


## DPPH Free Radical Scavenging Activity of Lempuyang Wangi Leaves (*Zingiber aromaticum. Val*) Extracts and Fractions

Nisreen Cheleng<sup>1</sup>, Dedi Hanwar<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Surakarta

 [dedi.hanwar@ums.ac.id](mailto:dedi.hanwar@ums.ac.id)

### **Abstract**

*Zingiber aromaticum* has chemical compounds such as flavonoids, saponins and essential oils. This research aimed to know antioxidant activity and determine the total phenolic content in the leaves of *Zingiber aromaticum*. Extraction by maceration with ethanol and followed by fractionation of liquid-liquid separation method with ethanol solvent, n-hexane and ethyl acetate. The antioxidant activity of extracts and fractions determined by DPPH and total content of phenolic compounds determined by the Folin-Ciocalteu method. The results showed that the ethanol extract has IC<sub>50</sub> value of 276.75 ppm, n-hexane fraction of 255.24 ppm, ethyl acetate fraction of 224.89 ppm, ethanol fraction of 420.39 ppm, and vitamin E of 6.488 ppm. Total phenolic content of the ethanol extract of 55.876 GAE, n-hexane fraction of 20.552 GAE, ethyl acetate fraction of 94.309 GAE, and ethanol fraction of 35.559 GAE. The correlation between antioxidant activity and total phenolic content was 46.31 % in the antioxidant activity of phenolic compounds discordant.

**Keywords:** *Zingiber aromaticum. Val*, Antioxidants, Phenolic, DPPH

## Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH dari Ekstrak dan Fraksi Daun Lempuyang Wangi Leaves (*Zingiber aromaticum. Val*)

### **Abstrak**

*Zingiber aromaticum* mengandung flavonoid, saponin dan minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan serta menetapkan kadar fenolik total dalam daun lempuyang wangi. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan etanol dan dilanjutkan dengan fraksinasi metode pemisahan cair-cair dengan pelarut etanol, n-heksan dan etil asetat. Aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi ditetapkan dengan DPPH dan kandungan total senyawa fenolik ditetapkan dengan metode Folin-ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak etanol sebesar 276,75 ppm, fraksi n-heksan sebesar 255,24 ppm, fraksi etil asetat sebesar 224,89 ppm, fraksi etanol sebesar 420,39 ppm, dan vitamin E sebesar 6,488 ppm. Kandungan fenolik total untuk ekstrak etanol 55,876 GAE, fraksi n-heksan nilai rerata sebesar 20,552 GAE, fraksi etil asetat nilai rerata 94,309 GAE, dan fraksi etanol nilai rerata sebesar 35,559 GAE. Hubungan antara aktivitas antioksidan dan kadar fenolik totalnya adalah 46,31% aktivitas antioksidan disumbangkan oleh senyawa fenolik

**Kata kunci:** Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum. Val*), Antioksidan, Fenolik, DPPH

# 1. Pendahuluan

Lempuyang wangi merupakan tanaman yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat Jawa dan Sumatera. Rimpang tanaman ini sering digunakan untuk obat asma, mengurangi rasa nyeri, pembersih darah, menambah nafsu makan, pereda kejang, penyakit kuning, radang sendi, batuk rejan, kolera, anemia, malaria, penyakit syaraf, nyeri perut, mengatasi penyakit yang disebabkan cacing, dan masuk angin (Sudarsono dkk., 2002). Ekstrak air rimpang *Zingiber aromaticum* Val telah terbukti memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim CYP3A4 (Usia, 2005).

Pada penelitian sebelumnya sudah ditentukan bahwa daun lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* Sm.) mempunyai aktivitas antioksidan, dengan hasil yang didapat adalah fraksi semipolar ekstrak etanol 96% daun lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* Smith.) memiliki aktivitas antioksidan yang lemah karena lebih dari 200 µg/mL, dengan  $IC_{50} \pm SD$   $228,49 \pm 18,97$  µg/mL menggunakan spektrofotometer VIS dan  $255,35 \pm 7,30$  µg/mL dengan alat ELISA Reader (Wicaksono, 2013). Oleh karena lempuyang wangi dan lempuyang gajah mempunyai karakteristik yang hampir sama, beberapa kandungan kimia yang sama dan kedua tanaman ini termasuk dalam suku yang sama yaitu zingiberaceae. Sehingga pada penelitian ini diinginkan untuk menentukan aktivitas antioksidan pada daun lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.).

## 2. Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (UV Mini SHIMADZU), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), sonikasi, mikropipet.

Bahan penelitian ini adalah daun lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val), DPPH (*1,1-diohenyl-2-picrylhidrazil*), etanol *pro analysis* (p.a) (E.Merck), dan etanol 96%, heksana, etil asetat, aquades, Reagen *Folin-Ciocalteu*, asam galat, *aluminium foil*.

### Jalannya penelitian

#### 2.1. Pembuatan ekstrak

Daun lempuyang wangi yang sudah dikering dengan oven dihaluskan kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 271,58 gram sampel direndam dalam pelarut etanol 96 % ( 1 : 10) sambil diaduk dan didiamkan selama 3 hari. Maserat disaring dengan corong pisah dan diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* dan dikentalkan dengan *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental.

