

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI-FRAKSI
DAUN EKOR KUCING (*Acalypha hispida* Burm. F) DENGAN METODE
PENGHAMBATAN REDUKSI WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1
(WST-1)**

Maya Febriyanti, Beylan W. Sanjaya, Supriyatna, Ajeng Diantini, Anas Subarnas
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor – Sumedang
Email : maya.febriyanti@gmail.com

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan salah satu penyebab terjadinya berbagai macam penyakit degeneratif seperti kanker, jantung koroner dan penuaan dini. Oleh karena itu dibutuhkan suatu antioksidan untuk meredam radikal bebas tersebut. Ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang memiliki aktivitas antioksidan. Tanaman ini telah diteliti sebelumnya dan menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol yang diperoleh melalui metode kromatografi telah dilakukan uji aktivitas *free radical scavenging* menggunakan metode DPPH. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari daun ekor kucing dengan metode penghambatan reduksi *Water Soluble Tetrazolium Salt* (WST-1). Aktivitas peredaman anion superoksida diukur dengan menggunakan perangkat uji superoksida dismutase (SOD). Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memberikan persentase penghambatan terbaik dibandingkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan air dengan persentase penghambatan sebesar 63.14% (10 µg/ml), 91.95% (100 µg/ml) dan 100% (1000 µg/ml). Senyawa yang teridentifikasi dalam fraksi etil asetat adalah flavonoid, kuinon, polifenol dan tanin. Jika dibandingkan dengan asam askorbat, fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan (*SOD like activity*) yang lebih tinggi

Kata kunci: radikal bebas, *Acalypha hispida*, superoksida dismutase (SOD)

ABSTRACT

Free radicals are one of the causes of a variety of degenerative diseases such as cancer, coronary heart disease and ageing. Therefore it takes an antioxidant to scavenge free radicals. *Acalypha hispida* Burm.f. is one of medicinal plants that has an antioxidant activity. This plant has been studied previously and showed that the *n*-hexane fractions from the methanol extract obtained from chromatographic separation had antioxidant activity in the DPPH method. In this study the antioxidant activity of the ethanol extract and fractions from the leaves of *A. hispida* were evaluated with the inhibition of *Water Soluble Tetrazolium Salt* (WST-1) reduction method. Scavenging activities of superoxide anion was measured using superoxide dismutase (SOD) assay kit. The results showed that the antioxidant activity of the ethyl acetate fraction gave the best inhibition percentages than ethanol extract, *n*-hexane fraction and water fraction with a percentage inhibition of 63.14% (10 µg / ml), 91.95% (100 µg / ml) and 100% (1000 µg / ml). The compounds identified in the ethyl acetate fraction were flavonoids, quinones, polyphenols and tannins. As compared with ascorbic acid, the ethyl acetate fraction had higher antioxidant activity (SOD like activity).

Key word: free-radical, *Acalypha hispida*, superoxide dismutase (SOD)

PENDAHULUAN

Kondisi dunia yang semakin maju dengan berbagai teknologi telah mendorong penghuninya menjadi manusia modern. Pola hidup manusia yang modern membuat tubuh kita secara terus-menerus membentuk radikal bebas akibat dari polusi lingkungan, sinar ultraviolet dan asap rokok. Akibat yang ditimbulkan oleh lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup, justru merangsang tumbuhnya radikal bebas yang dapat merusak tubuh kita, serta proses penuaan berdasarkan timbulnya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas (Parwata, 2010).

Radikal bebas kini dianggap berperan dalam patogenesis sebagian besar penyakit. Antioksidan adalah zat kimia yang menawarkan elektron mereka sendiri untuk radikal bebas, sehingga mencegah kerusakan sel. Banyak penelitian telah menunjukkan senyawa fitokimia dengan aktivitas antioksidan dapat mengurangi resiko kanker dan penyakit jantung. Oleh karena itu, diperlukan asupan antioksidan untuk mengurangi kerusakan sel dan proses penuaan (Potterat, 1997).

Ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F) merupakan tanaman hias yang tumbuh hampir diseluruh dunia. Skrining fitokimia terhadap ekstrak air dan ekstrak metanol *A.hispida* menunjukkan adanya senyawa fenolik, flavonoid, glikosida, steroid, phlobatanin, dan hidroksi antraquinon (Okondoruet al, 2009). Ekstrak *n*-heksana *A. Hispida* diketahui mengandung senyawa golongan alkaloid, karbohidrat, fenol, dan alkaloid. Uji toksisitas juga dilakukan terhadap ekstrak *A. hispida* menggunakan metode BSLT. Pengujian menunjukkan bahwa ekstrak *A. hispida* bersifat sitotoksik terhadap *A. salina* dengan LC_{50} 4,375 μ g/ml (Onocha et al., 2011). Asam galat, *corilagin*, *cycloartane-type triterpenoids*, flavonoid misalnya kuersetin, dan derivat

kaempferol juga telah diisolasi dari tumbuhan *A.hispida* (Adesina et al, 2000; Gutierrez-Lugo et al, 2002).

