



**UJI PENANGKAPAN RADIKAL 2,2-DIFENIL-1-PIKRIHIDRAZIL DAN
PROFIL BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG
BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Auct. non Lamk.)**

Samirana, P. O.¹, Putra, P. A. S.¹, Leliqia, N. P. E.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Putu Oka Samirana

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email: oka_samirana@unud.ac.id

ABSTRAK

Bidara atau yang dikenal dalam bahasa latin *Ziziphus mauritiana* Auct. non Lamk. telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan yang dimiliki tanaman ini berasal dari metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Ziziphus mauritiana* dan mengetahui golongan senyawa apa yang berperan dalam menciptakan aktivitas antioksidan dengan profil bioautografi.

Uji penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. Mauritiana* dengan parameter nilai IC₅₀. Penentuan profil bioautografi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang berperan dalam aktivitas antioksidan yang meliputi pemeriksaan terhadap senyawa golongan triterpenoid, saponin, flavonoid, dan alkaloid.

Hasil pengujian menunjukkan, ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. Mauritiana* memiliki kemampuan penangkapan radikal bebas dengan IC₅₀ 19,32±0,17 µg/mL. Senyawa golongan saponin dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak diketahui memiliki aktivitas antioksidan.

Kata Kunci: Bidara, *Ziziphus mauritiana*, Kulit Batang, Ekstrak Etanol, Antioksidan, Bioautografi

1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan untuk mengembalikan keseimbangannya, maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Marks *et al.*, 2000). Radikal bebas atau biasa disebut

ROS (*reactive oxygen species*) dapat diproduksi di dalam tubuh selama metabolisme sel normal dan apabila jumlahnya berlebih, maka ROS dapat menyerang molekul biologis seperti lipid, protein, dan enzim yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan sel atau jaringan.

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Dalam hal



kesehatan manusia, antioksidan merupakan salah satu komponen yang mampu menghambat ROS, spesies nitrogen reaktif, dan juga radikal bebas di dalam tubuh. Tubuh manusia memiliki antioksidan alami di dalamnya, akan tetapi terkadang antioksidan di dalam tubuh ini jumlahnya tidak cukup untuk mengatasi semua radikal yang ada di dalam tubuh. Sehingga diperlukan antioksidan dari luar tubuh yang dapat diperoleh dari alam.

Tumbuhan merupakan salah satu sumber antioksidan di alam. Kandungan metabolit sekunder tumbuhan dapat memiliki aktivitas antioksidan yang dapat dimanfaatkan manusia. Salah satu tumbuhan yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah bidara

Bidara atau *Ziziphus mauritiana* telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Samirana *et al.*, 2014). Perumal *et al.* (2012), melaporkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *Z. mauritiana* memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} $20,09 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan standar BHT yang memiliki nilai IC_{50} sebesar $18,50 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$. Perbedaan tempat tumbuh dapat mempengaruhi kualitas dari metabolit sekunder yang dihasilkan yang berdampak pada khasiat dari tanaman itu sendiri (Ekka *et al.*, 2008). Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari kulit batang tumbuhan bidara yang ada di daerah Bukit Jimbaran Bali dan mengetahui golongan senyawa apa yang berperan sebagai antioksidan.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan Penelitian

Kulit batang *Z. mauritiana* dari daerah Bukit Jimbaran, Kabupaten Badung, Bali, etanol 96%, plat silika gel GF₂₅₄ (Merck), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), pereaksi vanilin-asam sulfat, vitamin C, pelarut seperti amonia, etil asetat, butanol, asam asetat, kloroform, metanol dan toluen

yang masing-masing berderajat pro analisis dan *Aquadest* yang berderajat teknis.

2.2 Alat Penelitian

Toples kaca, *blender*, sudip, sendok tanduk, pisau, alat gelas, timbangan analitik (AND[®]), kertas saring, *Rotary evaporator* (Eyela[®]), Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu 1240 UV Mini) dan alat semprot

2.3 Preparasi Sampel

Kulit batang *Z. mauritiana* diperoleh dari daerah Bukit Jimbaran, Bali. Sampel kulit batang selanjutnya dikeringkan terhindar dari sinar matahari langsung. Serbuk simplisia selanjutnya dibuat dengan menggunakan *blender* dan pengayak.

