

Artikel

Aktivitas Antioksidan Fraksi Larut Etil Asetat dari Ekstrak Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding Hou)

Novermawati¹, Iswahyudi², Islamudin Ahmad^{1,2*}, Muhammad Amir Masruhim³

¹ Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, 75119 Kalimantan Timur, Indonesia

² Departemen Penelitian dan Pengembangan, PT. Borneo Riset Naturafarm, Kutai Kertanegara 76262 Kalimantan Timur, Indonesia

³ Program Studi Magister Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mulawarman, Samarinda, 75119 Kalimantan Timur, Indonesia

* Correspondence: islamudinahmad@ff.unmul.ac.id

Citation: Novermawati, Iswahyudi, Ahmad, I, Masruhim, M.A. Aktivitas antioksidan fraksi larut etil asetat dari ekstrak akar Tabar Kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding Hou). *J Riset Naturafarm* 2024, 1(1), 8-14. <https://doi.org/10.70392/xh39pf05>

Academic Editor: Dr. Rolan Rusli

Received: 14 Maret 2024

Revised: 12 April 2024

Accepted: 15 Mei 2024

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

ISSN 3048-0582

Abstract

Kedayan root is a medicinal plant that is traditionally used by the community as medicine, especially as an antidote to poison. This research aimed to determine the antioxidant activity of the ethyl acetate soluble fraction of Tabar Kedayan root extract (*Aristolochia papillifolia* Ding hou). The fractionation method used is solid-liquid extraction using ethyl acetate solvent to obtain a soluble fraction of ethyl acetate, then vacuum liquid chromatography fractionation using the eluent ratio n-hexane: ethyl acetate and obtain fraction A, fraction B, fraction C, fraction D, fraction E, fraction F. Testing of antioxidant activity using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method spectrophotometrically. The data obtained was analyzed using linear regression to determine IC₅₀. The results of the C fraction test on the ethyl acetate soluble fraction of Tabar Kedayan roots (*A. papillifolia*) have antioxidant activity with an IC₅₀ value of 139.11 ppm.

Keywords: Tabar Kedayan root (*Aristolochia papillifolia* Ding hou); antioxidant; fraction, inhibition concentration of 50% (IC₅₀)

Abstrak

Akar kedayan merupakan tumbuhan obat yang biasa digunakan secara tradisional oleh masyarakat sebagai obat terutama penawar racun. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan fraksi larut etil asetat ekstrak akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou). Metode fraksinasi yang digunakan yaitu ekstraksi padat-cair menggunakan pelarut etil asetat sehingga diperoleh fraksi larut etil asetat kemudian difraksinasi kromatografi cair vakum menggunakan perbandingan eluen n-heksan:etil asetat dan diperoleh fraksi A, fraksi B, fraksi C, fraksi D, fraksi E, fraksi F. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) secara spektrofotometri. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode menggunakan regresi linear untuk mengetahui IC₅₀. Hasil uji fraksi C pada fraksi larut etil asetat akar kedayan (*A. papillifolia*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 139,11 ppm.

Kata Kunci: Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou); antioksidan; fraksi; konsentrasi inhibisi 50% (IC₅₀)

1. PENDAHULUAN

Saat ini tumbuhan obat menjadi salah satu alternatif obat yang dipilih oleh masyarakat luas. Hal ini karena tumbuhan obat tidak mempunyai efek samping yang besar bila dibandingkan dengan obat modern yang terbuat dari bahan kimia sintetis. Salah satu tumbuhan obat adalah tumbuhan akar kedayan. Akar kedayan merupakan tumbuhan khas Kalimantan Utara khususnya Kabupaten Malinau. Akar kedayan sudah secara turun temurun dipergunakan masyarakat Dayak sebagai tumbuhan obat [1,2].

Akar kedayan merupakan akar berbentuk kayu yang hidup menjalar pada pohon-pohon, memiliki warna coklat muda, beruas-ruas, memanjang dan biasanya hidup di daerah hutan, pendakian, dataran rendah. Secara empiris sering dipergunakan masyarakat sebagai obat, seperti penawar racun, menetralkan racun serangga, bisa ular dan segala macam gigitan binatang berbisa, keracunan makanan, diare, sakit gigi dan juga dapat digunakan untuk menetralkan minuman keras (alkohol). Penggunaan akar kedayan dapat dipergunakan dalam bentuk irisin-irisan tipis dan dicampurkan dengan air hangat [3,4,5].

