



JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e - ISSN : 2597-9531

p - ISSN : 2597-9523



Aktivitas Antioksidan Fraksi Metanol Daun Jeringau Merah (*Acorus Sp.*) Metode DPPH

✉ **Wahdaniah, Mega Erika, Indah Purwaningsih**
Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

E-mail : wahdasabolakna@gmail.com

Submitted : 5 Oktober 2020; **Revised** : 29 Oktober 2020; **Accepted** : 19 November 2020

Published : 30 November 2020

Abstract

Antioxidant is a compound that is able to counteract or reduce the negative effect of free radicals by donating one of its electrons so that free radicals are more stable and prevent chain reactions from occurring. Red jeringau is one of the endemic plants of West Kalimantan that found in various areas of Sanggau, Ngabang, and Kapuas Hulu which have been widely used by the inland Dayak communities in treating various diseases. Jeringau plants contain several chemical compounds including flavonoids, phenols, saponins, tannins and steroids which have potential as antioxidants. The purpose of this study was to determine the methanol fraction antioxidant activity of the red jeringau. The extraction process is carried out by maceration using methanol as a solvent for 3 x 24 hours, wherein every 24 hours the solvent is replaced. After the methanol extract is obtained then it is carried out fractionation with the solvent based on the level of polarity namely ethyl acetate and methanol. Then the flask was precipitated to form two layers consisting of an upper layer of the methanol fraction and a lower layer of the ethyl acetate fraction. The results of the methanol fraction are then collected and evaporated. The method used to measure antioxidant activity is the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The sample used in this study was methanol fraction of red jeringau leaves concentrations of 150, 125, 100, 75 and 50 ppm with repetition three times. Based on the results of the study showed that the methanol fraction of red jeringau leaf contains secondary metabolites, namely alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, phenols, steroids, and glycosides and has a strong antioxidant activity because it has a value of IC₅₀ of ppm.

Keywords : Antioxidants, DPPH, *Acorus sp.*

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menangkal atau merendahkan efek negatif dari radikal bebas dengan cara mendonorkan salah satu elektronnya sehingga radikal bebas bersifat lebih stabil dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah jeringau merah. Jeringau merah merupakan salah satu tanaman endemic Kalimantan Barat yang terdapat di berbagai wilayah Sanggau, Ngabang, dan Kapuas Hulu yang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pedalaman suku Dayak dalam mengobati berbagai penyakit. Tanaman jeringau mengandung beberapa senyawa kimia antara lain flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan steroid yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi metanol daun jeringau merah. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam, dimana pelarutnya diganti setiap 24 jam sekali. Ekstraksi metanol yang diperoleh selanjutnya di fraksinasi dengan pelarut berdasarkan tingkat kepolaran yaitu etil asetat dan metanol. Kemudian campuran dimasukkan ke dalam corong pisah dan digojog kuat. Selanjutnya labu gojog dibiarkan hingga terbentuk kedua lapisan yaitu lapisan atas fraksi metanol dan lapisan bawah fraksi etil asetat. Hasil fraksi metanol kemudian ditampung dan diuapkan. Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu fraksi metanol daun jeringau merah konsentrasi 150, 125, 100, 75 dan 50 ppm dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi metanol daun jeringau merah memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, steroid, dan glikosida serta memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki IC₅₀ sebesar 77 ppm.

Kata Kunci : Antioksidan, DPPH, *Acorus sp.*

PENDAHULUAN

Penyakit menjadi salah satu hal yang sangat ditakuti oleh banyak orang karena mampu membuat rasa tidak nyaman atau menderita pada bagian tubuh yang terganggu sehingga tidak dapat bekerja dengan semestinya. Penyakit degeneratif atau yang biasa disebut penyakit tidak menular merupakan penyakit yang mengikuti proses penuaan dan muncul akibat adanya proses kemunduran fungsi sel tubuh. Penderita penyakit degeneratif sering kali menderita oleh orang yang berusia lanjut (Dwisatyadini, 2017).

