

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MARIGOLD (*Tagetes erecta* L.) DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Ni Putu Rahayu Artini
Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan,
Universitas Bali Internasional
Email : artinirahayu967@gmail.com

ABSTRAK

Daun marigold (*Tagetes erecta* L) merupakan salah satu tanaman yang memiliki senyawa metabolit sekunder jenis flavonoid sehingga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian yaitu menganalisis aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun marigold. Metode yang digunakan yaitu DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Ekstrak etanol, dan fraksi ethyl asetat positif mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, dan tannin berdasarkan hasil uji skrining fitokimia. Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat daun marigold (*Tagetes erecta* L.) yaitu 75,3185 ppm dengan kategori antioksidan kuat.

Kata kunci : Daun marigold (*Tagetes erecta* L.), fraksi etil asetat, antioksidan, dan DPPH.

ABSTRACT

Marigold leaf (Tagetes erecta L) is one of the plants that has secondary metabolites of flavonoid types so that it has activity as an antioxidant. The purpose of the study was to analyze the antioxidant activity of the ethyl acetate fraction of marigold leaves. The method used is DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). The ethanol extract and the positive ethyl acetate fraction contained secondary metabolites of the flavonoid, alkaloid, and tannin groups based on the results of the phytochemical screening test. The IC₅₀ value of the ethyl acetate fraction of marigold leaves (Tagetes erecta L.) is 75.3185 ppm with a strong antioxidant category.

Key words : Marigold leaf (Tagetes erecta L.), ethyl acetate fraction, antioxidant, and DPPH.

PENDAHULUAN

Tingkat pencemaran udara di dunia berbeda-beda. Banyak faktor yang mempengaruhi tingkat pencemaran Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya karena tingginya aktivitas dan perekonomian masyarakat di negara tersebut. Hampir 1600 kota yang tersebar di 91 negara di dunia menunjukkan orang-orang yang hidup diperkotaan menghirup udara tidak sehat (WHO, 2002). Di Indonesia terdapat terdapat beberapa kota besar dengan tingkat polusi yang cukup tinggi, seperti Jakarta, Surabaya, bahkan Denpasar. Polusi udara yang meningkat menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah radikal bebas.

Radikal bebas adalah senyawa yang menyebabkan kerusakan sel yang tidak dapat dikendalikan dan berpotensi menimbulkan penyakit degeneratif seperti jantung coroner, penuaan dini, penyakit gangguan organ seperti paru-paru, infeksi pernafasan dan kanker. Radikal bebas ini dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Senyawa antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (donor elektron) yang dalam jumlah tertentu mampu meredam senyawa radikal bebas sehingga mampu menghambat kerusakan sel.

Antioksidan terdiri dari antioksidan primer (SOD, enzim katalase, dan glutathione peroksidase), oksigen Scavenger berupa vitamin C dan antioksidan sekunder seperti senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tannin, dan flavanon (Meilandari, 2012).

Antioksidan alami terkandung dalam tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder jenis *flavonoid, isoflavin, flavon, antosianin*, dan *vitamin C* (Sayuti & Yenrina, 2015). Salah satu tanaman yang diduga mengandung senyawa sebagai antioksidan yaitu tanaman marigold (*Tagetes erecta* L.).

Bunga marigold positif mengandung alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik dan flavonoid serta memiliki aktivitas antioksidan yang sedang berdasarkan hasil pengujian dengan metode skrining fitokimia (Paramitha *et al.*, 2018). Berdasarkan efikasinya, antioksidan sintetik memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan antioksidan alami. Namun, tingkat keamanan penggunaan antioksidan sintesis lebih berbahaya, dibandingkan dengan antioksidan alami. Selain itu, masyarakat beranggapan bahan alam lebih aman digunakan untuk jangka waktu yang panjang sehingga

mendorong masyarakat untuk beralih ke pengobatan alam (Wiguna, 2014).

Potensi ekstrak daun marigold (*Tagetes erecta L.*) yang ingin diteliti berupa pencarian fraksi yang positif sebagai antioksidan, yaitu fraksi yang mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, fenolik, dan tannin. Dalam penelitian ini digunakan pelarut polar yaitu perbandingan etanol dan air (70:30), pelarut semipolar yaitu , dan pelarut nonpolar yaitu n-hexane. Pada penelitian ini, potensi fraksi yang diuji kandungan aktivitas antioksidannya.