Penggunaan Akar kedayan yang dipercaya secara empiris oleh masyarakat sebagai penawar racun, tetapi belum adanya penelitian secara ilmiah tentang tumbuhan obat Akar kedayan. Maka dari itu peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui golongan metabolit sekunder, bagaimana profil kromatografi senyawa kimia, dan aktivitas antioksidan pada tumbuhan akar kedayan [6,7].

Radikal bebas bersifat reaktif, dan jika tidak diinaktifkan akan dapat merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat melindungi tubuh (bagian tubuh) dari senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas ini merupakan senyawa yang memiliki elektron bebas, sehingga mencari pasangan elektron bebasnya atau bersifat reaktif pada senyawa-senyawa yang mudah teroksidasi, seperti lipid, protein tubuh, karbohidrat, dan lain-lain. Senyawa antioksidan dari tanaman biasanya berupa senyawa-senyawa fenol dan turunannya. Senyawa-senyawa ini bersifat antioksidan kuat [8].

Namun penelitian mendalam tentang tanaman ini masih belum ditemukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas, dan sebagai informasi secara ilmiah bagi peneliti dan masyarakat khasiat yang dimiliki oleh tumbuhan obat Akar kedayan. Maka dari itu perlu dilakukan uji aktivitas fraksi akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou) yaitu fraksi larut etil asetat.

2. BAHAN, ALAT, DAN PROSEDUR

2.1. Bahan

Sampel yang diteliti adalah akar dari tumbuhan akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou), bahan yang digunakan yaitu *aluminium foil*, etil asetat, kertas saring, etanol, metanol, *silica gel*, etanol, n-heksan, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), plat kromatografi lapis tipis (KLT).

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk dan sendok tanduk, corong kaca (Pyrex®), cawan porselen, labu takar 10 mL, labu takar (Pyrex®) 50 mL, *micropipet* (Boeco®) 100 dan 1000 µL, neraca analitik (Hammer®), oven (Froilabo®), *vortex* (Health®), pipet tetes, *Spektrofotometer UV-*

Visible Double Beam (Dynamica®), tabung reaksi (Pyrex®), rak tabung reaksi, gelas kimia (Pyrex®) 50 mL, erlenmeyer, keranjang, botol vial, pipa kapiler, *hot plate* (Stuart), penyemprot, pinset, *stirer*, toples, spatel, kromatografi vakum, penggaris, *cutter*, *water bath* (Memmert), *rotary evaporator* (Buchi), *chamber*.

2.3. Prosedur

2.3.1. Proses Ekstraksi

Ekstrak etanol sebanyak 24 gram diekstraksi padat-cair menggunakan pelarut etil asetat. Diperoleh fraksi etil asetat yang memiliki 2 pemisahan, yaitu larut etil asetat dan tidak larut etil asetat. Fraksi yang diambil untuk pengujian adalah fraksi larut etil asetat.

2.3.2. Proses Fraksinasi

Sebanyak 9 gram fraksi larut etil asetat di larutkan dengan etil asetat kemudian di tambahkan dengan silika kasar sebanyak 10 gram, pelarut di uapkan dengan bantuan *rotary evaporator* hingga terbentuk serbuk. Setelah itu di lanjutkan dengan proses fraksinasi kromatografi cair vakum menggunakan 6 perbandingan pelarut n-heksan:etil asetat dari kepolaran rendah ke kepolaran tinggi. Di aliri secara bertahap sehingga diperoleh masing-masing fraksi yaitu fraksi A (5:5), fraksi B (4:5), fraksi C (3:5), fraksi D (2:5), fraksi E (1:5), dan fraksi F (0:5).

2.3.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan secara Autografi

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode KLT dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (3:3), sedangkan fase diam adalah silica gel 60 F254 dengan panjang plat 8 cm. Setelah proses pengelusian plat KLT disemprot dengan larutan DPPH 0,1% dalam metanol. Timbulnya noda kuning keputih-putihan setelah 30 menit kemudian menunjukkan positif antioksidan [9,10,11].

