UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT AKAR SENGGUGU (Clerodendrum serratum) ASAL IMOGIRI, YOGYAKARTA

Nasrudin^{1,2)}, Wahyono³⁾, Mustofa⁴⁾ dan Ratna Asmah³⁾

e-mail: nasrud_la@yahoo.co.id

ABSTRACT

Senggugu (*Clerodendrum serratum*) is one of the potential plants as the source of natural antioxidant. Traditionally, some Asian countries, as well as Indonesia, has been applied this plant for treatment in various diseases. The leaf and stems of *Clerodendrum pholimidis* and *Clerodendrum viscosum* that are the same genus with senggugu indicated that they are potential as an antioxidant. The Senggugu plants growing in India, China and Malaysia have been reported that the extracts of the plant are also active as an antioxidant. The objective of this work is to study antioxidant activity of ethyl acetate extracts of the senggugu root-stem collected from Imogiri, Yogyakarta. The extract was obtained through sequential maceration technique using n-hexane, ethyl acetate, and methanol solvents. The antioxidant activity of the extract was then examined by DPPH (2,2-dipphenyl-1-pycryl hydrazyl) and rutin as the standard antioxidant. The results showed that the ethyl acetate extracts of root-stem of the senggugu have antioxidant activity property with IC $_{50}$ of 30.968 ± 0.686 µg/mL and IC $_{50}$ of 1.741 ± 0.091 µg/mL for rutin as the standard antioxidant.

Key words: Root-stem, Clerodendrum serratum, antioxidant

PENDAHULUAN

Senggugu (*Clerodendrum serratum*) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi menjadi sumber antioksidan alami. Secara etnobotani, tumbuhan ini telah dimanfaatkan sebagai obat rakyat di India, China, Thailan, Korea dan Jepang. Senggugu digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, diantaranya sipilis, tipoid, kanker, penyakit kuning dan hipertensi (Shrivastava dan Patel, 2007). Senggugu di Indonesia merupakan salah satu obat tradisional untuk asma, bronkitis, peluruh air seni, obat batuk dan untuk memperoleh suara yang jernih (Heyne, 1950).

Eksplorasi terhadap aktivitas biologis ekstrak *Clerodendrum serratum* di Indonesia yang dikenal dengan nama senggugu telah banyak dilakukan, utamanya spesies yang tumbuh di India. Bagian tumbuhan senggugu yang sudah dilaporkan aktivitas ekstraknya antara lain, daun menunjukkan aktivitas antioksidan dan antibakteri (Prasad dkk., 2012), *aerial parts* menunjukkan aktivitas antioksidan (Ismail dan Leelavathi, 2011), sedangkan akar menunjukkan aktivitas antioksidan, antikanker, hepatoprotektif, antinosiseptif, anti-inflamasi dan antipiretik (Narayanan dkk., 1999; Vidya dkk., 2007).

Senggugu di Indonesia yang dilaporkan adalah ekstrak kulit akar menunjukkan aktivitas mukolitik (Wahyono, 1998), anti-inflamasi (Wahyono, 2001) dan trakeospasmolitik (Wahyono, 2004). Namun, uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu khususnya dari daerah Imogiri Yogyakarta belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu asal Imogiri Yogyakarta.

¹⁾Mahasiswa Program Studi S3 Ilmu Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²⁾Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara

³⁾Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴⁾Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan tumbuhan yang digunakan sebagai sampel adalah kulit akar senggugu (*Clerodendrum serratum*) yang diperoleh dari daerah Imogiri Yogyakarta. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi sampel yaitu etil asetat. Bahan uji aktivitas antioksidan menggunakan radikal DPPH (Sigma) dan rutin (Sigma) sebagai antioksidan standar.

Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan untuk ekstraksi yakni seperangkat alat gelas laboratoroum dan vakum evaporator (Buchi Rotavapor R-125). Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah mikropipet, spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan).

Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Kulit Akar Senggugu

Ekstraksi kulit akar senggugu dilakukan dengan cara maserasi bertingkat, mulai *n*-heksan, kemudian etil asetat. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat. Ekstrak tersebut selanjutnya diuji aktivitas antioksidannya.

Uji Aktivitas Antioksidant Ekstrak Etil Asetat Kulit Akar Senggugu

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji aktivitas penangkapan radikal DPPH berdasarkan metode yang dilakukan Samal dan Dangi (2014). Aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak dievaluasi menggunakan stabilitas radikal DPPH. Larutan ekstrak etil asetat (sampel) dalam etanol dibuat dengan variasi konsentrasi (3,91; 7,81; 15,63; 31,25 dan 62,50) µg/mL. Sebanyak 1,0 mL larutan tersebut ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH (0,1 mM) dalam etanol, kemudian didiamkan selama 35 menit pada suhu 27°C. Absorbansi sampel diukur pada 515,5 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan). Prosedur yang sama dilakukan untuk rutin sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (APR) DPPH dinyatakan sebagai persentase, dihitung menggunakan persamaan:

$$APR (\%) = \frac{A_{DPPH} - (A_{sampel} - A_{kontrol})}{A_{DPPH}} \times 100\%$$

Dimana, A_{DPPH} adalah absorbansi larutan DPPH (0,1 mM) dalam etanol tanpa sampel uji, A_{sampel} adalah absorbansi sampel uji yang dicampur dengan larutan DPPH (0,1 mM) dalam etanol dan $A_{kontrol}$ adalah absorbansi sampel uji tanpa larutan DPPH (0,1 mM) dalam etanol. APR DPPH sampel dibandingkan dengan rutin dengan konsentrasi yang sama.

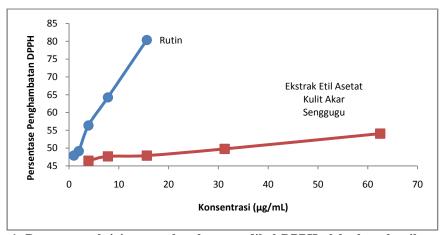
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*) menggunakan radikal DPPH. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ini berdasarkan pada kemampuan suatu senyawa uji menangkap radikal dan mengurangi intensitas warna radikal DPPH yang diukur oleh spektrofotometer pada panjang gelombang yang telah ditentukan sebelumnya, yaitu 515,5 nm. Hal ini sesuai yang dikemukakan Molyneux (2004) bahwa panjang gelombang teoritis untuk pengukuran DPPH berkisar antara 515 nm – 520 nm. DPPH merupakan radikal nitrogen organik yang tidak stabil. DPPH akan tereduksi oleh proses donasi hidrogen atau elektron dan warnanya akan berubah dari violet ke kuning. Senyawa yang dapat menyebabkan ini dapat dipertimbangkan sebagai antioksidan atau bahkan penangkap radikal (Halliwell dan Gutteridge , 2000). Oleh karena itu,DPPH sangat penting digunakan untuk mengetahui aktivitas penangkapan radikal oleh senyawa polihidroksi aromatik (Nishizawa dkk., 2005).

Penelitian ini menggunakan rutin sebagai antioksidan standar dalam melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu. Rutin merupakan senyawa golongan flavonoid yang telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Struktur senyawa rutin menunjukan bahwa rutin mempunyai aktivitas antioksidan karena adanya gugus –OH fenolat. Gugus ini yang

bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh rutin. Penambahan senyawa yang bersifat antioksidan akan menyebabkan satu elektron bebas yang terdapat pada DPPH akan mengikat H yang berasal dari senyawa antioksidan, sehingga sifat radikal DPPH akan hilang. Hilangnya sifat radikal bebas ini menyebabkan tidak terjadinya delokalisasi elektron dalam molekul DPPH, sehingga warna violet lama-kelamaan akan berkurang intensitasnya. Pengurangan intensitas warna ini sebanding dengan jumlah radikal bebas DPPH yang ditangkap oleh senyawa antioksidan. Persentase berkurangnya intensitas warna DPPH sebanding dengan konsentrasi senyawa antioksidan. Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH ini adalah IC₅₀ yakni konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC₅₀ diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen aktivitas antioksidan (Zou dkk., 2004).

