

Uji Aktivitas Antioksidan dari Akar Kancil (*Smilax zeylanica* L.)

Antioxidant Activity Test of Akar Kancil (Smilax zeylanica L.)

Rayandra Asyhar*¹, Intan Lestari¹, Nanda Yulianika¹

¹Program Studi Kimia, Fst, Universitas Jambi, Indonesia

ABSTRAK

Akar kancil (*Smilax zeylanica* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh Suku Anak Dalam (SAD) sebagai obat-obatan tradisional. Pada penelitian ini digunakan sampel berupa bagian akar dari tanaman akar kancil, karena bagian ini yang banyak digunakan oleh Suku Anak Dalam (SAD). Pada penelitian ini digunakan tiga fraksi yaitu fraksi metano,etil asetat dan n-heksan. Hasil yang didapatkan dari proses ini adalah ketiga fraksi positif mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin. Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Diketahui bahwa aktivitas antioksidan fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut yaitu 22,97 ppm, 76,5 ppm dan 79,43 ppm sehingga termasuk antioksidan kuat. Selanjutnya dilakukan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR untuk fraksi dengan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu fraksi metanol. Hasil interpretasi spektra UV-Vis dan FT-IR fraksi metanol diduga merupakan senyawa yang termasuk golongan flavonoid dan tanin.

ABSTRACT

The root of akar kancil (*Smilax zeylanica* L.) is one of the plants widely used by the Anak Dalam Tribe (SAD) as traditional medicines. In this study, samples were used in the form of the root part of akar kancil, because this part is widely used by the Suku Anak Dalam (SAD). In this study, three fractions were used, namely the methane, ethyl acetate and n-hexane fractions. The results obtained from this process were that the three positive fractions contained flavonoid and tannin compounds. Then, the antioxidant activity was tested using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). It is known that the antioxidant activity of the methanol, ethyl acetate and n-hexane fractions expressed by the IC₅₀ value that is 22.97 ppm, 76.5 ppm and 79.43 ppm, so it is a strong antioxidant. Furthermore, characterization was carried out using UV-Vis and FT-IR spectrophotometers for the fraction with the highest antioxidant activity, namely the methanol fraction. The result of interpretation of UV-Vis and FT-IR spectra of methanol fraction is suspected to be a compound belonging to the flavonoid and tanin group.

Keywords: Akar Kancil, Antioksidan, Antioxidant

INFO ARTIKEL

Received: 10 Okt 2022;

Revised: 12 Nov 2022;

Accepted: 11 Des 2022;

* corresponding author: r.asyhar@unja.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.22437/jisic.v14i2.19017>

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang memperlambat atau mencegah proses oksidasi dengan cara menghentikan reaksi berantai dari radikal (Erlidawati et al., 2018). Berbagai macam penyakit dapat terjadi karena tubuh terpapar oleh radikal bebas. Mulai dari stres ringan, radang sendi, asma, gangguan kardiovaskular, kanker, stroke, dan kemunduran mental dapat terjadi karena serangan radikal bebas yang liar merusak sel tubuh (Lingga, 2012). Tubuh manusia dapat menetralkan radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan, dengan mekanisme pertahanan antioksidan endogen. Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, tubuh membutuhkan antioksidan dari luar (Wherdasari, 2014). Selama ini ada beberapa obat sintesis antioksidan seperti (Butil Hidroksi Anisol) BHA dan (Butil Hidroksil Toluen) BHT. Namun pada penggunaannya, obat ini menimbulkan efek samping jika dikonsumsi. Oleh karena itu, diperlukan sumber antioksidan dari alam yang tidak memiliki efek samping jika dikonsumsi (Fitriani et al., 2015). Salah satu sumber antioksidan yang dapat ditemukan di alam adalah tanaman obat.

