

PENGUJIAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SAMBUNG RAMBAT (*Mikania cordata*) DENGAN METODE DPPH

Inawati

Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi (STTIF) Bogor

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan antioksidan tanaman sambung rambat (*Mikania cordata*) terutama pada bagian daunnya. Dengan mengekstraksi daun sambung rambat secara maserasi yang menggunakan tiga jenis pelarut yaitu, *etanol* 70 persen, *etil asetat* dan *heksan* untuk mengetahui kandungan *saponin*, *alkaloid*, *flavonoid*, *steroid* dan *triterpenoid* dari ekstrak kental melalui evaporasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metoda DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). Secara keseluruhan ekstrak kental tersebut mengandung senyawa *alkaloid*, *flavonoid*, *steroid* dan *saponin*. Hasilnya, ekstrak kental dengan pelarut *etanol* 70 persen menunjukkan aktivitas antioksidan berskala kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 68,88 ppm, dimana potensi antioksidan $\frac{1}{30}$ kali lebih kecil dari vitamin C yang memiliki IC_{50} sebesar 2,2284 ppm. Sedangkan dari hasil ekstrak *etil asetat* dan *heksan* tidak memperlihatkan adanya aktivitas antioksidan. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan cara fraksinasi agar senyawa yang diperoleh lebih murni sehingga antioksidan dari tanaman sambung rambat lebih spesifik.

Kata kunci : *Antioksidan, DPPH, Mikania cordata*

PENDAHULUAN

Di alam ini banyak terdapat tanaman yang memiliki potensi antioksidan, salah satunya adalah tanaman sambung rambat (*Mikania cordata*) yang tumbuh secara liar disemak-semak belukar. Tanaman ini tersebar luas di Asia dan Pasifik, Australia Selatan, Amerika Utara dan Tengah, yang tumbuhannya melilit di pohon - pohon atau menjalar di atas permukaan tanah. *Mikania cordata* adalah tanaman yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena khasiatnya bermanfaat bagi kehidupan manusia (Sankaran, 2010).

Mikania cordata diketahui mengandung senyawa *seskuiterpen*, *dilakton*, *diterpen*, dan *flavonoid* yang sangat berguna untuk pengobatan penyakit (Aguinaldo, 2003). Secara tradisional *Mikania cordata* digunakan sebagai obat luka, sakit perut, dan gatal-gatal. Sedangkan dalam pengobatan modern dapat digunakan sebagai antikanker (Bishayee dan Chatterjee, 1994), analgesik (Ysrael,1990), dan antiinflamasi

(Bhattacharya, 1987). Menurut penelitian yang telah dilakukan, *Mikania cordata* memiliki kandungan kimia yang berkhasiat seperti *monoterpen*, *seskuiterpen*, minyak *atsiri*, *flavonoid*, dan senyawa hidrokarbon lainnya (Tonzibo *et al*, 2009).

Bentuk rangka bunga *Mikania cordata* berada di bawah ketiak daun, dan ada juga berada diantara tangkai atau batang daun. Bunganya memiliki warna putih keungu-unguan dengan ukuran panjang 4 -5 mm dan bermahkota 5 *lobed* (belahan), serta dikelilingi oleh bunga-bunga kecil bersinar (*kapiler pappus*) yang muncul secara bersamaan di pangkal bunga dan panjangnya 3 mm berwarna putih pada awalnya kemudian berubah menjadi coklat kemerahan-merahan. Tanaman ini juga memiliki buah yang muncul setelah berbunga. Buahnya berbentuk bulat telur terbalik yang berwarna hijau dengan ukuran 1 – 3 mm. Tanaman ini dapat tumbuh secara vegetatif dari bagian batang yang agak membengkok dan pada bagian

Pengujian Antioksidan Ekstrak Daun Sambung Rambat (*Inawati*)

segmen yang sangat kecil pada batang. (Sankaran, 2010) .

