

---

**JURNAL METAMORFOSA**  
*Journal of Biological Sciences*  
ISSN: 2302-5697  
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

---

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TUMBUHAN PAKU EKOR KUDA (*Equisetum debile* L.) TERHADAP PEROKSIDASI LIPID PLASMA DARAH MENCIT (*Mus musculus*)**

**ANTIOXYDANT ACTIVITY OF *Equisetum debile* L. ON LIPID PEROXIDATION OF BLOOD PLASMA OF MICE (*Mus musculus*)**

**Riana Dyah Suryaningrum\*, Ni Made Puspawati, Ni Putu Adriani Astiti**  
*Program Studi Magister Ilmu Biologi, Program Pasca Sarjana, Universitas Udayana*  
*\*Email: rianadyah@hotmail.com*

## INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tumbuhan paku ekor kuda (*Equisetum debile* L.) dalam menghambat reaksi peroksidasi lemak pada plasma darah mencit. Uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dilakukan dengan metode DPPH (difenilpicril hidrazil) dan secara *in vivo* pengukuran kadar MDA (malondialdehid) darah mencit setelah diberikan aktivitas fisik maksimal. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol tumbuhan paku ekor kuda memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  1,604 mg/mL atau sebesar 1.604 ppm. Sedangkan hasil analisis statistik pada pengukuran kadar MDA plasma darah mencit dengan menggunakan berbagai variasi dosis (125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 375 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dengan dosis 500 mg/kgBB mampu menurunkan kadar MDA darah mencit secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif setelah diberi aktivitas fisik maksimal.

*Kata kunci: Paku ekor kuda, antioksidan, DPPH, peroksidasi lemak.*

## ABSTRACT

The purpose of this research was to study the antioxidant activity from ethanol extract of horstail (*Equisetum debile* L.) in the free radical scavenging in mice blood plasma. The antioxidant activity test was conducted with the DPPH method and measuring the MDA concentration in mice blood. The antioxidant activity test with the DPPH results showed that the ethanol extract of horstail (*Equisetum debile* L.) had the antioxidant activity of  $IC_{50}$  which was 1.604 mg/mL or 1,604 ppm. The statistical analysis result of the MDA blood plasma in mice with various doses (125 mg/kgBM, 250 mg/kgBM, 375 mg/kgBM and 500 mg/kgBM) showed that the 500 mg/kgBM dose extract was able to reduce the MDA concentration in mice blood which given the most amount of exercise.

*Keywords: Horstail, antioxidant, DPPH, lipid peroxidation.*

## PENDAHULUAN

Tumbuhan paku Indonesia memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang

berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat herbal fitofarmaka (Suyatno, 2011). Oleh karena itu penelitian lanjutan yang berkaitan dengan uji farmakologis serta uji klinis dari isolat

dan ekstrak aktif yang telah ditemukan perlu dilakukan untuk menjamin keamanan dan efikasinya sebagai obat herbal.

Salah satu spesies tumbuhan paku yang banyak tumbuh dan tersebar di seluruh wilayah Indonesia adalah *Equisetum debile* L. Spesies ini tersebar luas dari Afrika, Asia, Jepang melalui selatan Filipina, Indonesia, daratan Guinea Baru, Kepulauan Bismarck, Kepulauan Solomon, ke arah timur menuju Kaledonia Baru dan Fiji. Spesies ini memiliki toleransi terbesar di Papuasida dan relatif dominan diantara tanaman lainnya (Croft, 1985).

Sarkar, dkk (2012) menemukan kemampuan ekstrak dari batang tanaman *Equisetum debile* sebagai senyawa sitotoksik, antimikroba, dan antioksidan penangkap radikal bebas. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan uji DPPH menunjukkan bahwa ekstrak batang tanaman *Equisetum debile* memiliki kemampuan menangkap radikal bebas yaitu IC<sub>50</sub> 24.8 µg/mL. Ekstrak methanol dari *Equisetum debile* (50 sampai 1.000 µg/ml) juga menunjukkan aktivitas antioksidan dengan dosis tertentu ketika dibandingkan dengan antioksidan standar yaitu asam askorbat (Khan, dkk. 2013).

Hasil penelusuran literatur menunjukkan belum ada laporan hasil penelitian yang terkait dengan aktivitas antioksidan ekstrak tumbuhan paku ekor kuda terhadap peroksidasi lipid dalam plasma darah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan paku *Equisetum debile* L. terhadap reaksi peroksidasi lipid dalam plasma darah mencit.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif dan eksperimental. Penelitian deskriptif eksploratif mencakup uji fitokimia dan analisis total fenol, sedangkan penelitian eksperimen mencakup uji aktivitas antioksidan dan kadar MDA plasma darah mencit.