Tanaman obat ialah tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan karena secara alami mengandung senyawa bioaktif yang mampu menyembuhkan berbagai penyakit. Sejak dahulu penggunaan tanaman obat di Indonesia telah dikenal dan dimanfaatkan secara turun temurun karena khasiatnya (Widaryanto & Azizah, 2018). Khasiat dari tanaman obat ini juga dimanfaatkan oleh Suku Anak Dalam (SAD) untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Suku Anak Dalam (SAD) adalah salah satu suku di Provinsi Jambi yang sampai saat ini masih hidup secara tradisional di kawasan hutan. Salah satu hutan tempat tinggal dan sumber penghidupan (Suku Anak Dalam) SAD adalah Taman Nasional Bukit Duabelas (TNDB) di Provinsi Jambi (Harnov et al., 2016). Banyak jenis

tanaman obat yang ditemukan TNDB Provinsi Jambi. Adapun beberapa tumbuhan obat yang digunakan Suku Anak Dalam (SAD) yaitu sungkai yang berkhasiat sebagai obat sakit perut, kacabung yang berkhasiat sebagai obat sakit gigi dan katepeng yang berkhasiat sebagai obat kurap atau panu (Indriati, 2014). Selain itu adapula tanaman akar kancil yang memiliki aktivitas antioksidan. Akar kancil (*Smilax zeylanica* L.) atau yang memiliki nama lain gadung cina merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh Suku Anak Dalam (SAD) sebagai obat-obatan tradisional. Akar tumbuhan ini digunakan sebagai obat rematik, kencing nanah dan disentri, bagi Orang Rimba tumbuhan ini digunakan sebagai obat kuat. Bagian yang digunakan adalah akarnya, proses meramu dengan merebus akarnya, kemudian air rebusan di minum (Algopeng, 2018). Tanaman Akar Kancil dapat ditemukan di Taman Nasional Bukit Duabelas (TNBD) Provinsi Jambi. Tanaman ini juga memiliki efek farmakologis seperti analgesik, aktivitas antibakteri dan aktivitas antioksidan (Hossain et al., 2013). Uji Fitokimia *Smilax zeylanica* L. mengandung lemak, saponin, glukosida, gom, pati, flavonoid, tanin dan alkaloid (Saravanakumar et al., 2014).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu botol kaca gelap, corong pisah, labu alas bulat, vacuum rotary evaporator dan kertas saring, plat tetes, mikropipet, gelas piala, batang pengaduk. Serta peralatan lain seperti neraca analitik, alat blender, spektrofotometer UV-Vis Analytic Jena Type Specord 200 Plus dan FT-IR Shimadzu Type IR Prestige 21. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian akar dari tanaman akar kancil (*Smilax zeylanica* L.) yang diperoleh dari Taman Nasional Bukit Dua Belas, Kabupaten Sarolangun, Provinsi Jambi. Bahan kimia yang digunakan pada

penelitian ini adalah metanol, etil asetat, n-heksan, H₂SO₄ 2N, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Meyer, serbuk Mg, HCl 2N, HCl pekat, FeCl₃, Pereaksi Liebermann-Burchad, akuades, 1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl (DPPH) dan asam askorbat (vitamin C)

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar dari tanaman akar kancil (*Smilax zeylanica* L.) yang diambil dari Taman Nasional Bukit Duabelas di Provinsi Jambi. Sampel sebanyak 3 kg yang telah diambil dibersihkan dan dipotong menjadi kecil. Selanjutnya, akar dibiarkan kering jauh dari sinar matahari selama 15-20 hari. Kemudian akar kancil dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi bubuk (Mishra et al., 2021).

Ekstraksi dengan cara maserasi

Akar dari tanaman akar kancil (*Smilax china* L.) dimaserasi dalam larutan metanol selama 3 x 24 jam. Maserat yang diperoleh kemudian di saring dengan menggunakan kertas saring. Residunya dimaserasi kembali dengan menggunakan metanol yang baru. Proses ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan dan dibantu dengan pengadukan sesekali agar proses ekstraksi maksimal. Seluruh filtrat metanol hasil maserasi digabungkan dan dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Kemudian dihitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisa yang digunakan dengan penimbangan. Ekstrak kental selanjutnya dipartisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat dengan cara penggojlokan berulang kali sampai warna pelarut yang digunakan menjadi bening, sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi metanol. Ketiga fraksi tersebut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi kental.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, steroid dan triterpenoid menggunakan metode (Harbone, 2006).

Uji Alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat (H₂SO₄) 2N, kemudian diuji dengan dua pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Meyer dan pereaksi Dragendorff. Hasil uji dinyatakan positif bila terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer dan endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff.