Penyakit tidak menular menjadi permasalahan kesehatan yang cukup serius dalam 2 dekade terakhir ini. Penyakit degeneratif seperti penyakit jantung bahkan menjadipembunuh nomor satu. Rata-rata 80% dari kematian penyakit degeneratif banyak faktor yang menyebabkan terjadinya penyakit degeneratif misalnya karena gaya hidup dan pola makan yang tidak sehat (Widyaningsih, 2017).

Faktor penyebab penyakit degeneratif salah satunya adalah radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan satu atau lebih elektronnya. Akibat kehilangan elektron tersebut maka radikal bebas yang mencari elektron pasangannya. Keadaan ini menyebabkan radikal bebas akan membentuk reaksi berantai sehingga bersifat sangat reaktif, tidak stabil, dan dapat merusak sel. Apabila proses terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan fungsi sel menjadi tidak normal dan dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan bermacam-macam penyakit degeneratif (Yuslianti, 2018).

Antioksidan merupakan molekul yang dapat memberikan sebuah elektron kepada radikal bebas, sehingga sifat reaktifitasnya berkurang. Kemampuan antioksidan adalah dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh serangan radikal bebas. Tubuh manusia mampu membentuk sendiri antioksidan alami untuk menangkal radikal bebas yang masuk, namun karena proses pembentukan antioksidan alami dalam tubuh tidak sebanding dengan jumlah serangan radikal bebas yang terjadi disepanjang hidup maka dibutuhkan antioksidan yang lebih banyak lagi yang dapat diperoleh dari luar tubuh (Winarsi, 2011).

Tanaman yang menarik untuk diteliti sebagai antioksidan salah satunya adalah tanaman Jeringau Merah. Jeringau merah memiliki Nama ilmiah *Acorus sp.* Di Indonesia tanaman ini lebih dikenal juga dengan Nama Dringo atau Jerangau. Jeringau merah merupakan kerabat dari jeringau putih (*Acorus calamus*) merupakan salah satu tanaman endemik Kalimantan Barat yang terdapat di berbagai wilayah Sanggau, Ngabang, dan Kapuas Hulu yang telah banyak dimanfaatkan masyarakat pedalaman suku Dayak dalam mengobati berbagai penyakit (Safrina, Susanti dan Sari, 2018).

Tanaman jeringau ini dapat mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain saponin, tanin, alkaloid, steroid, terpenoid, minyak atsiri (alfa dan beta asaron), dan flavonoid. Senyawa flavonoid, saponin, dan tanin merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar maka dari itu pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kumar dkk tahun 2013 menyatakan bahwa ekstrak etanol daun jeringau (*Acorus calamus*) memiliki senyawa kimia golongan flavonoid dan terpenoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Subatharra (2012) menunjukkan bahwa ekstrak daun jeringau memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 86,45 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pinky Chaubey dkk (2018) menyatakan bahwa ekstrak daun *Acorus calamus* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 106,44 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Fraksinasi merupakan metode yang digunakan pada penelitian karena memiliki kelebihan yaitu dapat memisahkan senyawa yang berdasarkan tingkat kepolaran. Metode yang digunakan dalam fraksinasi yaitu menggunakan corong pisah. Corong pisah digunakan untuk memisahkan komponen dalam campuran antara dua fase pelarut yang memiliki masa jenis berbeda tidak saling bercampur. Pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih besar akan berada di bawah dan pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih kecil akan berada di atas. Kemudian komponen kimia terpisah ke dalam kedua fase tersebut berdasarkan tingkat kepolarannya sehingga pada saat difraksi senyawa yang bersifat polar seperti tanin, flavonoid, dan saponin lebih mudah ditarik oleh pelarut (Dalimunthe et al., 2016). Penelitian terhadap aktivitas antioksidan jeringau merah masih sangat terbatas apabila dibandingkan dengan jeringau putih, namun karena keduanya memiliki gambaran aktivitas antioksidan yang serupa.