Penelitian ini menggunakan rancangan *Pretest-Posttest Kontrol Group Design*. Rancangan penelitian yang akan dilakukan adalah 24 ekor mencit dibagi menjadi enam

kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tidak diberikan apa-apa), kelompok kontrol positif diberikan vitamin C dengan dosis 90 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 375 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Masing – masing perlakuan dilakukan 4 kali ulangan.

Bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah tumbuhan paku ekor kuda (*Equisetum debile* L.) segar yang telah dewasa dan steril, diperoleh dari pembibitan di daerah Denpasar, Bali. Larutan etanol 70%, HCl 2N, aseton, asam borat, asam oksalat, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat, pereaksi Dragendroff larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl), vitamin C, larutan TCA 20%, larutan TBA 1% dan asam asetat glacial 50%. Plasma darah hewan coba mencit putih (*Mus musculus*).

Penelitian ini dimulai dengan menyiapkan sampel berupa tumbuhan paku ekor kuda (*Equisetum debile* L.) segar sebanyak ± 1.000 gram. Sampel diangin-anginkan agar layu kemudian dipotong-potong kecil-kecil. Selanjutnya dimaserasi dengan diletakkan pada *beaker glass* dan direndam dengan larutan ethanol 70% selama 24 jam pada suhu kamar kemudian disaring dan dipisahkan dari ampas (Heyney, 1987).

Setelah itu ekstrak etanol *Equisetum debile* L. yang diperoleh dari hasil ekstraksi kemudian digunakan untuk melakukan uji DPPH dan uji MDA plasma mencit.

### Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH

Larutan uji berupa ekstrak tumbuhan paku ekor kuda sebanyak 4 ml ditambahkan 1 ml larutan pereaksi DPPH dimasukkan dalam vial dikocok. Didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit, kemudian dibaca serapan aktivitasnya dengan panjang gelombang 517 nm pada spektrofotometer UV (Kunahyo dan Sunardi, 2007). Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi, yang dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Dari angka persen inhibisi pada masing-masing konsentrasi larutan kemudian dibuatkan

grafik regresi linear. Pada titik pertemuan antara garis regresi linear dengan kurva persen inhibisi didapatkan formula  $y = ax + b$  dimana  $x = IC_{50}$ .

### Uji Kadar MDA Plasma

Pemberian perlakuan dan pengukuran kadar MDA plasma darah mencit dilakukan menurut Dewi (2013) menggunakan metode TBARS dengan beberapa modifikasi.

- a. Sebanyak 24 ekor mencit dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok kontrol (0) sebanyak 4 ekor, kelompok kontrol positif dengan vitamin C sebanyak 4 ekor, kelompok ekstrak 125 mg/kgBB sebanyak 4 ekor, kelompok ekstrak 250 mg/kgBB sebanyak 4 ekor, kelompok ekstrak 375 mg/kgBB dan kelompok 500 mg/kgBB sebanyak 4 ekor.
- b. Sebelum dilakukan analisis MDA, mencit diadaptasikan terlebih dahulu pada keadaan laboratorium selama 7 hari dengan pemberian pakan standar, sesuai komposisi pakan untuk penentuan *protein efficiency ratio* menurut AOAC (1990).
- c. Sebelum pengambilan darah, mencit dipuasakan selama semalam. Mencit dibius dengan diberi suntikan ketamine 10% dan xyla dengan dosis 40 ml/kgBB. Selanjutnya darah diambil dengan metode *Plexus Retroorbitalis* pada mata sebanyak 0,3 ml. Darah yang telah diambil ditampung dalam tabung sentrifugasi dan disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya, plasma darah yang terletak pada bagian atas dipisahkan dan diambil untuk dianalisis konsentrasi MDA-nya.
- d. Pada hari kedelapan, dilakukan pengambilan darah terhadap seluruh mencit untuk penentuan kadar MDA sebagai *pre-test*. Pengambilan darah dilakukan dengan metode *Plexus Retroorbitalis* pada mata. Caranya mencit dipegang dan dijepit bagian tengkuk dengan jari tangan. Mencit dikondisikan senyaman mungkin, kemudian mikrohematokrit digoreskan pada *medial chantus* mata di bawah bola mata ke arah *foramen opticus*. Mikrohematokrit diputar sampai melukai *plexus*. Darah ditampung di dalam eppendorf yang telah diberi EDTA untuk tujuan pengambilan plasma darah.