Uji Flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan beberapa tetes HCl pekat, kemudian dimasukkan serbuk Mg. Hasil positif dari pereaksi HCl dan serbuk Mg ini ditunjukkan dengan terbentuknya buih dan perubahan warna larutan menjadi jingga.

Uji Saponin

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil yang dapat bertahan lama dan tidak hilang saat ditambahkan 1 tetes HCl 2N.

Uji Tanin/Fenolik

Sejumlah sampel ditambahkan FeCl₃ kemudian campuran dihomogenkan. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat.

Uji Steroid dan Triterpenoid

Sejumlah sampel ditambahkan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchad). Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau sedangkan adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu atau jingga.

Uji Aktivitas Antioksidan

Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (Latief et al., 2015).

Pembuatan Larutan DPPH 50 μ M

Dilakukan dengan cara melarutkan 1,97 mg serbuk DPPH ke dalam 100 mL masing-masing pelarut (metanol p.a, etil asetat p.a dan n-heksan p.a), hingga terbentuk larutan berwarna ungu tua.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Sampel ditimbang sebanyak 0,1 g kemudian dilarutkan dengan masing-masing pelarut yang sesuai dengan fraksi (metanol p.a, etil asetat p.a dan n-heksan p.a) dalam labu ukur 10 mL. Volumennya dicukupkan dengan metanol p.a sampai garis tanda (untuk mendapatkan larutan induk dengan konsentrasi 10.000 ppm). Larutan induk dipipet 0,01 mL; 0,02 mL; 0,03 mL; 0,04 mL; 0,05 mL, kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (untuk mendapatkan konsentrasi larutan uji 50 ppm, 40 ppm, 30 ppm, 20 ppm dan 10 ppm) lalu volumennya dicukupkan dengan metanol p.a sampai garis tanda.

Pembuatan Larutan Kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan ialah larutan asam askorbat dengan variasi konsentrasi 50 ppm, 40 ppm, 30 ppm, 20 ppm dan 10 ppm. Untuk membuat larutan induk 100 ppm, ditimbang sebanyak 0,001 g serbuk asam askorbat dan dilarutkan dengan metanol p.a. dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya dipipet sejumlah larutan induk untuk membuat variasi konsentrasi 50 ppm, 40 ppm, 30 ppm, 20 ppm dan 10 ppm.

Kontrol negative

Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut yang sesuai dengan masing-masing fraksi (metanol p.a, etil asetat p.a dan n-

heksan p.a) yang ditambahkan larutan DPPH.

Pengujian aktivitas antioksidan

Untuk penentuan aktivitas antioksidan, setiap konsentrasi larutan uji, larutan kontrol negatif dan larutan kontrol positif dipipet sebanyak 0,2 ml dengan menggunakan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam botol vial, selanjutnya ditambahkan sebanyak 3,8 mL larutan DPPH 50 μ M. Campuran larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit ditempat gelap. Campuran larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Visible pada panjang gelombang 517 nm. Kemudian dihitung nilai persen inhibisinya yang menunjukkan aktivitas peredaman DPPH dan nilai IC₅₀, menyatakan konsentrasi yang menghasilkan 50% inhibisi.

Karakterisasi Fraksi

Fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dilakukan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sampel Menggunakan Metanol

Akar sebanyak 3 kg terlebih dahulu dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel. Kemudian dilakukan pengeringan didalam ruangan selama \pm 14 hari untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada simplisa. Setelah proses pengeringan, berat akar mengalami penyusutan menjadi 1,5 kg. Selanjutnya, akar yang sudah kering dipotong-potong dengan ukuran \pm 0,5-1 cm. Agar simplisa yang didapatkan lebih halus, maka simplisa di blender sehingga didapatkan simplisa berbentuk bubuk. Simplisa halus sebanyak 236 gr diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan metanol sebagai pelarutnya. Simplisa direndam dalam botol

kaca gelap dan rendaman didiamkan selama 3x24 jam.