Mikania cordata memiliki kandungan senyawa non-volatil *seskuiterpen*, *dilakton*, *germakranolid*, *diterpen*, dan *flavonoid* (Aguinaldo, 1995,2003). Selain itu juga terdapat kandungan minyak *atsiri* diantaranya *D-germakren* (21,6 persen) dan *beta kariophyllene* (11,8 persen) sebagai komponen utama minyak *Mikania cordata*). Minyak *Mikania cordata* yang berasal dari Abidjan (Selatan Pantai Gading didominasi oleh kandungan *alfa pinene* (20 persen) dan *D – germakren* (19,8 persen) dan disertai pula dengan *beta pinene* (8,7 persen) dan *alfa thujene* (7,1 persen) (Bedi, 2003). Selain itu, *mikania cordata* juga memiliki kandungan *monoterpen* dan *hidrokarbon sabinene* (19 persen), *beta phellandren* (14,8 persen) dan *limonen* (15,7 persen) yang diteliti dari sampel yang berasal dari Abengourou (Pantai Gading). Dilaporkan juga terdapat senyawa oksigen pada tanaman *Mikania cordata* yang berasal dari Sikensi (Pantai gading) yaitu senyawa *viridiflorol* (39,6 persen). Sedangkan sampel *Mikania cordata* yang berasal dari San Pedro (Mexico) kaya akan *fitol* (20,6 persen), *alfa terpineol* (17,8 persen), *elemol* (13,3 persen) dan *geraniol* (13,1 persen). Begitu juga sampel dari Bonoua menunjukkan adanya kombinasi senyawa oksigen dan hidrokarbon seperti *alfa copain* (14,7 persen), *gama eudesmol* (11,9 persen) dan *elemene* (9 persen). Sampel dari Alepe (Pantai Gading) kaya akan *alfa pinene* (11,1 persen), *D-germakrene* (10,5 persen), *P-simen* (9 persen), *elemol* (8,8 persen), *beta phellandrene* (8,7 persen) dan *beta pinene* (8 persen). Dalam studi ini, komposisi minyak *Mikania cordata* dapat berbeda akibat adanya faktor eksogen seperti tanah atau pun iklim tempat tanaman tersebut tumbuh (Tonzibo *et al*, 2009).

Tanaman ini dapat memberikan khasiat sebagai antibakteri (Rabin, 2000), antikanker (Bishayee dan Chatterjee, 1994), dan anti-inflamasi (Battacharya, 1987). Selain itu juga telah diteliti oleh Ahmed (1990) bahwa *Mikania cordata* dapat mengobati masalah pada lambung. *Mikania cordata* diketahui menjadi obat penawar racun gigitan kalajengking di Assam (New Delhi, India) tepatnya seperti digunakan oleh suku Kabi. Daun *Mikania cordata* mampu mengobati sakit perut dan gatal-gatal seperti yang digunakan oleh masyarakat Malaysia. Di Afrika daunnya dapat digunakan sebagai sup. Seperti yang dilaporkan dari Mizoram, India bahwa *Mikania cordata* dapat digunakan sebagai pupuk hijau untuk meningkatkan hasil padi. Namun tanaman ini tidak dapat digunakan sebagai bahan campuran kompos karena kadar airnya yang tinggi (Sankaran, 2010)

BAHAN DAN METODE

Bahan yang dipergunakan dalam percobaan ini adalah sambung rambat (*Mikania cordata*) yang didapat dari daerah Atang Senjaya, Bogor - Jawa Barat dan dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi - LIPI, Bogor. Bahan kimia yang digunakan diantaranya etanol 70 persen teknis, heksan teknis, etil asetat teknis, metanol p.a, vitamin C, DPPH 1mM.