Penelitian ini dilakukan uji pada fraksi semipolar karena berdasarkan kepolarannya, etilasetat merupakan pelarut semipolar yang mampu menarik golongan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, tannin, dan saponin. Lalu fraksi diuji aktivitas antioksidannya berdasarkan nilai IC_{50} . Semakin kuat aktivitas antioksidan yang diperoleh, semakin kecil nilai IC_{50} . Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan pencarian fraksi yang aktif antioksidan dari daun marigold (*Tagetes erecta L.*)

METODE

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini, alat yang digunakan terdiri dari gelas ukur (Herma), pipet tetes, pipet mikro, gelas ukur, spatula, tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis (Biobase), corong pisah, *rotary evaporator* (IKA RV 8), oven (Biobase) dan blender (Miyako). Pada penelitian ini menggunakan beberapa bahan yaitu daun marigold (*Tagetes erecta L.*) yang muda, dengan warna hijau, merupakan daun ke-3 hingga 6 dari pucuk dan .Bahan penyari yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 96%, aquadest, etil asetat p.a, dan n-heksana. bahan uji skrining fitokimia serta kristal DPPH (*2,2-difenil-1-pikrylhidrazil*) dan methanol pa.

Penyiapan bahan

Ekstraksi daun marigold (*Tagetes erecta L.*) Daun marigold segar dipetik kemudian disortasi basah, dicuci, dirajang, dikeringkan, dan di blender hingga berbentuk serbuk simplisia dan diayak dengan ayakan 80 mesh. Serbuk simplisia daun marigold diekstraksi dengan perbandingan simplisia dan pelarut yaitu 1 :5 menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1200 gram serbuk simplisia daun marigold direndam dengan etanol 96% sebanyak 6L selama 3 hari, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat yang telah diperoleh kemudian diupakan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan tekanan 760 mmHg hingga

kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji skrining fitokimia.

Fraksinasi

Ekstrak kental etanol daun marigold (*Tagetes erecta L.*) kemudian dilarutkan dalam air : etanol (3:7), etanolnya diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan tekanan 760 mmHg hingga tersisa fraksi air, kemudian fraksi air dipartisi dengan n-heksana (50 mL) kemudian digojog dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi n-heksana kemudian diuapkan hingga diperoleh fraksi kental n-heksana (FN) dan residunya (fraksi air) difraksinasi kembali dengan etil asetat p.a (50 mL) kemudian digojog dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi etil asetat diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat (FE). Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, fraksi yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder aktif antioksidan yang akan dilanjutkan untuk uji IC_{50} . Kandungan senyawa berupa flavonoid dan tannin pada masing-masing fraksi yang diuji aktivitas antioksidannya. Fraksi etil asetat yang diperoleh kemudian dilakukan uji skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan.

Uji aktivitas antioksidan

Fraksi etil asetat yang diperoleh diuji aktivitas antioksidan dengan tahapan sebagai berikut : fraksi ditimbang sebanyak 100 mg lalu ditambahkan 100 mL methanol p.a pada labu ukur sehingga diperoleh larutan induk fraksi daun marigold dengan konsentrasi 1000 ppm. Untuk sampel, dibuat larutan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm.

Untuk membuat larutan DPPH, ditimbang 10 mg serbuk DPPH lalu ditambahkan 100 mL methanol p.a sehingga diperoleh larutan baku induk DPPH 100 ppm. Kemudian dibuat larutan DPPH konsentrasi 40 ppm. Blanko, larutan standar DPPH, dan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, yaitu 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

Aktivitas antioksidan diukur dengan memipet 2 mL larutan DPPH 40 ppm, lalu ditambahkan 2 mL larutan uji pada masing-masing konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm, lalu dikocok dan didiamkan 30 menit, lalu diamati absorbansinya dan dicatat panjang gelombangnya. Dilakukan tiga kali replikasi pengujian. Untuk standar DPPH, dilakukan dengan pemipetan 2 mL larutan baku kemudian ditambahkan 2 mL methanol, dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan cara yang sama seperti pengukuran sampel. Penentuan nilai IC_{50} dilakukan dengan membuat kurva regresi linier sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol daun marigold (*Tagetes erecta L.*) yang diperoleh lalu diuji kandungan

metabolit sekundernya dengan skrining fitokimia. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun marigold (*Tagetes erecta L.*) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun marigold (*Tagetes erecta L.*)

