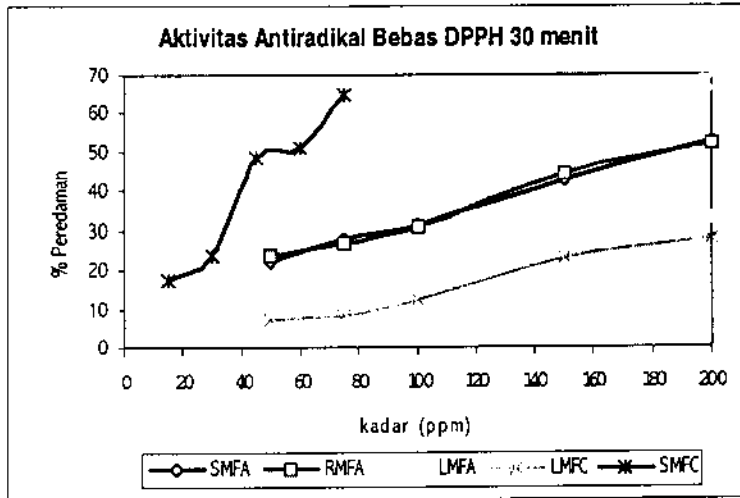
Pemeriksaan dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur absorban DPPH pada panjang gelombang  $517 \pm 20$  nm. Persen peredaman dihitung dengan pengurangan absorban hitung DPPH blanko dengan absorban hitung bahan uji.

Pemeriksaan diawali dengan percobaan mencari konsentrasi aktif. Pada konsentrasi 500 ppm, ternyata ekstrak dengan segera memberikan peredaman sehingga konsentrasi percobaan diturunkan sampai 200 ppm. Rentang konsentrasi percobaan harus menggambarkan konsentrasi efektif, artinya pada rentang konsentrasi tersebut memberikan aktivitas sampai 50 % atau berkisar antara 30 - 70 % sehingga  $EC_{50}$  (Konsentrasi Efektif 50) dapat ditentukan dengan interpolasi aktivitas 50% pada persamaan kurva.



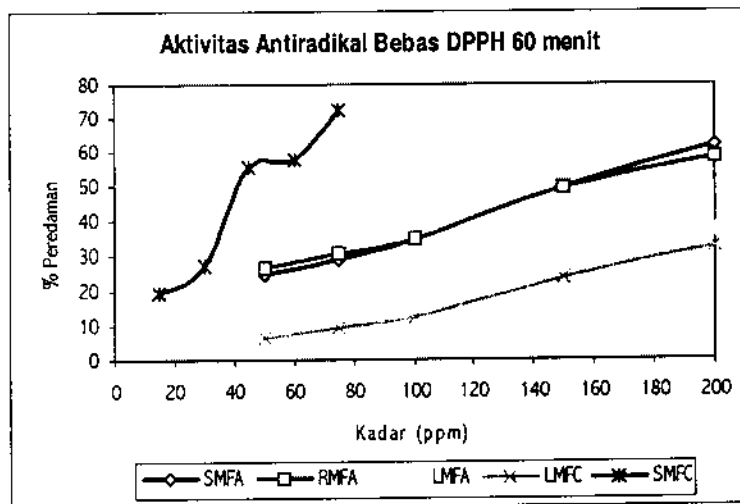
SMFA : Ekstrak methanol batang *F.auriculata*  
 RMFA : Ekstrak methanol akar *F.auriculata*  
 LMFA : Ekstrak methanol daun *F.auriculata*  
 SMFC : Ekstrak methanol batang *F.ceilanica*  
 LMFC : Ekstrak methanol daun *F.ceilanica*

Gambar 5. Profil Aktivitas Anti-Radikal Bebas DPPH dari Ekstrak Metanol *Fagraea spp.* pada 5 menit.