2.3.4. Pembuatan Larutan Stok dan Variasi Konsentrasi Fraksi Larut Etil Asetat

Pembuatan larutan stok fraksi larut etil asetat yaitu 1000 ppm dalam 10 mL. Sebanyak 0,01 gram fraksi dilarutkan dengan metanol sampai batas 10 mL. Variasi konsentrasi yang digunakan 5 konsentrasi dalam 10 mL yaitu 10 ppm (0,1 mL), 50 ppm (0,5 mL), 100 ppm (1 mL), 150 ppm (1,5 mL), 200 ppm (2 mL).

2.3.5. Penentuan Nilai IC_{50}

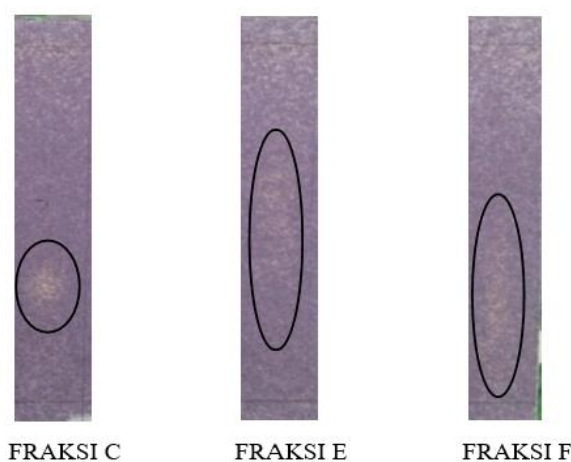
Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan DPPH terhadap fraksi larut etil asetat. Uji DPPH dilakukan dengan mengukur panjang gelombang maksimum dan absorbansi. Setelah itu dilakukan pengujian dengan 5 konsentrasi fraksi larut etil asetat 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm. Masing-masing konsentrasi fraksi dilarutkan dengan metanol dengan 3 replikasi. Diambil 2 mL fraksi dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH dihomogenkan menggunakan *vortex*. Setelah 30 menit diukur absorbansinya pada $\lambda = 510$ nm, dihitung persen aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} dan analisis data menggunakan regresi linear [13].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Aktivitas Antioksidan secara KLT Autografi

Dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan fraksi larut etil asetat dengan metode DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan senyawa dilakukan secara kualitatif dengan penyemprotan DPPH dan perhitungan IC_{50} . Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasarkan jenis radikal yang dihambat (Juniarti, 2009). DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas

dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Fraksi yang telah elusi kemudian disemprot menggunakan larutan DPPH 0,1%, setelah proses pengelusan plat KLT dan penyemprotan. Timbulnya noda kuning keputih-putihan setelah 30 menit kemudian menunjukkan positif antioksidan [11]. Hasil yang didapatkan bahwa fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan adalah fraksi C, fraksi E, dan fraksi F. Pada fraksi C penampakan bercak bulat kuning berada ditengah plat KLT, hasil ini menunjukkan bahwa pemisahan senyawa pada eluen fraksi C pada hasil elusi menunjukkan pemisahan senyawa yang lebih baik dan tidak berekor. Pada fraksi E, dan fraksi F penampakan bercak kuning memanjang dengan latar ungu, dimana menunjukkan pemisahan senyawa kurang baik karena adanya penumpukan senyawa pada pemisahan kedua eluen. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan didapatkan pemisahan eluen yang lebih baik adalah fraksi dan dilanjutkan dengan perhitungan nilai IC_{50} .



Gambar 1. Hasil Aktivitas Antioksidan fraksi larut etil asetat setelah penyemprotan DPPH (KLT Autografi)

3.1. Penentuan Nilai IC_{50} sebagai Aktivitas Antioksidan Fraksi Larut Etil Asetat

Pengujian aktivitas antioksidan dengan parameter nilai IC_{50} yang digunakan adalah fraksi C. Alasan pemilihan fraksi C adalah berdasarkan hasil proses elusi pada plat KLT menunjukkan pemisahan senyawa yang lebih baik dan tidak berekor kemudian dilanjutkan dengan penyemprotan larutan DPPH 0,1% menunjukkan positif memiliki aktivitas antioksidan dengan penampakan bercak bulat kuning berada ditengah plat KLT sehingga dapat diduga bahwa hanya satu senyawa yang memberikan aktivitas sebagai antioksidan dan memudahkan dalam pengembangan penelitian selanjutnya yaitu pada tahap isolasi atau pemisahan untuk mendapatkan senyawa murni.