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan radikal DPPH pada ekstrak etil asetat kulit akar senggugu lebih rendah dibanding rutin. Pada konsentrasi yang sama, yaitu 15,625 µg/mL misalnya, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan radikal DPPH sebesar 47,9 % sedangkan rutin mampu menghambat radikal DPPH sebesar 80,38 % sebagaimana ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Persentase aktivitas penghambatan radikal DPPH oleh ekstrak etil asetat kulit akar senggugu dan rutin

Selanjutnya, berdasarkan hasil perhitungan persentase penghambatan radikal DPPH pada setiap konsentrasi uji malalui persamaan regresi linear, aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu dapat ditentukan dengan IC₅₀ = 30,968 ± 0,686 μg/mL. Sementara itu, rutin sebagai antioksidan standar menunjukkan $IC_{50} = 1.741 \pm 0{,}091 \,\mu\text{g/mL}$. Hal ini membuktikan bahwa rutin memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu lebih lemah dibanding rutin karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak belum diketahui dengan pasti sifat keaktifan dan struktur senyawanya. Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi senyawa aktif dari ekstrak tersebut dan uji aktivitas senyawa isolat. Rutin memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat karena rutin merupakan senyawa flavonoid murni dan bersifat aktif sebagai antioksidan yang tampak dari struktur molekulnya yang mengandung sejumlah gugus hidroksil serta adanya ikatan rangkap terkonyugasi yang memberikan efek resonansi (Rice-evans dkk., 1995). Senyawa flavonoid dapat menunjukkan aktivitas antioksidan dengan beberapa mekanisme, salah satu diantaranya adalah menangkap langsung radikal bebas (Procházková dkk., 2011). Flavonoid mampu menangkap radikal bebas secara langsung dengan menyumbangkan radikal hidrogen. Radikal menjadi tidak aktif seperti ditunjukkan pada Gambar 2, dimana R. adalah radikal bebas dan Fl-O. adalah suatu radikal fenoksil flavonoid.

Aktivitas antioksidan tergantung pada susunan gugus fungsi dan struktur inti. Konfigurasi keduanya sangat mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan (Heim dkk., 2002). Susunan hidroksil pada cincin B sangat signifikan mementukan penangkapan radikal bebas (Burda dan

Oleszek, 2001), sedangkan subtitusi pada cincin A dan C, berpengaruh sedikit pada penangkapan radikal anion superoksida (Taubert dkk., 2003; Amic dkk., 2007).

Gambar 2. Penangkapan spesies oksigen reaktif (R•) oleh flavonoid (Pietta, 2000)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Nilai aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu dengan menggunakan radikal bebas DPPH yang dinyatakan sebagai IC_{50} sebesar (30,968 \pm 0.686) µg/mL.

Saran

Untuk mengetahui jenis senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak kulit akar senggugu, maka perlu dilakukan isolasi senyawa aktif antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etil asetat kulit akar senggugu.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Dirjend Dikti Kemenristek RI yang telah memberikan biaya berupa BPPDN dalam mengikuti program pascasarjana S3 Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Daftar Pustaka

- Amic D., Davidovic-Amic D., Beslo D., Rastija V., Lucic B. and Trinajstic N., 2007, SAR and QSAR of the Antioxidant Activity of Flavonoids, *Curr. Med. Chem.*, **14**(7), 827–845
- Burda S. and Oleszek W., 2001, Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids, *J. Agric. Food Chem.*, **49**(6), 2774–2779
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C., 2000, Free Radical in Biology and Medicine, Oxford University Press, New York
- Heim K.E., Tagliaferro A.R. dan Bobilya D.J., 2002, Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships, J. Nutr. Biochem., 13(10), 572–584
- Heyne K., 1950, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan, Jilid III Ed. I, 1686, Penerbit Yayasan Sarana Wanarja, Jakarta