SMFA : Ekstrak methanol batang *F.auriculata*  
 RMFA : Ekstrak methanol akar *F.auriculata*  
 LMFA : Ekstrak methanol daun *F.auriculata*  
 SMFC : Ekstrak methanol batang *F.ceilanica*  
 LMFC : Ekstrak methanol daun *F.ceilanica*

Gambar 6. Profil Aktivitas Anti-Radikal Bebas DPPH dari Ekstrak Metanol *Fagraea spp.* pada 30 menit.



SMFA : Ekstrak methanol batang *F.auriculata*  
 RMFA : Ekstrak methanol akar *F.auriculata*  
 LMFA : Ekstrak methanol daun *F.auriculata*  
 SMFC : Ekstrak methanol batang *F.ceilanica*  
 LMFC : Ekstrak methanol daun *F.ceilanica*

Gambar 7. Profil Aktivitas Anti-Radikal Bebas DPPH dari Ekstrak Metanol *Fagraea spp.* pada 60 menit.

Setelah 5 menit (gambar 5.) dapat dilihat bahwa ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* pada konsentrasi 80 ppm memberikan aktivitas di atas 40 %, sehingga rentang konsentrasi percobaan dibuat di bawah 80 ppm, agar profil kurva pada 60 menit dapat menggambarkan konsentrasi efektif. Sedangkan ekstrak metanol lainnya dibuat pada rentang konsentrasi efektif 50-200 ppm, yang mana sampai dengan 200 ppm ekstrak memberikan aktivitas di bawah 40 ppm pada 5 menit. Perbedaan ini dapat juga dilihat pada hasil KLT-Autografi yang mana untuk komponen-komponen dengan  $R_f < 0,3$  ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* dengan segera memberikan peredaman warna DPPH.

Pada gambar 6 ditunjukkan bahwa setelah 30 menit terjadi perubahan profil peningkatan aktivitas pada rentang konsentrasi percobaan ekstrak metanol batang dan akar *Fagraea auriculata*. Sejalan dengan hasil KLT-Autografi yang menunjukkan bahwa setelah 30 menit, terdapat komponen-komponen lain dalam ekstrak yang memberikan peredaman warna DPPH selain komponen-komponen yang dengan segera memberikan peredaman setelah 5 menit. Dengan demikian ada dugaan bahwa setelah 30 menit aktivitas disebabkan oleh lebih banyak komponen kandungan ekstrak.

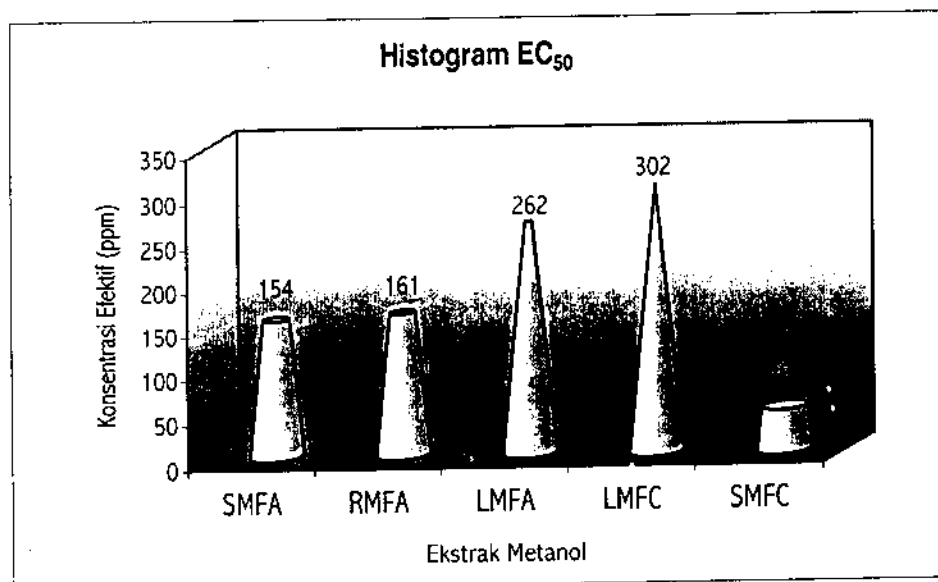
Setelah 60 menit dicapai profil aktivitas sebagaimana dapat dilihat pada gambar 7. profil masing-masing ekstrak tidak menunjukkan adanya perbedaan, pada rentang konsentrasi percobaan peningkatan aktivitas sebanding dengan bertambahnya konsentrasi. Ditentukan persamaan regresi dan untuk selanjutnya dari persamaan diplotkan aktivitas 50 % sehingga diperoleh harga konsentrasi efektif ( $EC_{50}$ ) masing-masing ekstrak seperti tertera pada tabel 3.