2.4 Ekstraksi

Sebanyak 1 kg serbuk kulit batang *Z. mauritiana* kering dimaserasi dengan etanol 96% selama ± 24 jam. Pengadukan dilakukan sesekali selama maserasi. Maserat yang didapat kemudian disaring dan residu dimaserasi kembali. Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Filtrat yang didapat kemudian ditampung menjadi satu dan diuapkan dengan menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 45-50°C. Rendemen ekstrak hasil maserasi kemudian dihitung dengan persamaan 1.

$$\% \text{Rendemen} = A1/A0 \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan:

A1 = Bobot ekstrak yang diperoleh

A0 = Bobot serbuk simplisia yang dimaserasi

2.5 Uji Penangkapan Radikal DPPH

Uji penangkapan radikal bebas DPPH dilakukan sesuai dengan metode yang diajukan oleh Kikuzaki *et al.* (2002). Ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* dilarutkan dan diencerkan dengan metanol hingga diperoleh

beberapa seri konsentrasi. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif yang dibuat dengan beberapa seri konsentrasi dalam metanol. Larutan DPPH disiapkan dengan menimbang 15,8 mg serbuk DPPH, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan metanol hingga tanda batas. Sampel uji ditambahkan dengan 1,0 mL DPPH 0,4 mM dan 3,950 mL methanol yang kemudian divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Absorbansi sampel kemudian diukur pada panjang gelombang 515 nm dengan blanko yang digunakan adalah metanol. Pengukuran absorbansi juga dilakukan terhadap kontrol yang terdiri atas 1,0 mL DPPH dan 4,0 mL metanol. Nilai IC₅₀ selanjutnya diperoleh dengan membuat persamaan regresi linier. Semakin kecil nilai dari IC₅₀, maka semakin kuat senyawa uji tersebut sebagai penangkap radikal DPPH.

2.6 Penentuan Profil Bioautografi

Penentuan profil bioautografi mengadaptasi metode yang diajukan Rahman (2012). Ekstrak kulit batang *Z. mauritiana* dilarutkan ke dalam metanol dan ditotolkan pada plat silika gel GF₂₅₄. Plat kemudian di elusi menggunakan sistem pelarut yang sesuai dengan golongan senyawa kimia yang akan diidentifikasi. Fase gerak yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sistem Fase Gerak untuk penentuan profil bioautografi (Harborne, 1987; Reich and Blatter, 2003; Markham, 1988).

Golongan Senyawa	Sistem Fase Gerak
Flavonoid	Butanol: Asam Aetat: Air (4:1:5 v/v)
Triterpenoid	Kloroform: Metanol (20:1 v/v)
Saponin	Kloroform: Metanol: Air (70:30:4 v/v)

Alkaloid Toluen:Amonia (90:10 v/v)

Plat KLT dielusi sampai tanda batas dalam bejana pengembang yang telah dijenuhkan. Setelah dielusi, plat KLT dikeluarkan dan dikeringkan pada suhu ruang. Plat kemudian disemprot dengan 0,02% DPPH dalam metanol. Diamati adanya perubahan warna spot selama kurang lebih 10 menit. Hasil positif adanya penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan ditunjukkan dengan perubahan warna area spot yang semula ungu (setelah disemprot DPPH) menjadi warna kuning.

2.7 Analisis Data

Data aktivitas antioksidan berupa IC₅₀ dibandingkan dengan menggunakan uji *indenpendet t-test*.

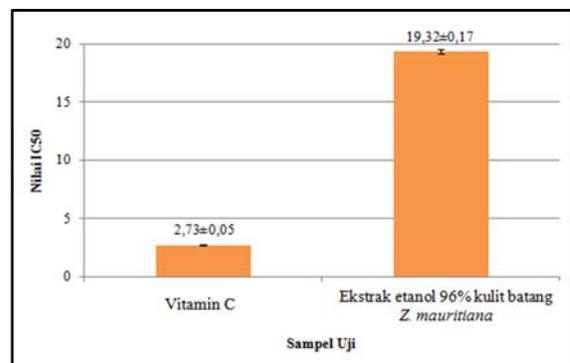
3. Hasil

3.1 Ekstraksi

Ekstrak kental yang diperoleh dari proses maserasi dengan etanol 96% sebanyak 76,2098 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 7,6 % b/b.