Selama perendaman dilakukan pengocokan secara rutin agar senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel dapat terambil secara maksimal. Setelah 3 hari, rendaman disaring untuk mendapatkan maserat tanpa adanya pengotor. Sampel direndam lagi dengan pelarut baru dan hal ini diulang sebanyak 3 kali. Total maserat dari proses maserasi ini adalah sebanyak 3.088 L. Kemudian maserat di evaporasi dan didapatkan ekstrak kasar metanol. sebanyak 6,14 gr. Dari hasil evaporasi tersebut, maka didapatkan %rendemen sebesar 2,061% .

Partisi Cair-cair

Ekstrak kasar metanol yang diperoleh, kemudian di partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Pemisahan secara partisi cair-cair harus memiliki perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut serta kedua pelarut yang digunakan tidak saling bercampur. Pelarut yang digunakan pada proses partisi adalah etil asetat dan n-heksan.

Partisi dilakukan dengan menggunakan corong pisah, dimana partisi pertama dilakukan dengan pelarut n-heksan hingga warna pelarut menjadi bening dan dilanjutkan pelarut etil asetat. Terjadinya perubahan warna menunjukkan bahwa proses pemisahan telah dilakukan secara maksimal. Senyawa non polar yang berada pada ekstrak metanol akan terdistribusi ke dalam pelarut n-heksan dan senyawa yang bersifat semi polar akan terekstrak pada pelarut etil asetat (Tursiman et al., 2012). Dari proses ini didapatkan tiga fraksi sesuai dengan pelarut yang digunakan dan masing-masing fraksi tersebut di evaporasi.

Setelah didapatkan fraksi kental, selanjutnya dihitung %rendemen dari setiap fraksi tersebut.

Tabel 1. Hasil % rendemen fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol

Nama Fraksi	Ekstrak kental (g)	% Rendemen
Fraksi n-heksan	0,28	8,615
Fraksi etil asetat	0,63	19,384
Fraksi metanol	0,72	22,153

Salah satu parameter mutu ekstrak adalah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Wijaya et al., 2018). Rendemen yang dihasilkan dari proses ekstraksi memiliki nilai yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan banyaknya rendemen dipengaruhi oleh sifat kelarutan komponen bioaktifnya. Diantara ketiga pelarut yang digunakan, nilai rendemen paling besar dimiliki oleh fraksi metanol. Sehingga kemungkinan senyawa bioaktif yang terkandung pada bagian akar tanaman akar kancil lebih bersifat polar.

Uji Fitokimia

Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak kasar metanol, fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan. Pengujian ini merupakan tahap awal yang dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam tanaman akar kancil.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia

Uji Fitokimia	Hasil			
	Ekstrak Kasar Metanol	Fraksi Metanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan
Alkaloid (Meyer)	+	-	-	-
Alkaloid (Dragendoff)	+	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-
Steroid dan Triterpenoid	-	-	-	-

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada tabe diatas, diketahui bahwa ekstrak kental metanol, fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan tanin.

Hasil ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa bagian akar pada *Smilax zeylanica* L. positif mengandung flavonoid dan tanin (Mishra et al., 2021). Pengujian fitokimia senyawa golongan flavonoid dilakukan dengan menambahkan HCl pekat dan serbuk Mg ke dalam sampel. Hasil positif pada uji ini ditunjukkan dengan terbentuknya buih dan perubahan warna larutan menjadi jingga. Tujuan penambahan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina et al., 2014).

Pengujian fitokimia senyawa golongan flavonoid dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes FeCl_3 ke dalam sampel. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Uji fitokimia menggunakan FeCl_3 dapat menunjukkan adanya gugus fenol, apabila terdapat senyawa fenol, maka dimungkinkan juga terdapat tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ikalinus et al., 2015).

Pengujian fitokimia senyawa golongan dilakukan dengan menggunakan dua jenis pereaksi, yaitu pereaksi Mayer dan pereaksi Dragendorff. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan terbentuknya endapan putih yang diperkirakan kompleks kalium-alkaloid untuk pereaksi Mayer dan endapan jingga yang terbentuk dari kalium alkaloid untuk pereaksi Dragendorff. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat(III)). Sedangkan pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida (kalium tetraiodomerkurat(II)) (Ergina et al., 2014). Uji alkaloid hanya memberikan hasil positif pada ekstrak kasar metanol.

Pengujian fitokimia senyawa golongan saponin dilakukan dengan uji busa dalam air panas. Hasil positif uji ini ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil serta dapat bertahan lama dan tidak hilang ketika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N.