Pengukuran aktivitas antioksidan secara umum dilakukan dengan metode DPPH (2,2-diphenil-1-picrylhydrazil). Metode DPPH merupakan metode *in vitro* yang sering dipilih sebagai metode pengujian aktivitas dengan antioksidan, karena pengerjaannya yang sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel (Lung dan Destini, 2017). Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah nilai IC_{50} (inhibitory concentration) didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (Aditia, Desniar dan Trilaksana, 2018).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan fraksi metanol dan jeringau merah (*Acorus sp.*) dengan metode DPPH (2,2-diphenil-1-picrylhydrazil).

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah gelas beker, labu Erlenmeyer, labu ukur, labu gojog, batang pengaduk, pipet ukur, pipet tetes, tabung reaksi, mikro pipet, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, timbangan, neraca analitik, thermometer, waterbath, aluminium foil dan label.

Bahan yang digunakan adalah fraksi metanol daun jeringau merah konsentrasi 150 ppm, 125 ppm, 100 ppm, 75 ppm, 50 ppm, metanol p. a dan larutan DPPH 0,1 mm.

Penyiapan Bahan Uji

Tumbuhan yang digunakan penelitian didapatkan di jalan MT. Haryono Desa Rasau Jaya 2, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat. Determinasi tumbuhan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Tujuan dari determinasi adalah untuk menentukan bahwa tanaman sebagai bahan uji yang didapatkan dari Desa Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat adalah betul merupakan tanaman daun jeringau merah.

Pengolahan Simplisia

Daun jeringau merah dikumpulkan sebanyak 5 kg sebagai berat basah, disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Lalu, daun jeringau tersebut dikeringkan dalam alat cabinet dryer pada suhu 50°C selama 72 jam. Setelah itu, disortasi kering dan ditimbang berat keringnya, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan 85 mesh. Hasil ayakan disimpan ditempat tertutup, kering, dan bersih serta terhindar dari sinar matahari langsung.

Penetapan Kadar Air

Masukkan ekstrak sebanyak 1 gr dan ditimbang dalam wadah yang telah ditara, kemudian lakukan pengeringan pada suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang, lanjutkan pengeringan dan ditimbang pada jarak 1 jam hingga di dapatkan perbedaan berat antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%, kadar air dalam ekstrak tidak boleh lebih dari 10%

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak metanol daun jeringau merah dilakukan secara maserasi. Tujuan dari maserasi adalah untuk menarik zat yang ada di dalam simplisia dengan cara penyaring akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan penyaring itu terjadi proses pelarutan sehingga penyaring yang masuk ke dalam sel tersebut akhirnya mengandung zat aktif. Simplisia daun jeringau merah yang telah diayak masukkan ke Erlenmeyer, ditambahkan

pelarut metanol kemudian ditutupi dengan aluminium foil. Perendaman simplisia dilakukan selama 3x24 jam dimana pelarutnya diganti setiap 24 jam, karena zat yang tersari di dalam sel bedifusi keluar sel. Maserasi dikatakan optimal apabila ampas yang diperoleh ditetesi dengan FeCl₃ tidak terbentuk warna hijau, biru atau hitam pekat. Hasil maserasi dikumpulkan dan dilakukan penyaringan dan didapatkan filtratnya. Filtrate yang didapatkan kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai cukup pekat dan selanjutnya ekstrak pekat dioven hingga terbentuk ekstrak kental dan dihitung rendemennya.

Fraksinasi

Ekstrak kental hasil maserasi dilarutkan terlebih dahulu dengan pelarut metanol menggunakan beker glass, kemudian larutan dimasukkan kedalam corong pisah sebanyak 200 ml dan ditambahkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 200 ml. kemudian larutan digojog kuat, dan didiamkan hingga terbentuk kedua lapisan yaitu lapisan fraksi metanol dan fraksi etil asetat. Fraksi metanol berada dibagian atas dan fraksi asetat berada dibagian bawah. Hal ini disebabkan karena berat jenis pelarut metanol lebih kecil dari pada pelarut etil asetat. Hasil fraksi metanol yang diperoleh kemudian ditampung dan diuapkan dengan rotary evaporator suhu 40-50°C.