3.2 Uji Penangkapan Radikal DPPH

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan perbandingan kemampuan penangkapan radikal bebas DPPH antara vitamin C dengan ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* yang dapat dilihat pada gambar 1.

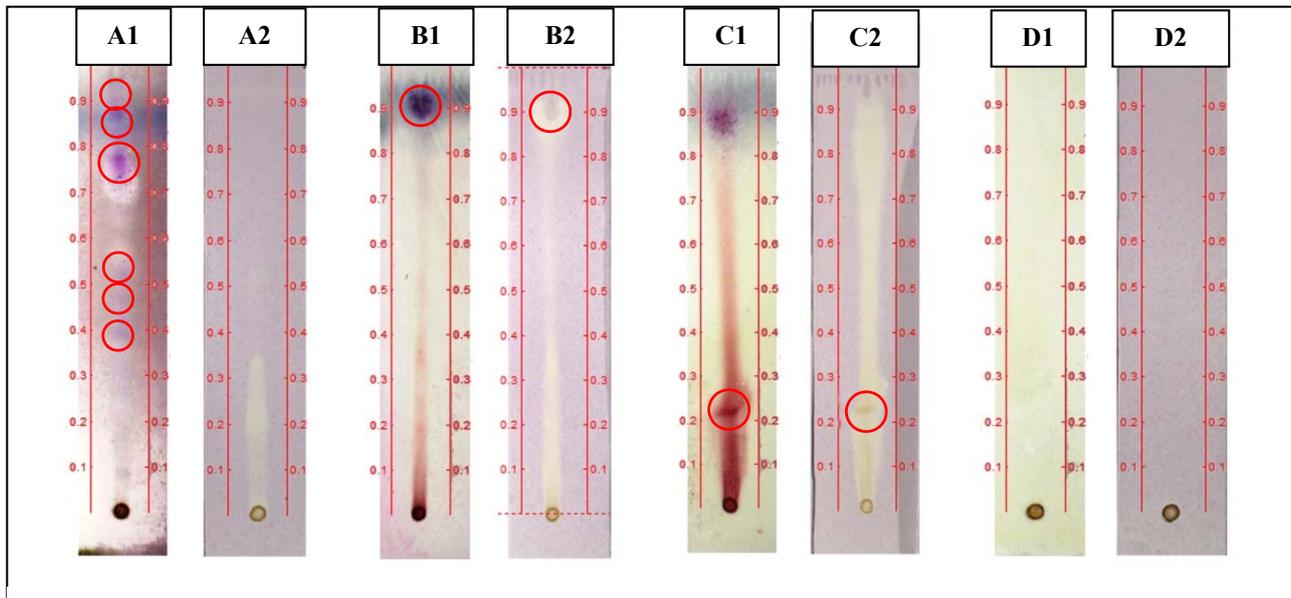


Gambar 1. Diagram rata-rata nilai IC₅₀

3.3 Penentuan Profil Bioautografi



Berdasarkan hasil penyemprotan DPPH didapatkan hasil seperti yang dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Profil bioautografi uji terpenoid (A), Saponin (B), flavonoid (C) dan Alkaloid (D) ekstrak etanol kulit batang *Z. mauritiana* setelah disemprot vanilin-asam sulfat (1) dan DPPH (2).
bercak menjadi kuning pada bercak yang

4. Pembahasan

Berdasarkan hasil uji konfirmasi aktivitas antioksidan, didapatkan nilai rata-rata IC_{50} dari vitamin C sebesar $2,73 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* sebesar $19,32 \pm 0,17$ $\mu\text{g/mL}$. Hasil analisis menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* lebih besar dan berbeda bermakna dibandingkan dengan nilai IC_{50} vitamin C. Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* membutuhkan konsentrasi yang lebih banyak untuk menghambat 50% dari jumlah radikal DPPH yang ada dibandingkan dengan vitamin C. Sehingga potensi aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C.