Antioksidan adalah suatu senyawa yang memperlambat proses oksidasi. Lipid dan senyawa yang larut dalam lipid adalah merupakan komponen yang mudah teroksidasi dan terdapat pada hampir semua bahan pangan. Senyawa - senyawa tersebut diantaranya adalah lemak yang dapat dimakan (*edible fat*), minyak makan, *mono-*, *di-* dan *tri-gliserida* (*emulsifier*), *sterol*, vitamin yang larut dalam lemak, *fosfolipid*, komponen *flavor* dan *aroma*, *karotenoid* dan lain - lain. Antioksidan yang ideal harus memiliki beberapa kriteria agar dapat digunakan pada beberapa sistem pangan. Diantara kriteria tersebut adalah :

Pengujian Antioksidan Ekstrak Daun Sambung Rambat (Inawati)

aman, tidak mempengaruhi warna, bau dan rasa, efektif pada konsentrasi rendah, tahan setelah diproses, stabil pada produk akhir, larut dalam lemak dan tersedia dengan harga murah. Menurut Kochlar dan Rossel (1990), secara luas antioksidan dapat dibagi menjadi 5 kelompok yaitu :

- Antioksidan primer (sebagian besar adalah senyawa fenolik) yaitu kelompok senyawa yang menghentikan pembentukan radikal bebas pada oksidasi lipid seperti *tokoferol*, *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Tertier-Butyl Hydroquinone* (TBHQ) dan sebagainya.
- Penangkap oksigen (*oxygen scavenger*) seperti vitamin C, *askorbil palmitat* dan asam *eritrobat*.
- Antioksidan sekunder yaitu kelompok senyawa yang berfungsi mendekomposisi hidroperoksida lipid menjadi produk akhir yang stabil; contoh antioksidan ini adalah *diluril tiopropionat* dan *asam tiodipropionat*.
- Antioksidan enzimatis seperti *glukose oksidase*, *superoksida dismutase*, *katalase*, *glutathione peroksidase*. Antioksidan ini berfungsi melarutkan oksigen atau pemisah spesies oksidatif dari sistem pangan.
- Pengkelat (*chelating agent* atau *sequestrants*) seperti asam sitrat, asam amino, *etylendiaminetetra-acetic acid* (EDTA), mengkelat ion logam yang dapat mengkatalisis oksidasi lipid.

Menurut Patt dan Hudson (1990) senyawa - senyawa alami yang umumnya mempunyai efek antioksidan adalah *fenol* dan *polifenol*, serta yang paling umum adalah *flavonoid* (*flavonol*, *isoflavon*, *flavon*, *katekin*, dan *flavonon*), turunan *asam sinamat*, *kumarin*, *tokoferol*, dan asam organik polifungsi. Golongan senyawa *fenolik* adalah komponen bioaktif yang terdapat secara luas pada tanaman. Istilah *fenolik* atau *polifenol* dapat didefinisikan secara kimia sebagai suatu senyawa yang memiliki cincin aromatik mengandung satu atau lebih substitusi OH termasuk turunan fungsional (*ester*, *metal eter*, *glikosida*). Antioksidan alami terutama berfungsi sebagai

antioksidan primer yaitu sebagai akseptor radikal bebas dan pemecah rantai. Senyawa - senyawa *fenolik volatil* seperti *eugenol*, *isoeugenol*, *timol* dan sebagainya memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi namun memiliki bau yang terlalu kuat sehingga kegunaannya terbatas sebagai bahan tambahan pangan. Sementara itu beberapa jenis antioksidan alami yang lain juga memiliki beberapa kelemahan.

Vitamin C memiliki peranan penting dalam penangkapan radikal bebas yang juga termasuk dalam antioksidan alami. Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air dan merupakan antioksidan yang paling penting dalam cairan ekstraseluler karena sifat kelarutannya tersebut. Vitamin ini efisien dalam menghambat pembentukan radikal superoksida ($O_2\cdot$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil dan peroksil ($\cdot OH$ dan $ROO\cdot$) dan oksigen single. Oleh karena itu dapat menghambat radikal - radikal peroksida maka vitamin C mempunyai peranan penting dalam menjaga integritas membran sel. Selain manfaat yang didapat dari vitamin C ada pula efek negatif yang ditimbulkannya. Larutan vitamin C akan cepat teroksidasi dengan katalis logam, terutama Cu. Oksidasi vitamin C yang diinduksi oleh Cu dapat menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil ($\cdot OH$) yang bisa menyebabkan inaktivasi banyak protein.