Tabel 3. Persamaan Regresi dan EC<sub>50</sub> Ekstrak metanol Bagian tanaman *Fagraea spp.*

Bahan Uji	Persamaan 30 menit	R2	R	EC <sub>50</sub>
Akar <i>Fagraea auriculata</i>	$y = 0.1995x + 12.356$	0.9989	0.9994	188.6917
Batang <i>Fagraea auriculata</i>	$y = 0.2004x + 12.616$	0.9859	0.9929	200.5054
Batang <i>Fagraea ceilanica</i>	$y = 0.1775x - 1.7451$	0.9905	0.9952	291.5217
Daun <i>Fagraea auriculata</i>	$y = 0.1486x - 1.3605$	0.9671	0.9834	345.6292
Daun <i>Fagraea ceilanica</i>	$y = 0.8113x + 4.5259$	0.9432	0.9712	56.05091
	Persamaan 60 menit			
Akar <i>Fagraea auriculata</i>	$y = 0.2549x + 10.692$	0.9945	0.9972	154.2095
Batang <i>Fagraea auriculata</i>	$y = 0.2209x + 14.391$	0.9862	0.9931	161.1996
Batang <i>Fagraea ceilanica</i>	$y = 0.1863x + 1.1439$	0.9833	0.9916	262.2442
Daun <i>Fagraea auriculata</i>	$y = 0.1777x - 3.6029$	0.9892	0.9946	301.6483
Daun <i>Fagraea ceilanica</i>	$y = 0.9169x + 5.1758$	0.9389	0.9690	48.88668

Dari harga EC<sub>50</sub> dapat diinterpretasikan bahwa ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH yang lebih tinggi daripada ekstrak metanol lainnya, dengan harga EC<sub>50</sub>=48,899 ppm pada 60 menit. Ekstrak metanol daun *Fagraea ceilanica* mempunyai aktivitas paling rendah dengan harga EC<sub>50</sub>=301,648 ppm pada 60 menit. Sedangkan ekstrak metanol batang *Fagraea auriculata* pada 60 menit mempunyai harga EC<sub>50</sub>=154,210 ppm, ekstrak metanol akar *Fagraea auriculata* dengan harga EC<sub>50</sub>=161,199 ppm, dan ekstrak metanol daun *Fagraea auriculata* dengan harga EC<sub>50</sub>=262, 244 ppm. Perbedaan akan lebih jelas terlihat pada gambar 8.

Gambar 8. Histogram EC<sub>50</sub> ekstrak metanol *Fagraea spp.* pada 60 menit



Dari harga slope, diketahui pula bahwa slope kurva aktivitas ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* jauh lebih besar daripada ekstrak metanol lainnya. Sebagaimana hasil KLT-Autografi bahwa sebagian besar polifenol yang terkandung dalam ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* dapat memberikan peredaman terhadap warna DPPH. Efek tersebut semakin terlihat nyata setelah 30 menit. Berbeda dengan ekstrak metanol batang *Fagraea auriculata*, yang mana hanya pada spot-spot tertentu saja peredaman nyata terlihat, terutama pada spot dengan  $R_f=0,6$ .

Dengan demikian, beberapa hal yang dicatat adalah :

- a. Ada kemungkinan bahwa dalam komponen ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* lebih banyak yang potensial sebagai antiradikal bebas DPPH, sehingga memungkinkan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut, meliputi isolasi senyawa aktif dan uji potensi senyawa-senyawa tersebut.
- b. Ada kemungkinan terjadi interaksi antar komponen yang mempengaruhi aktivitas, baik itu meningkatkan aktivitas maupun menurunkan aktivitas antiradikal bebas DPPH.

## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### Simpulan :

1. Ekstrak metanol daun, batang, akar *Fagraea auriculata* dan ekstrak metanol daun, batang *Fagraea ceilanica* menunjukkan aktivitas sebagai anti radikal bebas DPPH.
2. Nilai  $EC_{50}$  ekstrak metanol batang *Fagraea ceilanica* mengindikasikan aktivitas antiradikal bebas DPPH yang lebih tinggi daripada ekstrak metanol lainnya yaitu dengan nilai  $EC_{50}=48,899$  ppm pada 60 menit. Ekstrak metanol daun *Fagraea ceilanica* mempunyai aktivitas paling rendah yaitu dengan nilai  $EC_{50}=301,648$  ppm pada 60 menit. Sedangkan ekstrak metanol batang *Fagraea auriculata* pada 60 menit menunjukkan nilai  $EC_{50}=154,210$  ppm, ekstrak metanol akar *Fagraea auriculata* dengan nilai  $EC_{50}=161,199$  ppm, dan ekstrak metanol daun *Fagraea auriculata* dengan nilai  $EC_{50}=262, 244$  ppm.

#### Saran :

1. Perlu dilakukan pengujian yang sama terhadap *Fagraea spp.* lainnya.
2. Perlu dilakukan isolasi kandungan senyawa aktif pada ekstrak metanol *Fagraea auriculata* dan *Fagraea ceilanica*.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, C.A and Bakhuizen Van Der Brink, B. C., 1965, *Flora of Java* , N.V.P Noor dhoff, Groningen, The Netherlands, Vol II hal 210 .
- Bast, Aalt, 1991, Oksidant and Antioksidan : State of The Art, The American Journal of Medicine, Preceeding of A Symposium Oxicant and Antioksidant : **Patophysiologic Determinants and Therapeutic Agents**, p. 25,30.
- Cuendet, M. Hostettmann, K., Potterat, O., Dyatmiko, W.,1997 , Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, *Helvetica Chimica Acta* vol 80 : p. 1144 - 1152
- Giorgio, P., 2000, flavonoid as Antioxidants, *Journal National Product*, 63: 1035-1042
- Haliwell, B., 1991, Reactive Oxigent Spesies In Living System : Source Biochemistry and role in Human Disease , The American Journal of Medicine, Proceedings of A Symposium Oxidant and Antioxidants, : **Patophysiologic Determinants and Therapeutic Agents**, pp. 3,12,20.
- Harborne, J.B., 1987, **Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan ( terjemahan )** , Penerbit ITB, Bandung , hal 58 - 60, 128, 134
- Hiriguchi, H., Saito, T., Okamura, N., Yagi, A., 1995, Inhibition of Lipid Peroxidation and Superoxide Generation By Diterpenoid From *Rasamarinus officinalis*, *Planta Medica*, 61 : 333-336.
- Markham, K. R., 1988 , **Cara Mengidentifikasi Flavonoid ( terjemahan )** , Penerbit ITB , Bandung , hal 13 .
- Okuyama, E., Suzumura K., Yamazaki, M., 1995, Pharmacologically Active Components of Topodon Puok (*Fagraea racemosa*), a Medicinal Plant from Borneo, *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 43 : 2200 - 2204
- Pine, Stanley, 1988, **Kimia Organik ( terjemahan )** , jilid IV, Penerbit ITB, Bandung, hal 955.
- Robert, K. M., 1990, **Harper's Biochemistry**, 20<sup>th</sup> edition, Pretice Hall International Inc, USA , pp 138,139,228.
- Robert , W., 2000, Identification of Lignans as Major Components in the Phenolic Fraction of Olive Oil, *Clinical Chemistry* , 46:976 - 988 .
- Sangat, H., 2000, **Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia (Etnofitomedika I )** , Pustaka Populer Obor, Jakarta hal 143 , 150.
- Saw , L. G., 1962 , **Flora Malesiana** , Malaysia hal 312, 323, 328.