Berdasarkan Gambar 2, Pada uji golongan senyawa terpenoid dengan penyemprotan pereaksi vanilin-asam sulfat diamati terdapat beberapa bercak berwarna ungu yang menunjukkan hasil positif adanya golongan senyawa triterpenoid.

diduga sebagai senyawa golongan triterpenoid. Hasil ini menandakan bahwa senyawa golongan triterpenoid yang ada pada ekstrak tidak memiliki aktivitas antioksidan.

Pada uji golongan senyawa saponin dengan penyemprotan pereaksi vanilin-asam sulfat diamati terdapat bercak berwarna ungu yang menunjukkan hasil positif adanya golongan senyawa saponin (Harbone, 1987). Penyemprotan dengan DPPH menunjukkan adanya perubahan warna bercak menjadi kuning pada bercak yang menunjukkan bahwa golongan senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak memiliki aktivitas antioksidan.

Pada uji golongan senyawa flavonoid dengan penyemprotan pereaksi vanilin-asam sulfat diamati terdapat bercak berwarna merah lembayung yang menunjukkan hasil positif adanya golongan senyawa flavonoid (Harbone, 1987). Penyemprotan dengan DPPH menunjukkan



adanya perubahan warna bercak menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak memiliki aktivitas antioksidan.

Pada uji golongan senyawa alkaloid, tidak nampak perubahan warna apapun setelah dilakukan penyemprotan baik menggunakan vanilin-asam sulfat ataupun dengan DPPH. Hasil ini menunjukkan tidak adanya senyawa alkaloid yang terkandung di dalam ekstrak. Hasil ini berbeda dengan hasil beberapa pustaka yang melaporkan bahwa kulit batang *Z. mauritiana* mengandung senyawa alkaloid (Gaur and Sharma, 2013; Jain *et al.*, 2012). Kondisi lingkungan tempat tumbuh diduga menjadi salah satu faktor penyebab tidak terdapatnya senyawa golongan alkaloid pada ekstrak kulit batang *Z. mauritiana*. Hal ini didukung anggapan yang diajukan Kardono (2003) yang menyatakan bahwa perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh dapat menyebabkan perbedaan jenis dan jumlah metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu tanaman.

5. Kesimpulan

Ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. Mauritiana* memiliki kemampuan penangkapan radikal bebas DPPH dengan IC_{50} sebesar $19,32 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. Mauritiana* tidak terlepas dari peran golongan senyawa yang terkandung didalamnya yaitu senyawa golongan saponin dan flavonoid.

Pustaka

- Ekka, N. R., K. P. Namdeo, and P. K. Samal. 2008. Standardization Strategies for Herbal Drugs An Overview. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 1(4): 1-3.
- Gaur A. and G. N. Sharma. 2013. *Ziziphus mauritiana* Lam-an overview. *Indo*

American Journal of Pharm Research. 3(6): 4560-4566.

- Harborne, J.B. 1987. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 2nd edition. New York: Chapman and Hall Ltd. Page 33-211.
- Jain A., S.B. Dhyani. 2012. Phytochemical Screening of Secondary Metabolites of *Ziziphus mauritiana* lam. bark. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 4(3): 156-159.
- Kardono, L. B. S. 2003. *Kajian Kandungan Kimia Mahkota Dewa (Phaleria marcocarpa)*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Halaman 56.
- Kikuzaki, H., M. Hisamoto, K. Hirose, K. Akiyama, and H. Taniguchi. 2002. Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 2161-2168.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB. Halaman 25-26.
- Marks, D. B., D. M. Allan, and M. S. Collen. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Halaman 323.
- Perumal, S., R. Mahmud, S.P. Piaru, L.W. Cai and S. Ramanathan. 2012. Potential Antiradical Activity and Cytotoxicity Assesment of *Ziziphus mauritiana* and *Syzygium polyanthum*. *International Journal of Pharmacology*. 8(6): 535-541.
- Rahman, S. 2012. Antioxidant, Analgesic, Cytotoxic and Anthidiarrheal Activities of Ethanolic *Zizyphus mauritiana* Bark Extract. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 12: 67-73.
- Reich, E. and A. Blatter. 2003. Modern TLC : A Key Technique of Identification and Quality Control of Botanical and Dietary Supplements. *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. 18: 34-37.



Samirana, Oka. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penangkap Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil dari Kulit Batang Bidara (Zizyphus mauritiana Auct non Lamk.)* (Tesis). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.