Metode analisis kandungan antioksidan suatu zat, dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya :

- Metode Ruch (Ruch, 1989)
Antioksidan akan memusnahkan hidrogen peroksida. Serapan diukur pada panjang gelombang 230 nm.
- Metode Iodometri
Antioksidan akan menurunkan jumlah hidroperoksida yang akan mengoksidasi I^- menjadi I_2 . I^- dan I_2 akan membentuk kompleks I_3^- yang berwarna kuning.

Pengujian Antioksidan Ekstrak Daun Sambung Rambat (Inawati)

Serapan diukur pada panjang gelombang 360 nm.

- Metode DPPH (Yen, 1995).
Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui donasi atom hidrogen dan menyebabkan perubahan warna kuning. Serapan diukur pada panjang gelombang 515 nm.
- Metode Oyaizu (Yen, 1995)
Antioksidan akan mereduksi $K_3Fe(CN)_6$ yang dalam suasana asam akan membentuk kompleks $Fe_4(Fe(CN)_6)_3$ yang berwarna biru. Serapan diukur pada panjang gelombang 700 nm.
- Metode Tiosianat (Yen, 1996)
Antioksidan menurunkan jumlah hidroperoksida yang akan mengoksidasi $FeCl_2$ menjadi $FeCl_3$ yang akan membentuk kompleks berwarna merah dengan asam tiosianat. Serapan diukur pada panjang gelombang 500 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

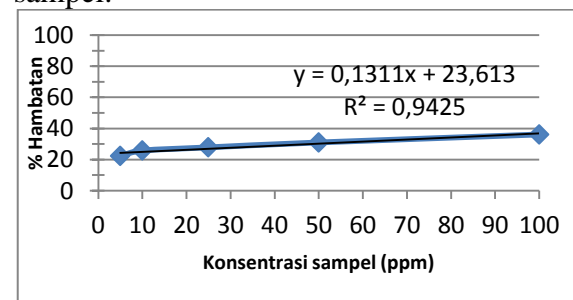
Setelah direaksikan dengan DPPH dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 30 menit dapat terlihat ekstrak etanol 70 persen pada konsentrasi 100 ppm memberikan perubahan warna yang cukup signifikan dari warna ungu menjadi warna kuning. Hal ini menandakan adanya aktivitas antioksidan pada sampel *etanol* 70 persen dengan konsentrasi 100 ppm. Sedangkan pada ekstrak *etil asetat* dan *heksan* tidak memberikan perubahan warna yang menandakan pada ekstrak tersebut tidak memiliki aktivitas antioksidan. Selain dapat dilihat dari perubahan warna (kualitatif), aktivitas antioksidan juga dapat dilihat dari nilai persentase hambatan (kuantitatif).

Suatu sampel dikatakan memberikan aktifitas antioksidan jika konsentrasi sampel yang diuji mampu menghambat 50 persen radikal DPPH atau yang disebut dengan IC_{50} . Untuk mengetahui persentase hambatan tersebut harus diketahui absorbansi dari sampel

yang diuji. Dibawah ini adalah data absorbansi dan persen hambatan yang didapat dari sampel *Mikania cordata*.

Dari data di atas dapat terlihat perbedaan IC_{50} sampel dengan standar vitamin C yang sangat berbanding jauh. Pada ekstrak *etanol* 70 persen nilai IC_{50} yaitu 68,88 ppm; ekstrak *etil asetat* memiliki nilai IC_{50} yaitu 201,45 ppm dan ekstrak *heksan* nilai IC_{50} yaitu 333,77 ppm dan nilai IC_{50} untuk vitamin C sangat rendah dibandingkan dengan sampel yaitu 2,2284 ppm. Ini menandakan bahwa ekstrak sambung rambat memiliki efektivitas $\pm \frac{1}{30}$ kali vitamin C. Semakin rendah nilai IC_{50} berarti semakin tinggi persentase hambatan antioksidan terhadap radikal bebas. Suatu senyawa dikatakan sangat kuat aktivitas antioksidannya bila konsentrasi kurang dari 50 ppm, kuat bila konsentrasi antara 50-100 ppm, sedang jika konsentrasi 100-150 ppm, dan dikatakan lemah jika konsentrasi 151-200 ppm (Zuhra, *et al.*, 2008). Dari penelitian yang dilakukan terhadap daun *Mikania cordata* sampel etanol 70 persen memberikan aktivitas antioksidan kuat, sedangkan ekstrak etil asetat dan heksan tidak memberikan aktivitas antioksidan.

Dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan konsentrasi ekstrak sambung rambat sebagai sumbu x dengan persen hambatan sebagai sumbu y, maka diperoleh persamaan regresinya $y = bx + a$. Dibawah ini adalah kurva regresi linear dari masing-masing sampel.

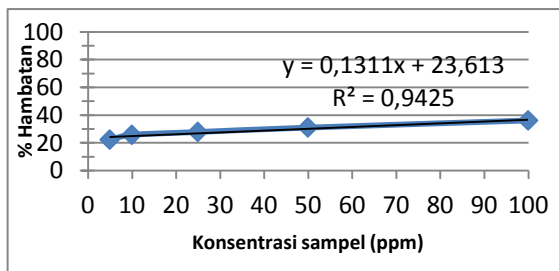


Gambar 1. Kurva regresi linear daun sambung rambat ekstrak *etil asetat*

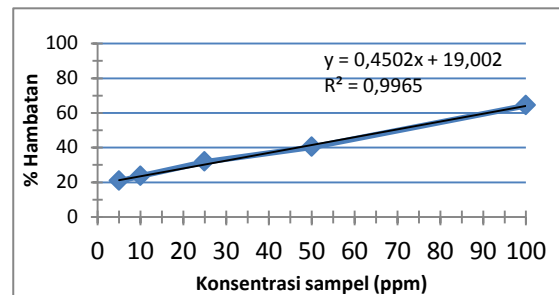
Tabel 1. Data hasil pengujian sampel *Mikania cordata* terhadap radikal DPPH.

Sampel (Daun)	Konsentrasi sampel (ppm)	Absorbansi sampel rata-rata*	Hambatan antioksidan (%)	IC ₅₀
Ekstrak <i>Etanol</i> 70%	5	1,9975	20,68	Y=19,00+0,450x a = 19,00 b = 0,450 IC ₅₀ = 68,88
	10	1,9250	23,56	
	25	1,7185	31,76	
	50	1,5050	40,24	
	100	0,899	64,30	
Ekstrak <i>Etil asetat</i>	5	1,9560	22,33	Y=16,443+0,1311x a= 23,61 b= 0,131 IC ₅₀ =201,45
	10	1,8695	25,76	
	25	1,8180	27,81	
	50	1,7385	30,97	
	100	1,6090	36,11	
Ekstrak <i>Heksan</i>	5	2,0700	17,80	Y=17,29+0,098x a= 17,29 b= 0,098 IC ₅₀ =333,77
	10	2,0385	19,06	
	25	2,0195	19,81	
	50	1,9970	20,70	
	100	1,8180	27,81	
Vitamin C	3	1,1890	52,78	Y=34,22+7,081x a= 34,22 b= 7,081 IC ₅₀ = 2,2284
	6	0,4510	82,09	
	9	0,1190	95,27	
Blanko	2,5185			

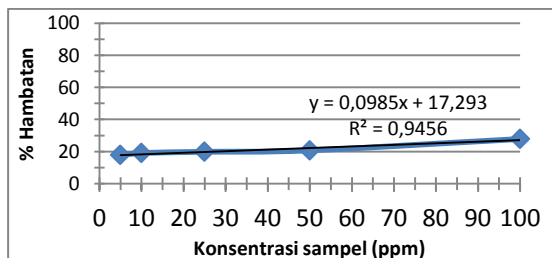
*Absorbansi rata-rata didapat dengan dua kali pengukuran.