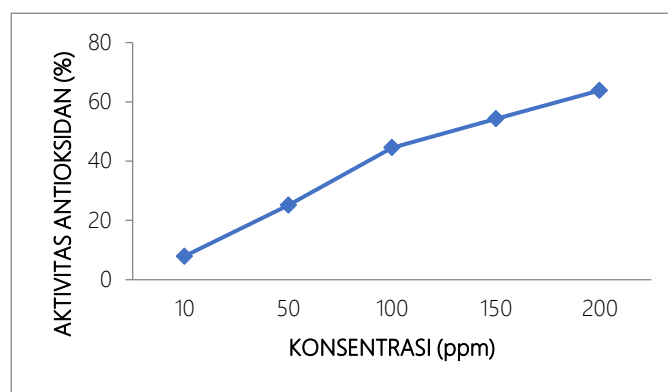
Hasil pengujian Aktivitas Antioksidan fraksi larut etil asetat fraksi C [larutan fraksi yang larut pada eluen n-heksan: etil asetat (3:5)] akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou) dengan metode DPPH dapat dilihat dalam Tabel 1 dan Gambar 2.

Tabel 2. Ini adalah tabel. Tabel harus diletakkan didekat teks utama dimana pertama disitasi.

No.	Konsentrasi	Absorbansi Rata-rata	% Aktivitas Antioksidan	Persamaan Regresi Linier	IC_{50}
1	10 ppm	0,339	7,95 %		
2	50 ppm	0,276	25,12 %		
3	100 ppm	0,204	44,55 %	$Y = 0,292x + 9,38$	139,11 ppm
4	150 ppm	0,168	54,29 %	$r = 0,98$	
5	200 ppm	0,133	63,84 %		

Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkap radikal adalah nilai IC_{50} (*Inhibition concentration* 50%). Nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} dalam penelitian ini diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan simbol (x) dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata dengan simbol (y) dari seri replikasi pengukuran. Panjang gelombang maksimum didapatkan dari absorbansi maksimum yaitu 510 nm dimana panjang gelombang ini akan digunakan dalam pengujian antioksidan.

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi larut etil asetat akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou) dengan menggunakan metode DPPH memberikan nilai IC_{50} sebesar 139,11 ppm. Pada konsentrasi 139,11 ppm menunjukkan konsentrasi fraksi larut etil asetat (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%, atau mampu meredam radikal bebas yaitu sebesar 50%. Hubungan antara konsentrasi dengan aktivitas antioksidan, dimana semakin meningkat konsentrasi fraksi larut etil asetat maka kemampuan untuk meredam semakin besar. Konsentrasi dapat menunjukkan jumlah senyawa aktif yang terlarut, oleh sebab itu semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak jumlah senyawa aktif di dalam larutan uji, dengan meningkatnya jumlah senyawa aktif maka semakin meningkat juga % aktivitas antioksidan (peredaman DPPH). Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan [13]. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan jika nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm [14,15].



Gambar 2. Grafik pengaruh konsentrasi terhadap

Pada Gambar 2. menunjukkan bahwa adanya hubungan antara konsentrasi dengan persen aktivitas antioksidan, dimana semakin tinggi konsentrasi fraksi larut etil asetat, maka semakin tinggi persentase aktivitas antioksidannya yaitu 9,55% sampai 19,43%. Persamaan regresi linear memiliki nilai b yang positif, sehingga menunjukkan bahwa kurva nilai persen aktivitas antioksidan merupakan kurva peningkatan. Koefisien b merupakan koefisien arah regresi linier dan menyatakan perubahan rata-rata variabel y untuk setiap perubahan variabel x [13]. Hasil dari data dapat dikatakan fraksi larut etil asetat memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm yaitu sebesar 139,11 ppm.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan tujuan penelitian dan pembahasan, maka penulis mengambil kesimpulan, yaitu (1) Pengujian secara KLT autografi fraksi larut etil asetat ekstrak akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou) memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai dengan adanya bercak kuning dengan latar belakang ungu dan

(2) Fraksi larut etil asetat ekstrak akar kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding hou) pada fraksi C memiliki nilai IC₅₀ adalah 139,11 ppm.