- e. Mencit diistirahatkan satu hari, kemudian pada hari kesepuluh mencit dibagi menjadi enam kelompok perlakuan, yaitu pemberian vitamin C dan ekstrak sampel dengan variasi dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 375 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Sampel diberikan dengan cara peroral dengan alat suntik sonde. Sonde dimasukkan dengan hati-hati kira-kira sampai di lambung. Setelah yakin jarum masuk ke dalam lambung barulah sample di dalamnya dipompakan keluar.
- f. Mencit yang digunakan pada percobaan ini memiliki berat badan rata-rata 25 gram atau 0,025 kg. Jadi, perhitungan dosis untuk ekstrak sampel adalah sebagai berikut:
  1. Dosis 125 mg/kgBB =  $125 \times 0,025 = 3,125$  mg
  2. Dosis 250 mg/kgBB =  $250 \times 0,025 = 6,25$  mg
  3. Dosis 375 mg/kgBB =  $375 \times 0,025 = 9,375$  mg
  4. Dosis 500 mg/kgBB =  $500 \times 0,025 = 12,5$  mg
 Sedangkan perhitungan dosis vitamin C adalah  $90 \text{ mg/kgBB} \times 0,0026 = 0,234$  mg. Dosis vitamin C yang digunakan merujuk pada kebutuhan vitamin C harian rata-rata pria dewasa yaitu 90 mg/kgBB (Pacier, 2015). Sebelum diberikan ke mencit, ekstrak kasar dilarutkan terlebih dahulu dengan aquadest dan larutan tween 80 hingga volume 0,5 ml.
- g. Setelah diberi perlakuan, seluruh kelompok mencit diberi aktivitas fisik maksimal dengan cara direnangkan hingga hampir tenggelam (kurang lebih selama 60 menit) untuk meningkatkan stress oksidatif dan dilanjutkan dengan pengambilan darah sebagai *post-test* untuk pemeriksaan MDA.
- h. Pengukuran konsentrasi dari sampel percobaan dilakukan dengan cara yang sama seperti larutan standar, yaitu 1.0 mL plasma darah direaksikan dengan 1.0 mL TCA 20% dan 1.0 mL TBA 1% dalam asam asetat glasial 50%, kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$ , lalu dibiarkan dingin. Larutan disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 1.000 rpm. Supernatan dipisahkan

kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 532 nm (Momuat, 2011).

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis ANOVA satu arah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh sebelum dan sesudah perlakuan. Dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui konsentrasi ekstrak tumbuhan *Equisetum debile* L. yang paling efektif dalam

menghambat peroksidasi lemak dengan melihat penurunan kadar MDA (Hanafiah, 2010).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol *Equisetum debile* L. seperti tertera pada Tabel 5.2. diperoleh dari persamaan regresi linear antara persentase inhibisi dan konsentrasi yaitu 1,604 mg/mL atau 1.604 ppm.

Tabel 1. Nilai % Inhibisi dan  $IC_{50}$  Ekstrak Etanol *Equisetum debile* L.

Konsentrasi Larutan (mg/mL)	Absorbansi	% Inhibisi	Regresi Linear	$IC_{50}$
0,00	0,947	0,00		
0,65	0,575	39,28	$Y = 22,35x + 14,15$	1,604 mg/mL
1,29	0,42	55,65	$R^2 = 0,770$	
2,58	0,35	63,04		

Hal ini menunjukkan untuk meredam radikal bebas sebesar 50% dibutuhkan ekstrak etanol *Equisetum debile* L. sebesar 1.604 ppm. Menurut Jun dkk. (2003), senyawa yang memiliki nilai  $IC_{50} > 500$  ppm tergolong senyawa antioksidan dengan aktivitas yang lemah. Dengan demikian, ekstrak etanol *Equisetum debile* L. memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong lemah. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Equisetum debile* L. pada penelitian ini jauh lebih rendah dari aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat *Equisetum debile* L. yang dilaporkan oleh Sarkar, dkk (2012) dengan nilai  $IC_{50}$  24,8  $\mu$ g/mL atau 24,8 ppm yang tergolong sangat kuat. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi (Harwood dan Moody, 1989).