Uji saponin pada keempat sampel tersebut memberikan hasil negatif dimana tidak terbentuknya busa yang stabil.

Pengujian fitokimia senyawa golongan steroid dan triterpenoid dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes reagen Liebermen-Burchard ke dalam sampel. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat-ungu yang menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau-biru untuk steroid. Uji steroid dan triterpenoid pada keempat sampel tersebut memberikan hasil negatif dimana tidak terjadi perubahan warna.

Uji Antioksidan Kualitatif

Uji antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan cara melihat intensitas warna dari sampel yang diuji untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas antioksidan. Dari intensitas warna ini juga dapat dilihat kuat atau lemahnya aktivitas antioksidan sampel yang diuji. Pengujian cara ini menggunakan plat KLT dengan mengelusi sampel menggunakan eluen yang sesuai pada plat dan menghasilkan noda yang naik pada plat. Selanjutnya plat tersebut disemprot menggunakan larutan DPPH, sehingga terjadi perubahan warna pada plat KLT.



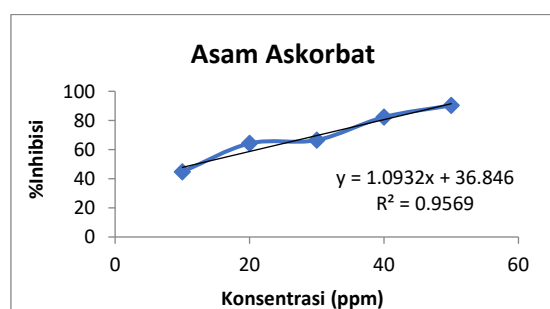
Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif Antioksidan Ekstrak Kasar Metanol, Fraksi Metanol, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan

Berdasarkan pengamatan pada gambar di atas, pemisahan yang dilakukan belum baik karena bentuk noda yang dihasilkan memanjang dan tidak berbentuk bulatan. Hal ini dikarenakan pada fraksi tersebut, masih berupa campuran senyawa dan bukan merupakan senyawa murni. Selain itu, dapat dilihat terjadi perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning pada

plat KLT. Hal ini menandakan bahwa ekstrak kasar metanol, fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan memiliki aktivitas antioksidan. Kemudian dapat dilihat juga intensitas warna yang dihasilkan dari ketiga fraksi tersebut. Terlihat bahwa pada fraksi metanol memiliki intensitas warna yang lebih tinggi dibandingkan kedua fraksi lainnya. Oleh karena itu, fraksi metanol diduga memiliki tingkat aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan kedua fraksi lainnya.

Uji Antioksidan Kuantitatif

Pengujian antioksidan secara kuantitatif dilakukan secara direndam radikal bebas DPPH pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang kemudian akan digunakan untuk mengukur absorbansi larutan sampel dan larutan pembanding. Senyawa pembanding atau kontrol positif yang digunakan adalah senyawa asam askorbat.



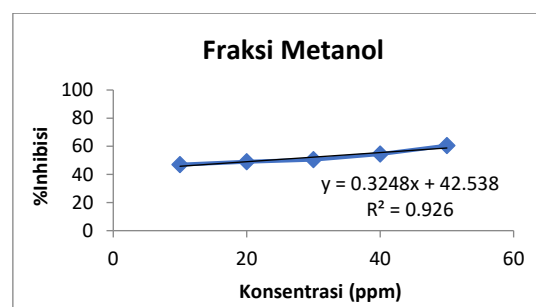
Gambar 2. Kurva Kalibrasi Asam Askorbat

Dari persamaan regresi linear kurva diatas dapat diketahui nilai IC_{50} asam askorbat yaitu sebesar 12,09 ppm. Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa asam askorbat termasuk antioksidan yang sangat kuat. Diperoleh nilai koefisien korelasi dari kurva kalibrasi yang dibentuk yaitu $R^2=0,9569$. Hal ini menunjukkan bahwa kurva memiliki kelinearitasan yang baik karena R^2 mendekati satu, maka data tersebut dapat diterima. Selain itu, dari grafik diatas dapat diketahui bahwa konsentrasi (ppm) berbanding lurus dengan % inhibisi.