KONTRIBUSI PENULIS: Konseptualisasi: Novermawati. dan Muhammad Amir Masruhi; Metodologi; Iswahyudi dan Islamudin Ahmad; Analisis formal, Iswahyudi; Investigasi: Islamudin Ahmad; Sumber Daya: Muhammad Amir Masruhim; Kurasi Data, Novermawati; Penulisan—persiapan draf asli: Novermawati; Menulis—meninjau dan mengedit: Islamudin Ahmad; Visualisasi: Iswahyudi; Pengawasan, Muhammad Amir Masruhim;

PENDANAAN: Penelitian ini tidak menerima pendanaan eksternal.

UCAPAN TERIMA KASIH: Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, dosen pembimbing, dosen pembahas, para laboran dan sahabat-sahabat yang telah memberikan saran, bantuan, waktu dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan artikel ilmiah ini.

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

REFERENSI

- Supariningrum, R., Jubaidah, S., Acute toxicity test of extract *Aristolochia faveolate* Merr. Roots. *Media Sains*, 2014;7(2):247-251
- Santander, R., Urzua, A., Olquin, A., Sanchez, M. Temporal variation of *Aristolochia chilensis*. Aristolochid acids during spring. *Molecules*, 2015;20(12):20391-20396
- Polevova S V. Ultrastructure and development of sporoderm in *Aristolochia clematitis* (Aristolochiaceae). *Rev Palaeobot Palynol.* 2015;222(3):104-115.
- Dhouioui M, Boulila A, Chaabane H, Zina MS, Casabianca H. Seasonal changes in essential oil composition of *Aristolochia longa* L. ssp. paucinervis Batt. (Aristolochiaceae) Roots and its antimicrobial activity. *Ind Crops Prod.* 2016;83:301-306.
- Machado MB, Lopes LMX. Tetraflavonoid and biflavonoids from *Aristolochia ridicula*. *Phytochemistry.* 2008;69(18):3095-3102.
- Heinrich M, Chan J, Wanke S, Neinhuis C, Simmonds MSJ. Local uses of *Aristolochia* species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2-A global assessment based on bibliographic sources. *J Ethnopharmacol.* 2009;125(1):108-144
- Li ZJ, Njateng GSS, He WJ, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from the edible aromatic plant *Aristolochia delavayi*. *Chem Biodivers.* 2013;10(11):2032-2041.
- Ferreira MLR, de Pascoli IC, Nascimento IR, Zukerman-Schpector J, Lopes LMX. Aporphine and bisaporphine alkaloids from *Aristolochia lagesiana* var. *intermedia*. *Phytochemistry.* 2010;71(4):469-478
- Ahmad, I., Ardana, M., Sulistyarini, R., Prabowo, W.C., Arifuddin, M. 2017. Phytochemical, TLC Profile, and Antioxidant activity of Malinau Endemic Plant of Tabar Kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding Hou) root fractions. *International Journal of ChemTech Research*, 10(2), 84-90.
- Bhattacharjee P, Bhattacharyya D. Characterization of the aqueous extract of the root of *Aristolochia indica*. Evaluation of its traditional use as an antidote for snake bites. *J Ethnopharmacol.* 2013;145(1):220-226
- Sumithra M, Arunachalam G. Pharmacognostical study and phytochemical evaluation of Agardh, *Sargassum ilicifolium* Turner C. *Int J PharmaTech Res.* 2014;6(7):2022-2027.
- Ahmad I, Arifuddin M, Rijai L. The effect of extraction methods of Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L. MERR) against TLC profiles and sunscreen activities. *Int J PharmTech Res.* 2016;9(9):428-436
- Ahmad I, Rijai L, Sulistiarini R. Antioxidant Activity of Some Selected East Borneo Plants. *Int J Public Health Sci.* 2015;4(1):58-62.

14. Shalaby E, Shanab S. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African J Pharm Pharmacology*. 2013;7(10):528-539.
15. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004;26(2):211-219