Uji Penetapan Susut Pengeringan Untuk Mengetahui Sisa Pelarut

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrakdirata dalam botol timban dengan menggoyangkan botol sampai lapisan setebal ±5-10 mm, ekstrak yang diuji merupakan ekstrak kental yang diratakan menggunakan bantuan batang pengaduk, kemudian dimasukkan ke dalam lemari pengering, buka tutupnya, keringkan beserta tutup botolnya pada suhu 105°C hingga bobot tetap, botol harus segera ditutup jika lemari pengering dibuka. Masukkan botol kedalam desikator, biarkan dingin, kemudian lanjutkan pengeringan pada suhu 105°C sampai botol tetap pengeringan yang dilanjutkan hingga pada perbedaan dua kali penimbangan berturut-turut tidak boleh lebih dari 0,50 mg untuk tiap gram zat yang digunakan, penimbangan kedua dilakukan setelah dipanaskan lagi selama 1 jam (De-kes RI, 2000).

Uji Skrinning Fitokimia

Alkaloid

0,1 gr ekstrak sampel di larutkan dalam 10 ml CHCl₃ dan 4 tetes NaOH kemudian saring kedalam tabung reaksi dan kocok. Tambahkan H₂SO₄ dan kocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan yang berada

diatas diambil untuk diujikan masing-masing dengan pereaksi Mayer, pereaksi Wagner dan pereaksi Dragendorf. Ekstrak sampel yang positif mengandung alkaloid dengan pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih, pereaksi Wagner menghasilkan endapan coklat kemerahandan pereaksi Dragendorf-menghasilkan endapan jingga (Najib, 2018).

Uji Fenol

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tees air panas dan beberapa tetes larutan FeCl_3 . Perubahan warna larutan menjadi 1 biru kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol (Hanani, 2017).

Uji Flavonoid

Ekstrak bagian tumbuhan ditambahkan larutan FeCl_3 , terbentuknya warna hijau biru menunjukkan adanya flavonoid (Hanani, 2017).

Uji Tanin

Ekstrak bagian tumbuhan ditambahkan larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl 10%. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya tanin (Kumoro, 2015).

Uji Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak bagian tumbuhan dan 1 ml etanol dituangkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan ai suling 20 ml dan dikocok kuat selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil ± 1 cm selama 20 menit menunjukkan adanya saponin (Kumoro, 2015).

Uji Steroid Dan Triterpenoid

0,1 gr ekstrak sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform lalu tambahkan

10 tetes anhidrida dan 3 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif triterpenoid ditandai terbentuknya cincin kecoklatandan munculnya warna hijau menandakan adanya steroid (Agustikawati, Andayani Dan Suhendra., 2017)

Uji Glikosida

Pemeriksaan glikosid dilakukan dengan reaksi Liebermann Buchard. Diuapkan 0,1 mL larutan uji diatas penangas air, dilarutkan sisanya 5 mL asam asetat anhidrat. Ditambahkan 10 tetes asam sulfat (Janah, Husni dan Nursanty, 2017).

Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH

Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

Sebanyak 3,9432 mg serbuk DPPH (BM 394,32) dilarutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. volume dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas, kemudian ditempatkan dalam botol gelap (Ulfah, 2016).

Penentuan panjang gelombang serapan maksimal DPPH

Sebanyak 2 ml larutan DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan metanol

p.a sebanyak 2 ml, tutup dengan aluminium foil, dihomogenkan lalu diukur panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Ulfah, 2016).

Pembuatan larutan standar DPPH

Larutan standar DPPH dibuat dengan cara menimbang 25 mg DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas kemudian dihomogenkan dan didapatlah konsentrasi larutan standar DPPH 1000 ppm. Lalu dibuat larutan uji dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm dengan cara memipet 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan 5 ml dari larutan induk dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, kemudian ditutup dengan aluminium foil, lalu di homogenkan. Basa absorban standar DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Pembuatan larutan blanko

Dipipet 2 ml larutan DPPH 0,1 Mm ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan metanol p.a sebanyak 2 ml. Tutup dengan aluminium foil, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Serapannya larutan blanko diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Ulfah, 2016).