- Ismail S.M. dan Leelavathi S., 2011, Evaluation of Antioxidant of Anisolmales R Br and *Clerodendrum serratum* L. Extracts against Rheumatism, *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, **2**(4), 488–495
- Molyneux P., 2003, The Use of Stable Free Radical Diphenylpicryl Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Sci. Tecnol.*, **26**(2), 211-219
- Narayanan N., Thirugnanasambantham P., Vismanthan S. and Vijayasekaran V., 1999, Antinociceptive, Anti-inflammatory and Antipyretic Effects of Ethanol Extract of *Clerodendron serratum* Roots in Experimental Animals, *J. Ethno-Pharmacol.*, **65**(1999), 237–241
- Nishizawa M., Kohno M., Nishimura M., Katigawa A. dan Niwano Y., 2005, Non-reductive Scavenging of 1,1-diphenil-2-picryllhhydrazil (DPPH) by Peroxyradical: A useful Method for Quatitatif Analysis and Peroxyradical, J. Chem. Pharm, 53, 714-716
- Pietta P.G., 2000, Flavonoids as Antioxidants, J. Nat. Prod., 63(7), 1035-1042
- Prasad M.P., Sushant S. and Chikkaswamy B.K., 2012, Phytochemical Analysis, Antioxidant Potential, Antibacterial Activity and Molecular Characterization of *Clerodendrum serratum* species, *Int. J. Mol. Biol.*, **3**(3), 71–76
- Procházková D., Boušová I. and Wilhelmová N., 2011, Antioxidant and Prooxidant Properties of Flavonoids. *Fitoterapia*, **82**(4), 513–523
- Rice-evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M. dan Pridham J.B., 1995, The Relative Antioxidant Activities of Plant-derived Polyphenolic Flavonoids, *Free Radic. Res.*, **22**(4), 375–383
- Samal P.K. dan Dangi J.S., 2014, Isolation, Preliminary Characterization and Hepatoprotective Activity of Polysaccharides from *Tamarindus indica* L., *Carbohydr. Polym.*, **102**, 1–7
- Shrivastava N. and Patel T., 2007, *Clerodendrum* and Heathcare: An Overview, *Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol.*, **1**(1), 142–150
- Taubert D., Breitenbach T., Lazar A., Censarek P., Harlfinger S., Berkels R *et.al.*, 2003, Reaction Rate Constants of Superoxide Scavenging by Plant Antioxidants, *Free Radic. Biol. Med.*, **35**(12), 1599–1607
- Vidya S.M., Krishna V., Manjunatha B.K., Mankani K.I., Ahmed M. and Singh S.D.J., 2007, Evaluation of Hepatoprotective Activity of *Clerodendrum serratum* L., *Indian J. Exp. Biol.*, **45**, 538–542
- Wahyono, 1998, Isolasi Senyawa Aktif dari Kulit Akar dan Kulit Batang *Clerodendron serratum* Spreng. yang Berkhasiat sebagai Mukolitik, *Laporan Penelitian*, Majalah Farmasi Indonesia, Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta
- Wahyono, 2001, Isolasi Senyawa Aktif dari Kulit Akar *Clerodendron serratum* Spreng. yang Berkhasiat sebagai Anti-inflamasi, *Laporan Penelitian*, Majalah Farmasi Indonesia, Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta
- Wahyono, 2004, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa yang Berkhasiat Trakeospasmolitik dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendron serratum* Spreng.), *Laporan Penelitian*, *Grant Que Proyect*-Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta

Zou Y., Lu Y. and Wei D., 2004, Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro, J. Agric, Food Chem, **52**, 5032-5039