Aktivitas antioksidan *A. hispida* juga telah diuji oleh Onocha et al (2011). Fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol *A. hispida* yang diperoleh melalui metode kromatografi telah dilakukan uji aktivitas *free radical scavenging* menggunakan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH). Dari 16 fraksi (S1-S16) yang dikumpulkan, persentase inhibisi senyawa S10 (91.8 %), S11 (93.8 %), S14 (92.5 %) dan S15 (91.4 %) dengan konsentrasi 0.1 mg/ml memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan terhadap persentase inhibisi asam askorbat (90.9%). Aktivitas antioksidan tersebut dapat dihubungkan dengan metabolit sekunder yang terdapat pada *A. hispida* yaitu flavonoid dan fenol (Onocha, et al., 2011).

Berdasarkan penelitian ini, potensi tumbuhan ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F) sebagai sumber antioksidan alami perlu diteliti lebih lanjut terhadap parameter pengujian aktivitas antioksidan yang lain.

METODE PENELITIAN

Bahan tanaman: Daun Ekor Kucing

Bahan Kimia: Amil alkohol, aquadest, asam klorida, asam asetat, asam sulfat, besi (III) klorida, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 70%, etil asetat, metanol, natrium klorida, *n*-heksana, kalium hidroksida, kloroform, gelatin, Kalium iodida, Bismuth subnitrat, raksa (II) klorida, vanillin, *SOD assay kit-WST* (Dojindo Molekular Technologies, Inc.).

Alat : corong pisah, maserator, *96-well mikroplate reader* 450 nm (Dynex teknologi), mikropipet (Finnpipette), *rotary evaporator* (Heidolph-Bibby), timbangan analitik (AND EK-300i), *waterbath*, serta berbagai alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Kimia Bahan Alam, Unit Penelitian dan Pengabdian

kepada Masyarakat Farmasi (UPT UPPF) Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.

penghambatan radikal superoksida dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\frac{(A - A_0)}{A - A_1}$$

$$1 - \left(\frac{A - A_0}{A - A_1} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

As : Absorbansi sampel

Ak : Absorbansi kontrol

Ab : Absorbansi blanko

Metode

1. Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3 x 24 jam dengan cairan penyari etanol 70%. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi terhadap 450 gram simplisia daun *A.hispida* yang telah diblender menjadi potongan-potongan halus. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70 % dan dilakukan selama 3 x 24 jam. Ekstrak etanol hasil maserasi dipisahkan menggunakan *rotavapor* pada suhu 50°C.

2. Fraksinasi

Proses fraksinasi dilakukan dengan cara ECC (Ekstraksi Cair-Cair) menggunakan pelarut air, n-heksana dan etil asetat. Ekstrak kental hasil maserasi diambil sebanyak 30 gram dan dilarutkan dalam 400 ml air yang selanjutnya akan dilakukan pemisahan menggunakan corong pisah dengan pelarut yang tidak saling bercampur satu sama lain yaitu n-heksana yang dilanjutkan dengan etil asetat dengan perbandingan ekstrak cair : pelarut = 1 : 1.

3. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun *A.hispida*.

4. Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode WST-1 menggunakan *SOD assay kit-WST* (Dojindo Molekular Technologies, Inc.). Pada metode ini reduksi WST-1 menghasilkan senyawa formazan yang berwarna kuning yang dapat diukur absorbansinya dengan *mikro plate reader* pada panjang gelombang 450 nm dan persen

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan tanaman dikumpulkan dari Kebun Tanaman Obat Manoko, Lembang, Jawa Barat. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat. Rendemen ekstrak beserta fraksinya dan hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun *A.hispida*

No.	Ekstrak/Fraksi	Berat	Rendemen
1.	Ekstak Etanol	117.47	26.10%
2.	Fraksi n-heksana	1.3 g	4.33%
3	Fraksi etil asetat	8.53 g	28.43%
4	Fraksi air	12.47 g	41.56%

Tabel 2. Data Hasil Pemeriksaan Fitokimia Simplisia, Ekstrak Etanol *A.hispida* dan Fraksi-Fraksinya

Golongan	Simplisia	Ekstrak Etanol	Fraksi		
			<i>n</i> -heksan	Etil Asetat	Air
Alkaloid	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	-	+	+
Polifenol	+	+	-	+	+
Saponin	+	+	-	+	+
Steroid	+	+	+	-	-
tanin	+	+	-	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-	-
monoterpenoid	-	-	-	-	-
sesquiterpenoid	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) = terdeteksi ; (-) = tidak terdeteksi

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas dibandingkan dengan menghitung IC_{50} dan dibandingkan terhadap IC_{50} asam askorbat atau dengan menghitung persentase penghambatan dan dibandingkan terhadap presentase