Uji Antioksidan Fraksi Metanol

Pada pengujian antioksidan ini, didapatkan nilai absorbansi dari pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa besar konsentrasi berpengaruh terhadap nilai absorbansi yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin kecil nilai absorbansi yang dihasilkan. Menurut (Talapessy et al., 2013), hal ini dapat terjadi oleh karena adanya reduksi radikal DPPH oleh antioksidan, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansinya semakin berkurang.

Absorbansi yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk menghitung %inhibisi. Persen inhibisi (%inhibisi) menggambarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menghambat radikal bebas pada larutan yang diuji. Nilai %inhibisi yang didapatkan selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu X dan % inhibisi sebagai sumbu Y.

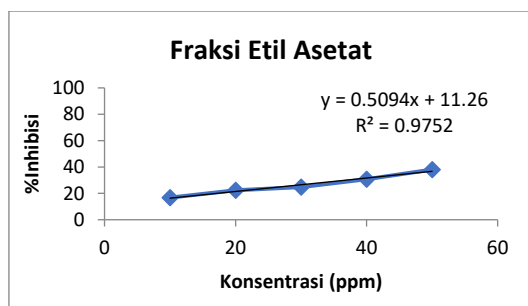


Gambar 3. Grafik Kurva Kalibrasi Fraksi Metanol

Berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva diatas, maka dapat dicari nilai IC_{50} dari fraksi metanol. Hasil IC_{50} yang didapatkan yaitu sebesar 22,97 ppm, artinya pada fraksi metanol memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang kuat. Dengan nilai %inhibisi dari masing-masing konsentrasi secara berturut-turut sebesar

46,94%; 49,04%; 50,48%; 54,5% dan 60,45%.

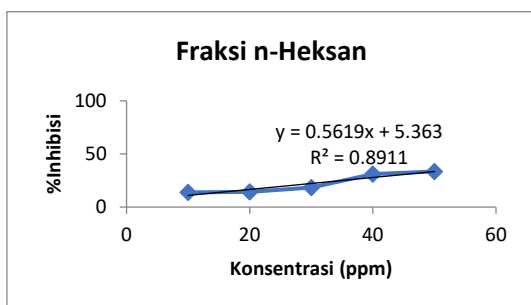
Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat



Gambar 4. Grafik Kurva Kalibrasi Fraksi Etil Asetat

Berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva diatas, maka dapat dicari nilai IC_{50} dari fraksi etil asetat. Hasil IC_{50} yang didapatkan yaitu sebesar 76,05 ppm, artinya pada fraksi etil asetat memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Dengan nilai %inhibisi dari masing-masing konsentrasi secara berturut-turut sebesar 16,79%; 22,34%; 24,76%; 30,78% dan 38,04%.

Uji Antioksidan Fraksi n-Heksan



Gambar 5. Grafik Kurva Kalibrasi Fraksi n-Heksan

Berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva diatas, maka dapat dicari nilai IC_{50} dari fraksi n-heksan. Hasil IC_{50} yang didapatkan yaitu sebesar 79,43 ppm, artinya pada fraksi n-heksan memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Dengan nilai %inhibisi dari masing-masing konsentrasi secara berturut-turut sebesar 13,81%; 14,28%; 18,41%; 31,11% dan 33,49%.

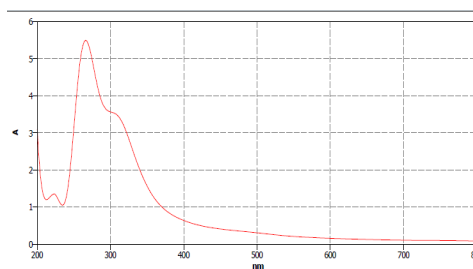
Dari keempat grafik diatas, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka nilai %inhibisi yang dihasilkan juga semakin tinggi. Persen inhibisi yang semakin tinggi dipengaruhi oleh menurunnya nilai absorbansi yang dihasilkan sampel. Konsentrasi sampel yang semakin tinggi menghasilkan nilai absorbansi yang semakin kecil sehingga menyebabkan persen inhibisi semakin tinggi (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

Berdasarkan hasil dari ketiga fraksi diatas, fraksi metanol memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil diantara fraksi lainnya yaitu sebesar 22,97 ppm dan termasuk antioksidan kuat. Hal ini juga dibuktikan oleh hasil penelitian dari (Hossain et al., 2013), yang menyatakan bahwa pada uji kuantitatif ekstrak etanol *Smilax zeylanica* L. menunjukkan aktivitas penangkapan radikal DPPH dengan nilai IC_{50} 30,93 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} fraksi metanol jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan n-heksan.

Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan pada ketiga fraksi masih terbilang lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai aktivitas antioksidan dari asam askorbat. Hal ini dikarenakan asam askorbat merupakan senyawa murni hasil isolasi, sedangkan fraksi-fraksi dari tanaman akar kancil masih berupa dalam bentuk campuran senyawa. Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa fraksi metanol aktivitas yang tinggi. Oleh karena itu fraksi metanol dipilih untuk melanjutkan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

Karakteristik Fraksi Etanol

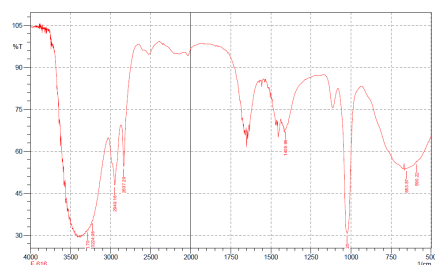
Spektrofotometri UV-Vis



Gambar 6. Spektrum UV-Vis Fraksi Metanol

Hasil karakterisasi fraksi metanol menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 266 nm (pita II) dan 310 nm (pita I). Serapan pada panjang gelombang maksimum 308 nm memiliki transisi elektronik $n \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya gugus kromofor C=O dan panjang gelombang maksimum 254 nm memiliki transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya gugus kromofor C=C (Towiyah et al., 2018). Spektrum UV-Vis dari fraksi metanol akar kancil dibandingkan secara literatur dengan spektrum uv-vis senyawa flavonoid dan tanin. Spektrum kedua senyawa tersebut digunakan sebagai pembanding dikarenakan pada uji fitokimia memberikan hasil positif terhadap fraksi metanol. Senyawa flavonoid umumnya memiliki dua pita serapan yaitu pita I dan pita II, yang disebabkan karena adanya resonansi yang melibatkan cincin B dan C (pita I) dan cincin A (pita II) (Suryanto & Momouat, 2016). Panjang gelombang pita I antara 300-550 nm dan pita II antara 240-285 nm (Markham, 1988). Pada senyawa tanin berdasarkan penelitian Sa'adah (2010), senyawa tanin memiliki garis spektrum pada panjang gelombang 331 nm. Pada spektrum tanin, puncak serapan maksimum yang dimungkinkan adalah hasil dari transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Hal tersebut diperkuat oleh pernyataan (Sastrohamidjojo, 1991), yang menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum senyawa tanin terdapat satu pita yang mempunyai panjang gelombang 300-550 nm.

Spektrofotometri FT-IR



Gambar 9. Spektrum FT-IR Fraksi Metanol

Hasil interpretasi dari spektrum FT-IR fraksi metanol dapat diketahui adanya pita melebar pada daerah bilangan 3200-3600 cm^{-1} , yaitu pada puncak 3224 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus fungsi O-H alhokol ikatan hidrogen atau fenol. Puncak serapan pada 2949 cm^{-1} dan 2837 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus C-H alifatik. Puncak serapan pada daerah bilangan gelombang 1633 cm^{-1} merupakan petunjuk adanya gugus karbonil (C=O) yang berkonjugasi dengan C=C. Puncak pada panjang gelombang 1409 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H alifatik dan pada panjang gelombang 1024 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C-O alkohol.

Berdasarkan hasil interpretasi karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR diduga bahwa fraksi metanol akar kancil mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin. Dimana gugus fungsi khas senyawa flavonoid dan tanin terdapat pada fraksi metanol. Pada fraksi metanol terdapat gugus fungsi O-H, C-H alifatik dan C=O yang berasal dari senyawa flavonoid dan tanin. Serta adanya gugus C-O yang berasal dari senyawa flavonoid. Selain itu, hal ini diperkuat dengan hasil uji fitokimia fraksi metanol yang positif terhadap flavonoid. Oleh karena itu, diduga yang berperan sebagai antioksidan pada tanaman akar kancil adalah senyawa golongan flavonoid dan tanin.