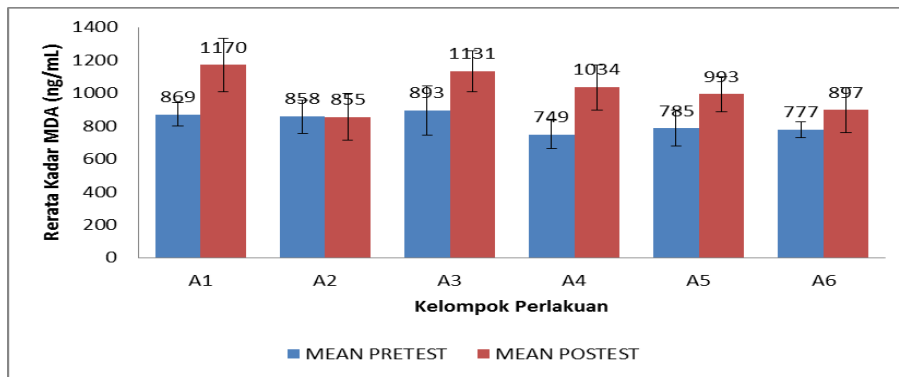
Analisis efek perlakuan bertujuan untuk membandingkan rerata perubahan kadar MDA plasma darah setelah diberi perlakuan ekstrak etanol *Equisetum debile* L. Analisis efek perlakuan ini dilakukan dengan menggunakan uji Anova. Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perubahan rerata kadar MDA dari keenam kelompok setelah diberi ekstrak etanol *Equisetum debile* L. berbeda secara nyata ( $p < 0,05$ ).

Berdasarkan grafik 1. pemberian perlakuan ekstrak etanol *Equisetum debile* L.) mampu

mengurangi kenaikan kadar MDA darah *post-test* yang dapat dilihat dari rerata kadar MDA yang mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol. Penurunan kadar MDA yang paling tinggi terjadi pada kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak 500 mg/kgBB.

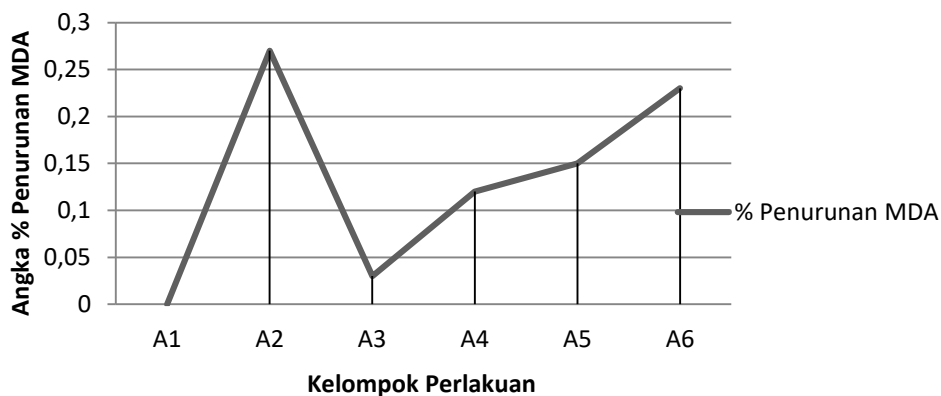
Grafik 2. menunjukkan persen penurunan yang semakin meningkat dari kelompok perlakuan dengan dosis 125, 250, 375 dan 500 mg/kgBB. Pada kelompok kontrol % penurunan MDA adalah 0 atau tidak terjadi penurunan MDA. Pada kelompok yang diberikan vitamin C, % penurunan MDA adalah 0,27%. Pada kelompok yang diberi ekstrak dengan dosis 125, 250, 375 dan 500 mg/kgBB mengalami penurunan secara berturut-turut mulai dari 0,03%, 0,12%, 0,15% dan 0,23%. Ini berarti persen penurunan kadar MDA terbesar terjadi pada kelompok perlakuan dengan dosis 500 mg/kgBB yaitu sebesar 0,23%.

Persen penurunan kadar MDA plasma darah mencit ini menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan yang sebanding dengan peningkatan dosis ekstrak etanol *Equisetum debile* L. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Khan (2013), dimana ekstrak methanol memiliki aktivitas antioksidan yang meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak (50 sampai 1000  $\mu$ g/ml).



Gambar 1. Grafik Rerata Kadar MDA Plasma Darah Mencit Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Keterangan: A1 = kontrol negative; A2 = kontrol positif (vitamin C); A3 = ekstrak 125 mg/kgBB; A4 = ekstrak 250 mg/kgBB; A5 = ekstrak 375 mg/kgBB; A6 = ekstrak 500 mg/kgBB



Gambar 2. Persentase Penurunan Kadar MDA Plasma Darah Mencit Setelah Perlakuan

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol *Equisetum debile* L. memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> 1,604 mg/mL atau sebesar 1.604 ppm.
2. Ekstrak etanol *Equisetum debile* L. memiliki kemampuan menghambat reaksi peroksidasi lipid pada dosis 500 mg/kgBB yang ditandai dengan menurunnya kadar MDA darah mencit sebesar 0,23%.