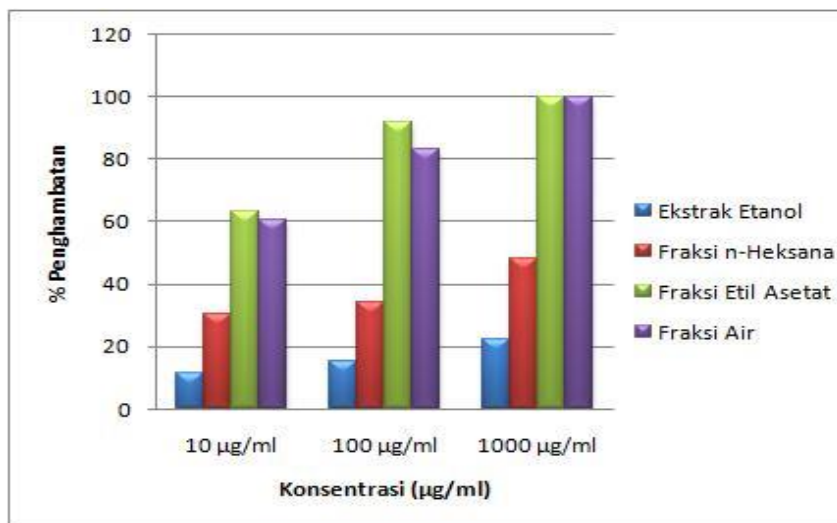
penghambatan asam askorbat. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol beserta fraksinya dan asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 3, Tabel 4 dan Gambar 1.

Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi *n*-heksana, Etil Asetat dan Fraksi Air

Konsentrasi	% Penghambatan			
	Ekstrak etanol	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	fraksi air
10 μ g/ml	11.27%	30.51%	63.14%	60.59%
100 μ g/ml	15.20%	33.90%	91.95%	83.05%
1000 μ g/ml	22.06%	48.31%	100%	100%

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Asam askorbat

Konsentrasi	% Penghambatan
17,613 μ g/ml	32.54%
88,065 μ g/ml	57.04%
176,13 μ g/ml	81.48%



Gambar 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi *n*-heksan Etil Asetat dan Fraksi A

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dalam 3 variasi konsentrasi dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 µl/ml, 100 µl/ml dan 1000 µl/ml. Dilihat dari persentase penghambatannya Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan persentase penghambatan pada konsentrasi 10 µg/ml sebesar 63,14%, 100 µg/ml sebesar 91,95% dan 1000 µg/ml sebesar 100%. Walaupun fraksi air pada konsentrasi 1000 µg/ml memiliki persentase penghambatan yang sama dengan fraksi etil asetat yaitu sebesar 100% tetapi pada konsentrasi 10 µg/ml dan 100 µg/ml fraksi etil asetat memiliki persentase penghambatan yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi air. Oleh karena itu, fraksi etil asetat lebih efektif dibandingkan fraksi air.

Dari hasil persentase penghambatannya, fraksi etil asetat memiliki persentase penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan asam askorbat yang dijadikan sebagai pembanding pada pengujian ini. Pada konsentrasi 100µg/ml fraksi etil asetat telah memberikan presentase inhibisi sebesar 91,95% sedangkan pada asam

askorbat dengan konsentrasi terbesar yang diuji yaitu sebesar 176,13 µg/ml memberikan presentase penghambatan yang lebih kecil yaitu sebesar 81,48%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan penghambatan reduksi WST-1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A.hispida* memiliki aktivitas antioksidan (*SOD like activity*) dengan persentase penghambatan pada konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml, dan 1000 µg/ml, yaitu sebesar 11,27%, 15,20% dan 22,06%.

Fraksi ekstrak etanol daun *A. hispida* yang memiliki aktivitas antioksidan (*SOD like activity*) terbaik adalah fraksi etil asetat dengan persentase penghambatan pada konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml, dan 1000 µg/ml, yaitu sebesar 63,14%, 91,95% dan 100%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi senyawa aktif dari senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik.

Selain itu, pengujian aktivitas antioksidan sebaiknya dilakukan dengan variasi konsentrasi yang lebih kecil dan tidak terlalu jauh sehingga aktivitas antioksidan yang didapatkan akan lebih maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesina, S.K., Idowu, O., Ogundaina, A.O., Oladimeji, H., Olugbade, T.A., Onawunmi, G.O. and Pais, M. 2000. Antimicrobial constituents of leaves of *Acalypha wikesiana* and *Acalyphahispida*. *Phytother* 14: 371-374.
- Gutierrez-Lugo M.T., Singh M.P., Maiese W.M., and Timmermann B.N. 2002. New antimicrobial cycloartane triterpenes from *Acalyphacommunis*. *J Nat Prod* 65: 872-875.
- Okondoru, S., T. Sokari, M. Okondoru and E. Chinakwe, 2009. Phytochemical and antibacterial properties of *Acalypha hispida* leaves. *Int. J. Nat. Applied Sci.*, 5: 38-45
- Onocha, P.A., Oloyede, G.K., and Afolabi, Q.O. 2011. Phytochemical Investigation, Cytotoxicity and Free Radical Scavenging Activities of Non-Polar Fractions of *Acalypha Hispida* (Leaves And Twigs). *Excli Journal* ;10:1-8
- Parwata, A., Ratnayani, K., dan Listya, A. (2010). Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba Pentandra*) Dan Madu Kelengkeng (*Nephelium Longata L.*). *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Udayana*
- Potterat, O. 1997. Antioxidants & Free Radical Scavengers of Natural Origin. *Current Organic Chemistry* 1, 415 - 440.