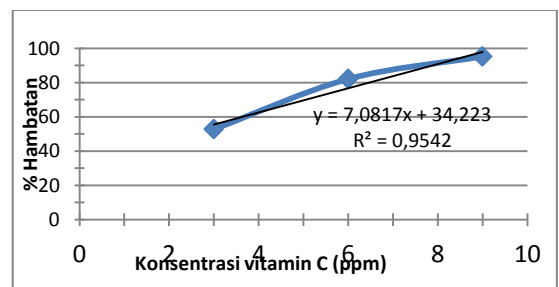
Gambar 1. Kurva regresi linear daun sambung rambat ekstrak *etil asetat*



Gambar 3. Kurva regresi linear daun sambung rambat ekstrak *etanol* 70 persen.



Gambar 2. Kurva regresi linear daun sambung rambat ekstrak *heksan*.



Gambar 4. Kurva regresi linear standar vitamin C.

Pengujian Antioksidan Ekstrak Daun Sambung Rambat (Inawati)

Dari kurva sampel dan standar di atas dapat terlihat perbedaan yang cukup mencolok yaitu untuk ekstrak etil asetat dan heksan memiliki persentase hambatan yang berada dibawah 50 persen, sedangkan standar berada diatas 50 persen. Hal tersebut membuktikan bahwa etil asetat dan heksan tidak memiliki aktivitas antioksidan sama sekali. Sedangkan untuk ekstrak etanol 70 persen pada konsentrasi 100 ppm memiliki persentase hambatan lebih dari 50 persen, itu menandakan ekstrak etanol 70 persen memiliki aktivitas antioksidan namun dalam skala sedang. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70 persen memperlihatkan adanya alkaloid dan flavonoid.

KESIMPULAN

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, pengujian skrining fitokimia pada bagian daun *Mikania cordata* menunjukkan terdapat kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid. Dimana dari ekstrak etanol 70 persen memberikan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 68,88 ppm yang menunjukkan kuatnya aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70 persen. Sedangkan ekstrak heksan dan etil asetat tidak memperlihatkan adanya aktivitas antioksidan. Hal ini dapat dilihat dari hasil analisis GC/MS sampel etanol 70 persen diperoleh paling sedikit terdapat sembilan peak, namun yang lain tidak memperlihatkan kemiripan dengan senyawa antioksidan. Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut dengan cara fraksinasi agar senyawa yang diperoleh lebih murni sehingga dapat diidentifikasi senyawa antioksidan dari tanaman sambung rambat yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed M. 1990. *Further dilactones from Mikania cordata*, *Pharmazie*, 45: 697.

- Aguinaldo A. M., W. G. Padolina, F. Abe, and T. Yamauchi, 2003. *Flavonoids from Mikania cordata*, *Biochemical Systematic and Ecology*.31: 665-668.
- Bishayee A. and M. Chatterjee, 1994. *Anticarcinogenic biological response of Mikania cordata reflections in hepatic biotransformation systems*. *Cancer Lett*, 81: 193-200.
- Ysrael M. C. and K. D. Croft, 1990. *Inhibition of leukotriene and platenet activating factor synthesis in leucocytes by the sesquiterpene lactone scandenolide*. *Planta Med.*, 60: 268-270.
- Bhattacharya S., S. Pal and A. K. Nag Chaudhuri, 1987. *Preliminary studies on the anti-inflammatory and analgesic activities of Mikania cordata (Burm f;)* B. L. Robinson *root extract*. *Med. Sciences Res.*, 15: 507-508.
- Tonzibo, Z.F., Brou, Florence, A.,Koffi, A. Muriel and J.C. Chalchat, 2009. *Geographic Variation in the Leaves Oils Composition of Mikania cordata (Burm.f.) B.L. Robinson from Cote d'Ivoire*. *European Journal of Scientific Research*, Cote d'Ivoire.
- Rabin K. P., A. Jabbar and M. A. Rashid, 2000. *Antiulcer activity of Mikania cordata*. *Fitoterapia*, 71: 701-703.
- Pratt. D. E, dan B.J.F. Hudson. 1990. *Natural Antioksidant Not Exploited Commercially*. Didalam : Hudson B.J.F. (ed). *Food Antioksidant*. Hlm. 171 – 192. Elsevier Applied Science, New York.
- Sankaran, K.V. 2010. *Mikania micrantha Mile a – minute weed*. APFISN. Kerala Forest Research Institute, Peechi. Kerala, India.