**DAFTAR PUSTAKA**

Astiti, N.P.A. 2001. Penuntun Praktikum Uji Fitokimia. Denpasar: Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Universitas Udayana.

Azwar. 2008. Paku Ekor Kuda yang Menawan. URL: <http://www.azwar.web.ugm.ac.id>. Diakses tanggal 24 Maret 2012.

Fessenden, R.J. dan J.S Fessenden. 1982. Kimia Organik Jilid I. Jakarta: Erlangga.

Ghani, A. 2003. Medicinal Plants of Bangladesh with Chemical Constituents and Uses. 2nd edition. Asiatic Society of Bangladesh, 5 old Secretariate road, Nimtali, Dhaka, Bangladesh.

- Gordon, M.F. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In B.J.F. Hudson (ed.), *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science, London, pp. 1-18.
- Gutteridge, J.M.C. and B. Halliwell. 1994. *Antioxidant in Nutrition, Health and Disease*. New York: Oxford University Press.
- Hanafiah, K.A. 2010. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Hamid, A.A. 2010. Antioxidant: Its Medical and Pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry Vol. 4* (8), pp 142-151.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid 1. Jakarta : Departemen Kehutanan.
- Kementrian Pertanian, BBPP Ketindan. 2012. Antioksidan dan Perannya Bagi Kesehatan. Available from: [http://www.bbppketindan.info/index.php?option=com\\_content&view=article&id=185:peran-positif-antioksidan-terhadap-penyakit-kanker-dan-kardiovaskuler-&catid=10:artikel-umum&Itemid=29](http://www.bbppketindan.info/index.php?option=com_content&view=article&id=185:peran-positif-antioksidan-terhadap-penyakit-kanker-dan-kardiovaskuler-&catid=10:artikel-umum&Itemid=29) Diakses tanggal 12 Mei 2012.
- Kuncahyo, Ilham dan Sunardi. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi*, l.) Terhadap 1,1-diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH). Disampaikan dalam seminar Nasional Teknologi di Yogyakarta.
- Lefrina, Y. 2009. Tangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. Available from: <http://www.pikiranrakyat.com/> dalam: Yanuhar, U. 2009.
- Mimica-Dukic, Neda., Simin, Natasa., Cvejic, Jelena., Jovin, Emilija., Orcic, Dejan., Bozin, Biljana. 2008. Phenolic Compounds in Field Horsetail (*Equisetum arvense* L.) as Natural Antioxidants. *Molecules*, 13: 1455-1464.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical DPPH for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219.
- Padmasari, P.D., K.W. Astuti dan N.K. Warditiani. 2013. Skinning Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum*). *Jurnal Farmasi Universitas Udayana Vol.2 No.4*.
- Prakash, Aruna., Rigelhof, Fred. and Miller, Eugene. Antioxidant Activity. Minnesota: Medallion Laboratories.
- Pratt, D. E. 1992. Natural antioxidants from plant material. In I. M. T. Huang, C. T. Ho, & C. Y. Lee (Eds.), *Phenolic compounds in food and their effects on health* (pp. 54–72). New York: American Chemical Society.
- Sastrapradja S. 1980. *Jenis Paku Indonesia*. Jakarta : Balai Pustaka.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: UGM Press.
- Steenish, V. and R.E. Holttum. 1982. *Flora Malesiana*. London: Martinus Nijhoff/DR.W. Junk Publishers.
- Stuart, A.G. 2005. *Horstail*. Available from: [www.herbalsafety.utep.edu/herbs-pdfs/](http://www.herbalsafety.utep.edu/herbs-pdfs/)
- Suryohudoyo, P. 1993. *Oksidan, Antioksidan dan Radikal Bebas*. Surabaya: Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Suyatno. 2011. *Potensi Tumbuhan Paku Indonesia sebagai Bahan Baku Fitofarmaka*. Naskah Pidato Pengukuhan Guru Besar Bidang Kimia Organik Bahan Alam, Universitas Negeri Surabaya. Surabaya, 22 Agustus 2011.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Washington State University. 2007. *Horstail (Equisetum)*. Master Gardener Program, WSU Extension. Available from: <http://www.al.gov.bc.ca/cropprot/hrsetail.htm>.
- Winter, W.P. and V.B. de Amoroso. 2003. *Ferns and ferns allies*. PROSEA #15 (2). URL: <http://proseanet.org/prosea/index.php>. Diakses tanggal 3 Mei 2012.