Pembuatan larutan uji fraksi etanol daun jeringau merah (Acorus sp.)

Pembuatan larutan induk 1000 ppm

Fraksi metanol daun jeringau merah ditimbang 50 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a pada labu ukur 50 l, kemudian volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dan didapatkan larutan uji 1000 ppm (larutan induk). Dari larutan induk dibuat seri konsentrasi 150 ppm, 125 ppm, 100 ppm, 75 ppm dan 50 ppm.

Pembuatan larutan uji fraksi metanol daun jeringau merah

Dari larutan induk 1000 ppm dipipet 1,5 ml dan dicukupkan hingga 10 ml dengan metanol sehingga didapat konsentrasi 150 ppm, dari larutan induk 1000 ppm dipipet 1,25 ml dan dicukupkan hingga 10 ml dengan metanol sehingga didapat konsentrasi 125 ppm, dari larutan induk 1000 ppm dipipet 1 ml dan dicukupkan hingga 10 ml dengan metanol sehingga didapat konsentrasi 100 ppm, dari larutan induk 1000 ppm dipipet 0,75 ml dan dicukupkan hingga 10 ml dengan metanol sehingga didapat konsentrasi 75 ppm, dari larutan induk 1000 ppm dipipet 0,5 ml dan dicukupkan hingga 10 ml dengan metanol sehingga didapat konsentrasi 50 ppm.

Pengukuran serapan dengan spektrofotometer UV-Vis

Masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 3 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambah-

kan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1 ml kemudian ditutup dengan aluminium foil, lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit lalu diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-VIS (Erlidawati dan Safrida, 2018). Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH 0,1 mM. Dilakukan pengulangan pengukuran sebanyak 3 kali pada setiap konsentrasi larutan uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Sampel penelitian berupa daun jeringau merah yang diambil dari jalan MT. Haryono Desa Rasau Jaya 2, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Hasil yang diperoleh determinasi sampel tumbuhan yang dikeluarkan pada tanggal 17 juni 2020 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah benar tanaman jeringau merah (*Acorus sp.*).

Hasil uji kadar air

Uji kadar air dilakukan terhadap simplisia daun jeringau merah didapatkan hasil yaitu sebesar 5,043%.

Hasil ekstraksi dan fraksinasi

Ekstraksi dilakukan di laboratorium kimia biologi di fakultas teknik pertanian politeknik negri Pontianak. Dari proses ekstraksi didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 66,2 gram kemudian di fraksinasi. Proses fraksinasi dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Dari proses ini didapatkan fraksi metanol sebanyak 19,20 gram.

Hasil Uji Susut Pengeringan

Hasil uji susut pengeringan dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi metanol daun jeringau merah yaitu sebesar 6,889 dan 7,797%.

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol dan fraksi metanol daun jeringau di dapatkan hasil positif Alkaloid (pereaksi wagne), Flavonoid, Steroid dan triterpenoid, Saponin, Tanin, Fenol, Glikosida (reaksi Liebermann-burchard).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, yang akan di dapat dinyatakan bahwa serapan maksimum DPPH berada pada panjang gelombang 515 mm.

Tanaman yang digunakan penelitian ini adalah daun jeringau merah (*Acorus sp.*) daun jeringau merah diperoleh dari jalan MT. Haryono Desa Rasau Jaya

2, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi

Kalimantan Barat dan telah Dilakukan Determinasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Determinasi tumbuhan dilakukan untuk mengetahui jenis dan kesesuaian tanaman yang kita teliti. Adapun bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeringau merah (*Acorus sp.*).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi metanol daun jeringau merah yang dipilih sesuai dengan berbagai kriteria yang telah ditetapkan seperti daun yang berwarna hijau, segar, dan tidak busuk. Besarnya sampel yang diambil menggunakan metode replikasi. Replikasi merupakan engulangan eksperimen agar menghasilkan taksiran yang lebih baik. Eplikasi dalam penelitian ini dilakukan paa pengukuran absorbansi dengan spektrofotomete (Sadiyah et al., 2019). Penelitian dalam bidang farmakologi setidaknya dilakukan sebanyak 3 kali replikasi untuk menghasilkan data yang akurat. Kemudian replikasi juga digunakan untuk meminimalisir kesalahan secara bertahap, namun jumlah replikasi juga dibatasi oleh sumber yang ada seperti waktu, fasilitas, tenaga, dan biaya. Oleh sebab itu pada penelitian ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Daun dikumpulkan sebanyak 5 kg sebagai berat basah, dicuci dengan air mengalir, lalu disortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran dan bagian tanaman yang rusak, etelah itu dikeringkan. Pengeringan dilakukan menggunakan alat cabinet dryer selama 24 jaam pada suhu 40-50°C. selama proses pengeringan, sampel didalam cabinet dibolak balik lalu diubah posisi susunannya. Tujuannya agar sampel mendapatkan pemerataan efek panas secara sempurna sehingga didapatkan tingkat kekeringan yang seragam serta waktu pengeringan lebih cepat. Sampel yang sudah kering diandai dengan kelopak berwarna kecoklatan dan crispy (mudah pecah) jika diremas. Setelah itu simplisia disortasi kering dan dihaluskan dengan blender dan diperoleh serbuk halus sebanyak 500 gram.

Setelah itu dilakukan uji kadar air pada simplisia. Kada air simplisia daun jeringau sebesea 5,043%. Uji kadar air berfungsi untuk mengetahui ketahanan sampel terhadap penyimpanan. Jika kadar air terlalu tinggi didalam simplisia maka memudahkan mikroorganisme untuk tumbuh. Kadar air yang baik adalah kurang dari 10% karena pada tingkat kadar air tersebut simplisia tidak akan mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan juga tidak ditumbuhi fungi selama waktu penyimpanan. Selanjutnya simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Metode maserasi dipilih karena pengerjaannya yang tidak rumit dan cukup sederhana yaitu dengan cara merendam bahan simplisia ke dalam cairan penyaring. Pelarut yang digunakan ada penelitian ini adalah metanol dikarenakan sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar maupun non polar (Hermanda, Hidayat dan Rijai, 2016). Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dimana pelarut diganti setiap 24 jam sekali hal ini bertujuan agar memudahkan masuknya pelarut ke dalam sel sehingga terjadilah proses difusi secara terus-menerus sampai konsentrasi zat aktif yang berada diluar sel dan didalam sel jenuh atau seimbang. Proses pengadukan bertujuan untuk memaksimalkan saat proses penarikan zat aktif oleh pelarut. Pelarut dari proses maserasi disebut sebagai maserat tamping. Kemudian maserat yang diperoleh pada hari pertama, kedua, dan ketiga diuapkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental merupakan ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar. Disebut sebagai ekstrak kental karena memiliki kadar air antara 5-30% (Voight, 1995).

Setelah didapatkan ekstrak kental, selanjutnya di fraksinasi dengan menggunakan corong pisah. Metode ini dipilih karena memiliki kelebihan yaitu dapat memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya sehingga pada saat di fraksi senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar begitu juga dengan pelarut non polar senyawa akan tertarik ke pelarut non polar. Ekstrak dilarutkan dengan pelarut metanol kemudian dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dan aquades. Fungsi penambahan aquades adalah untuk memperjelas pelarut etil asetat dan metanol. Kemudian dicampurkan masukkan ke corong pisah, dan di gojog kuat. Selanjutnya labu gojog didiamkan hingga terbentuk kedua lapisan yaitu lapisan fraksi metanol dan fraksi etil asetat. Fraksi metanol berada dibagian atas dan fraksi etil asetat berada dibagian bawah. Hal ini disebabkan karena berat jenis pelarut metanol (0,792 g/mL) lebih kecil dari pelarut etil asetat (0,894 g/mL). Hasil fraksi metanol kemudian ditampung dan diuapkan.