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan Akar Kancil (*Smilax zeylanica* L.) adalah flavonoid dan tanin. Aktivitas antioksidan fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 22,97 ppm, 76,5 ppm dan 79,43 ppm sehingga termasuk antioksidan kuat. Hasil karakterisasi dari fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu fraksi metanol, diduga mengandung senyawa yang termasuk golongan flavonoid dan tanin.

DAFTAR RUJUKAN

- Algopeng, Z. (2018). *Buku Pengenalan Tumbuhan Obat Taman Nasional Bukit Duabelas Provinsi Jambi*. Balai Taman Nasional Bukit Duabelas.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Erlidawati, Safrida, & Mukhlis. (2018). *Potensi Antioksidan Sebagai Antioksidan*. Syiah Kuala University Press.
- Fitriani, W. D., Fatmawati, S., & Ersam, T. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi Dan Pembelajaran Sains 2015*.
- Harbone, J. B. (2006). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Press.
- Harnov, Amzu, E., & Soekmadi, R. (2016). Konservasi Hutan Belajar dari Nilai-nilai Etik dan Tradisi Bejernang Suku Anak Dalam Di Taman Nasional Bukit Duabelas Provinsi Jambi. *Risalah Kebijakan Pertanian Dan Lingkungan*, 3(1), 24–38.
- Hossain, M. A., Saha, S., Asadujjaman, M., & Khan, S. A. (2013). Analgesic, Antioxidant and Antibacterial Activity of *Smilax zeylanica* linn. (family-smilacaceae). *Pharmacology Online*, 1, 244–250.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka, S. N. (2015). Skrinning Fitokimis Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Indriati, G. (2014). Etnobotani Tumbuhan Obat yang Digunakan Suku Anak Dalam Di Desa Tabun Kecamatan VII Koto Kabupaten Tebo Jambi. *Jurnal Saintek*, 6(1), 52–56.
- Latief, M., Nazarudin, & Nelson. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Buah Prepat (*Sonneratia alba*) Asal Tanjung Jabung Timur Provinsi Jambi. *Prosiding SEMIRATA 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Barat*, 112–117.
- Lingga, L. (2012). *The Healing Power of Antioxidant*. PT Elex Media.
- Markham, K. R. (1988). *Techniques of Flavonoids Identification*. Academic Pr.
- Mishra, R., Juyal, D., & Shanmugham, S. K. (2021). Assessment of Antioxidant and Pancreatic Lipase Activity of *Smilax zeylanica* Root: An in vitro Analysis. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 11(2), 154–157.
- Pujiastuti, A., & Kristiani, M. (2019). Formulasi dan Uji Stabilitas Mekanik Hand and Body Lotion Sari Buah Tomat (*Licopersicon esculentum* Mill.). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(1), 42–55.
- Sa'adah, L. (2010). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi* L.)*. Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim Malang.
- Saravanakumar, S., Felicia, C., Sundarapandian, S. S., & Sathiyanyanamurthy. (2014). Phytochemical Screening of The Methanol Extract of Root Tuber *Smilax china*. *International Journal of Pharmateutical and Biological Science Archieve*, 2(7), 1–5.
- Sastrohamidjojo, H. (1991). *Kromatografi*. Liberty Yogyakarta.

- Suryanto, E., & Momouat, L. I. (2016). Aktivitas Singlet Oxygen Quenching Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Tongkol Jagung (*Zea mays*). *Chemistry Progress*, 9(2), 55–62.
- Talapessy, S., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ampas Hasil Pengolahan Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 40–44.
- Towiyah, A., Widiyantoro, & Destiarti, L. (2018). Karakterisasi Flavonoid dari Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Andong (*Cordyline fruticosa*) dan Aktivasinya Terhadap Plasmodium falciparum. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(3), 34–39.
- Tursiman, S., Ardiningsih, P., & Nofiani, R. (2012). Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis (*Gaecinia diocia* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), 45–48.
- Wherdasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.
- Widaryanto, E., & Azizah, N. (2018). *Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat*. UB Press.
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.