Skrining fitokimia	Pereaksi	Perubahan warna	Keterangan
Flavonoid	Mg+HCl pekat	Merah	+
Alkaloid	HCl 2N + Pereaksi Mayer dragendroff	Hijau dengan endapan putih	+
	HCl 2N + Pereaksi Dragendroff	Hijau dengan endapan kuning keemasan	+
Triterpenoid/steroid	Lieberman Baucard	Cokelat	-
Saponin	H ₂ O panas+HCl 1N	Hijau-busa stabil	+
Tannin	FeCl ₃ 1%	Hijau kehitaman	+

Hasil fraksinasi daun marigold (*Tagetes erecta L.*) dihasilkan tiga fraksi yaitu fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Proses fraksinasi dilakukan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan berdasarkan polaritasnya sehingga tidak saling bercampur (Nuria *et al*, 2012). Berdasarkan hasil pemisahan dihasilkan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air secara berturut-turut yaitu 13,12% ; 9,64% dan 13,86%. Persentase rendemen pada fraksi air lebih banyak karena senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun marigold larut dalam pelarut polar dan lebih banyak senyawa matabolit primer dan sekunder larut pada fraksi polar. Sedangkan persentase rendemen terkecil diperoleh dari fraksi etil asetat, hal tersebut dikarenakan pada fraksi etil asetat jenis senyawa metabolit primer dan sekunder yang terkandung lebih sedikit.

Susut pengeringan atau kadar air yang tersisa dari proses evaporasi yang peroleh untuk fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air secara berturut-turut yaitu 6,11±1,15%; 4,27±0,58% dan 3,88±0,86%. Hasil susut pengeringan menunjukkan bahwa hasil susut pengeringan fraksi tidak melebihi 10%. Persentase susut pengeringan menunjukkan selain kadar air, adanya kandungan atsiri yang terdapat pada fraksi. Susut pengeringan yang melebihi 10% menunjukkan keberadaan kadar air yang dapat menyebabkan pertumbuhan jamur pada sampel, sehingga perlu dilakukan pengeringan fraksi sebelum digunakan untuk uji aktivitas farmakologinya atau dibuat dalam bentuk sediaan (Pratiwi, 2018). Persentase susut pengeringan diuji untuk mengukur sisa pelarut yang tersisa dan senyawa atsiri yang terkandung pada sampel selama proses pemanasan. Hasil uji skrining fitokimia disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun marigold (*Tagetes erecta L.*)

Skrining fitokimia	Pereaksi	Perubahan warna	Keterangan		
			FA	FE	FN
Flavonoid	Mg+HCl pekat	Hijau-merah	+	+	-
Alkaloid	HCl 2N +Pereaksi Mayer HCl 2N +Pereaksi Dragendroff	Meyer : Hijau-endapan putih Dragendroff : hijau-endapan orange	+	+	+
Triterpenoid/steroid	Pereaksi Lieberman Baucard	Coklat	-	-	+
Saponin	H ₂ O panas+HCl	Hijau-busa stabil	+	-	-
Tannin/ fenolik	FeCl ₃ 1%	Hijau-hijau kehitaman	+	+	-

Keterangan :

- FA : fraksi air
- FE : fraksi etil asetat
- FN : fraksi n-heksana

- (+) : mengandung senyawa yang dimaksud
- (-) : mengandung senyawa yang dimaksud

Berdasarkan uji skrining fitokimia pada tiga fraksi. Fraksi air daun marigold positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin. Fraksi etil asetat daun marigold positif mengandung flavonoid, alkaloid dan tannin. Sedangkan fraksi n-heksan positif mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid.

Uji aktivitas antioksidan dengan penentuan nilai IC₅₀ dilakukan hanya pada fraksi etil asetat. Berdasarkan hasil uji fitokimia, fraksi air juga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin. Namun, adanya golongan saponin yang memiliki bioaktivitas sebagai *antifeedant*, maka fraksi yang diuji bioaktivitasnya sebagai antioksidan hanya pada fraksi semipolar, yaitu fraksi etilasetat Fraksi etil asetat dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan karena pada uji skrining fitokimia mengandung senyawa flavonoid. Fraksi etil asetat dilarutkan dengan DPPH lalu didiamkan selama 30 menit yang bertujuan untuk mereaksikan antara sampel yang bertindak sebagai antioksidan dalam meredam radikal bebas

Fraksi etil asetat diuji aktivitas antioksidannya berupa persentase peredaman dengan DPPH dengan beberapa konsentrasi. Hasil uji aktivitas antioksidan disajikan pada Tabel 3.