Kemudian setelah didapatkan fraksi metanol, dilakukan uji penetapan susut pengeringan. Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui apakah bahan pada saat pemanasan tidak hanya kehilangan air, namun juga kehilangan bobot yang disebabkan oleh adanya sisa pelarut yang mudah menguap. Pada penelitian ini didapatkan hasil uji susut pengeringan ekstrak dan fraksi metanol daun jeringau merah sebesar 6,889% dan 7,797%. Selanjutnya dilakukan uji skrining fitokimia pada ekstrak dan juga fraksi metanol

meliputi uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenol, steroid/triterpenoid dan glikosida. Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak metanol daun jeringau merah menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, steroid dan glikosida. Sedangkan pada hasil uji skrining fitokimia pada fraksi metanol menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, steroid dan glikosida.

Metanol pada umumnya merupakan pelarut polar yang memiliki kelebihan dalam mengekstraksi komponen senyawa pada ekstrak dan juga dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang ada pada sampel uji, baik yang bersifat polar maupun non-polar sehingga pada saat difraksinasi kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, steroid dan terpenoid lebih mudah ditarik oleh pelarut metanol.

Senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan adalah senyawa golongan flavonoid, fenol, saponin dan tanin. Flavonoid dan fenol merupakan senyawa golongan fenolik, yaitu senyawa dengan gugus (-OH) yang terikat pada karbon cincin aromatik. Senyawa fenol ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen sehingga radikal bebas DPPH dapat tereduksi lebih stabil. Aktivitas perendaman radikal bebas oleh senyawa fenol dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil yang dimiliki oleh senyawa fenol maka akan semakin besar aktivitas antioksidan (Prasanto, Riyanti dan Gartika, 2017). Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang bekerja langsung untuk meredam radikal bebas oksigen, seperti superoksida yang dihasilkan dari reaksi enzim xantin oksidase. Selain itu flavonoid juga memiliki kemampuan mengikat ion logam dan menghambat proses oksidasi lipid. Saponin merupakan senyawa yang terdiri dari saponin yaitu bagian bebas dari glikosida yang disebut aglikon. Senyawa ini mempunyai efek antioksidan dengan membentuk hidroperoksida sebagai antioksidan sekunder sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Syarif, Muhaji dan Ahmad, 2015). Senyawa tanin merupakan salah satu golongan senyawa polifenol yang banyak dijumpai pada tanaman. Tanin memiliki struktur kimia terdiri dari cincin benzene (C₆) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH).

Tanin termasuk senyawa pereduksi yang mencegah terjadinya proses reaksi oksidasi dengan cara mendonorkan atom hidrogen (Mabrurroh, 2015).

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diuji mengukur daya tangkap terhadap radikal bebas den-

gan menggunakan radikal sintetik atau biasa disebut dengan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazir). Prinsip pengukuran antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode ini dengan adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan yang memberikan warna ungu dan warnanya berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan warna ungu terjadi adanya perendaman radikal bebas yang dihasilkan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuklah senyawa difenil pikri hildrazin dan menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna akan memberikan perubahan absorbansi panjang gelombang maksimum yang diukur sehingga akan diketahui nilai aktivitas perendaman radikal bebas dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} konsentrasi fraksi (ppm) menghambat radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier antara % penghambatan serapan dengan berbagai konsentrasi fraksi (larutan uji). Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Rizkayanti et al., 2017). Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi beberapa kategori yaitu sangat kuat, kuat, sedang, lemah dan sangat lemah. Menurut Molyneux (2004) antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 pp, antioksidan kuat memiliki nilai IC_{50} pada kisaran 50 ppm hingga 100 ppm, antioksidan lemah memiliki kisaran IC_{50} 150 ppm hingga 200 ppm lemah, dan lebih dari 200 ppm merupakan antioksidan dengan kategori sangat lemah.

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan agar dapat memberikan serapan paling tinggi atau maksimal serta memberikan kepekaan paling besar. Panjang gelombang maksimum DPPH yang berada pada panjang gelombang 515 nm dan absorbansi sebesar 1,209. Penurunan absorbansi DPPH ditunjukkan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Semakin besar penurunan absorbansi DPPH maka semakin kuat aktivitas antioksidannya.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pinky Chaubey (2018) menunjukkan bahwa ekstrak daun jeringau putih (*Acorus Calamus* Linn.) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sednag dengan nilai IC_{50} sebesar 106,44 ppm, sedangkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi metanol daun jeringau merah memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat karena memiliki IC_{50} antara 50-100 yaitu sebesar 77 ppm. Kuatnya aktivitas antioksidan fraksi metanol daun jeringau disebabkan karena

adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang tersari pada saat proses ekstraksi. Kemudian di fraksinasi kembali sehingga senyawa metabolit sekunder yang ditarik pada saat di fraksi memberikan hasil uji skrining fitokimia yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

PENUTUP

Berdasarkan hasil yang didapatkan penelitian aktivitas antioksidan fraksi metanol daun jeringau merah (*Acorus* sp.) dengan metode DPPH dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol daun jeringau merah memiliki kandungan metabolit sekunder seperti yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol, steroid, dan glikosida. Fraksi metanol daun jeringau merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki nilai IC_{50} antara 50-100 ppm yaitu 77 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditia, R. P., Desniar, & Trilaksana, W, 2018, Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Hidrolisat Protein Hasil Fermentasi Telur Ikan Cakalang, *Journal IPB, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Institute Pertanian Bogor, Vol 21, No 1, pp 1-12*
- Dalimunthe, C. I., Sembiring, Y. R., Andriyanto, M., Siregar, T. H., & Darwis, H. S, 2016, Identifikasi dan Uji Metabolit Sekunder Bangun-Bangun (*Coleus Amboinicus*) Terhadap Penyakit Jamur Akar Putih (*Rigidoporus Microsporus*) di Laboratorium, *Jurnal Penelitian Karet, Pusat Penelitian Deli Serdang Sumatra Utara, Vol 34, No 2, Pp. 189-200.*
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat (1st ed.)*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Erlidawati, Safrida, & Muklis, 2018, *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes (1st ed.)*, Syiah Kuala University Press, Banda Aceh.
- Hanani, E, 2017 *Analisis fitokimia*, Edited By T. V. D. Hardinata and A. Hanif, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hermenda, R., Widayat, W., & Rijai, L, 2016, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Akar Tumbuhan Merung (*Coptosapelta Tomentosa*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Farmasi, Vol 1, No 1, pp. 3220329.*
- Kumoro, 2015, *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat (1st ed.)*, Plantaxia, Yogyakarta
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P, 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode

- DPPH, *Jurnal Farmasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Vol 15, No 1, Pp. 53-62
- Mabruroh, A. I., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rempot Bambu (*Lophatherum Gracile Brongn*) dan Identifikasinya, Skripsi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Najib, A, 2018, Ekstraksi Senyawa Bahan Alam (1st ed.), Deepublish, Yogyakarta
- Prasonto, D., Riyanti, E., & Gartika, M, 2017, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih, *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjajaran, ODONTO Dental Journal*, Vol 4, No 2, Pp 122-128.
- Rizkayanti, Wahid, A., & Juara, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oliefera LAM*), *Jurnal Kademika Kimia, FKIP Kimia, Universitas Tadulako, Palu*, Vol 6, No 2, pp. 125-131.
- Safrina, N., Susanti, R., & Sari, R, 2018, Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus Sp.*) Terhadap Radang Kaki Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Karagenan, *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran, Program Studi Framasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak*, vol 45, no 6, pp. 409-413
- Syarif, R. A., Muhajir, & Ahmad, A.R, 2015, Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Etanol Daun *Cordia Myxa L.*, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar*, Vol 2, No 1, 1, pp.83-89.
- Ulfah, S, 2016, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum Linn*) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1- Pikrilhidrazil), Skripsi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Widyaningsih, T. D, 2017, Pangan Fungsional: Aspek Kesehatan, Evaluasi, dan Regulasi, Unversitas Brawijay Press (Ub Press), Malang.
- Winarsi, H, 2011, *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*, Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Yuslianti, E. R, 2018 *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*, (1st Ed), Depublish, Yogyakarta.