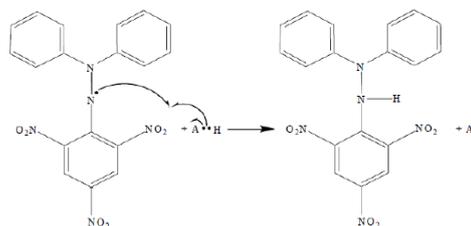
Tabel 3. Persentase peredaman DPPH fraksi etil asetat daun marigold (*Tagetes erecta L.*)

Fraksi	Konsentrasi	% peredaman ($\bar{X} \pm SD$)
Etil asetat	50 ppm	24,0045 ± 7.5053
	75 ppm	36,1774 ± 0,7820
	100 ppm	53,8680 ± 4,7332
	125 ppm	64,1069 ± 3,7594
	150 ppm	70,6484 ± 4,0346

Kemudian ditentukan persamaan regresi linear untuk mencari nilai IC₅₀ dari rumus $y = bx + a$ dengan mengganti nilai y menjadi 50. Berdasarkan hasil uji, fraksi etil asetat daun marigold (*Tagetes erecta L.*) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 75,3185 ppm dengan kategori antioksidan kuat. Fraksi etil asetat yang telah tercampur dengan DPPH akan mengalami perubahan warna yang awalnya berwarna ungu menjadi ungu muda atau kuning muda.

Hal tersebut karena fraksi ethylasetat dengan kandungan flavonoid dan tannin/ fenolik di dalamnya memiliki gugus OH fenolat, yang dapat menyumbangkan atom hidrogen sehingga menimbulkan bentuk tereduksi dengan hilangnya

warna ungu menjadi warna kuning (Molyneux, 2004). Dalam strukturnya flavonoid dan tannin berperan sebagai antioksidan karena mampu mendonorkan gugus hidrogen (Sadeli, 2016). Mekanisme reaksi metode DPPH disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi radikal DPPH dengan Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun marigold menghasilkan persamaan regresi linier $y = 0,4881x + 13,237$ dengan nilai R² = 0,9771. Persamaan regresi linier yang diperoleh ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat digunakan untuk mencari nilai IC₅₀ dengan mengganti nilai y = 50 pada persamaan $y = bx + a$. Nilai IC₅₀ rata-rata yang diperoleh dari fraksi etil asetat yaitu 75,3185 ppm dengan kategori antioksidan kuat. Semakin tinggi aktivitas antioksidan, maka semakin kecil nilai IC₅₀ suatu sampel. Suatu sampel dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm dan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm (Mailandari, 2012).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, fraksi etil asetat daun marigold (*Tagetes erecta L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, dan tannin dengan nilai IC₅₀ adalah 75,3185 ppm dan memiliki sifat antioksidan kuat, sehingga bersifat sebagai antiradikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

Gandjar, I.G., A. Rohman. 2017. Kimia Farmasi Analisis. 1 st ed 1. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Mailandari, M. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Garcinia Kydia Roxb dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi yang Aktif. Jurnal Farmasi Universitas Indonesia. Vol. 8 (5): 11-14.

Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Dyhenylpicrylhydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. Journals Science and Technology. Vol 26 (2):211-219.

- Pramitha, D.A.I., Suaniti, N.M., Sibarani, J. 2018. Aktivitas Antioksidan Bunga Pacar Air Merah (*Impatiens balsamina L.*) dan Bunga Gemitir (*Tagetes erecta L.*) dari Limbah Canang. Denpasar : Universitas Udayana. *Chimica et Natura Acta Vol. 6 No. 1: 8-11.*
- Pratiwi, Sylvia, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Sadeli, A., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bromelain Buah Nanas Dengan Metode DPPH. *J. Farm. Universitas Sanata Darma.* Vol. 4 (3): 28-47.
- Sayuti, K. And Yenrina. R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik.* Sumatera Barat : Andalas University Press.
- WHO. 2002. *Air Quality Guidelines for Europe.* Copenhagen: WHO Regional Office for Europe.
- Wiguna, Y. 2014. Identifikasi Adanya Kuersetin Dalam Daun Boroco dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Journal Medicamento, Vol : 3(8), 1*