#### 2.2. Fraksinasi

Timbang 3 g ekstrak etanol daun lempuyang wangi kemudian diekstraksi 7 kali dengan menggunakan pelarut n-heksan @ 15 mL dan disonikasi selama 10 menit hingga diperoleh fraksi n-heksan. Ampas disari kembali dengan 5 kali menggunakan etil asetat hingga diperoleh fraksi etil asetat. Selanjutnya ampas disari kembali menggunakan etanol 96% dengan 3 kali hingga diperoleh fraksi etanol. Masing-masing fraksi dipisahkan menggunakan evaporator. Fraksinasi diulang sebanyak 3 kali.

### 2.3. Pembuatan Larutan Stok DPPH 0.4 mM

Ditimbang seksama DPPH 15,77 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda pada labu takar 100,00 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0,4 mM, labu takar dilapisi *aluminium foil* dan disimpan di almari es.

### 2.4. Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Diambil ekstrak dan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun lempuyang wangi dengan konsentrasi 80 µg/mL, 160 µg/mL, 240 µg/mL, 320 µg/mL, 400 µg/mL. Masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dalam etanol *pro analisis*. Volume dicukupkan sampai 5,0 mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap, selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 515,5 nm. Sebagai kontrol positif, dan untuk pembanding digunakan vitamin E (konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm). Nilai IC<sub>50</sub> dihitung masing-masing dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

### 2.5. Penetapan Kadar Fenolik Dalam Sampel

Kandungan fenolik total ekstrak lempuyang wangi dan fraksi-fraksinya ditentukan menggunakan metode Folin Ciocalteu. Sebanyak 0,1 mL dengan konsentrasi 100 µg/mL larutan ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 7,5 mL air suling dan 0,5 mL reagen Folin Ciocalteu. Setelah dicampur dalam Labu takar, diamkan pada suhu ruangan selama 5 menit yang kemudian ditambahkan 1,5 mL Na karbonat 7%. Jika sudah tercampur semua, diinkubasi selama 84 menit. Absorbansinya dibaca pada  $\lambda$  750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai mg ekivalen asamgalat/g ekstrak.

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Ekstraksi Daun Lempuyang wangi

Ekstraksi dibuat dengan metode penyarian remaserasi. Metode ini memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, mudah diusahakan dan merupakan metode ekstraksi yang cocok untuk bahan yang tidak tahan terhadap suhu tinggi, akan tetapi maserasi membutuhkan banyak pelarut dan waktu yang dibutuhkan relatif lama hingga berhari-hari (Ansel, 1989). Penyari yang digunakan pada proses penyarian adalah etanol 96%.

Untuk mendapatkan ekstrak kental, pemekatan dilakukan dengan *rotary evaporator*. Bobot ekstrak yang dihasilkan sebesar 33,11 gram sehingga didapatkan rendemen sebesar 12,19%.

### 3.2. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Lempuyang wangi

Fraksinasi merupakan tahap pemisahan lebih lanjut dalam rangkaian pemurnian senyawa setelah ekstraksi. Fraksinasi dilakan dengan metode sonikasi dan menggunakan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya sesuai dengan kemampuannya, dimulai dari tingkat kepolaran yang paling rendah sampai tingkat kepolaran yang tinggi dimulai dari non polar, semipolar, dan polar. Rendemen hasil fraksinasi dapat dilihat pada tabel 1.

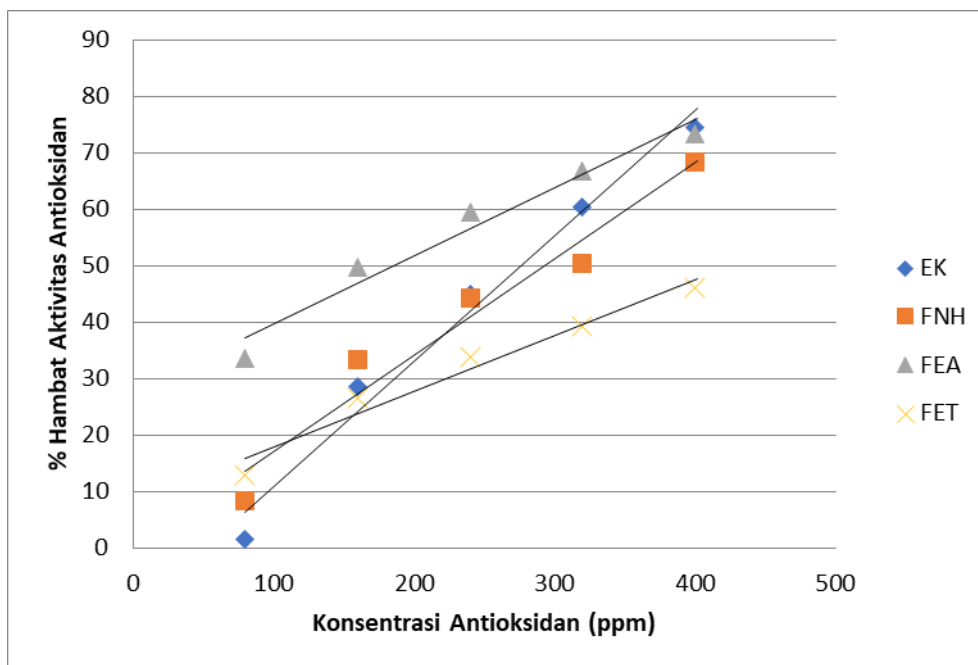
Masing-masing fraksi yang didapat dilakukan uji penangkap radikal dengan metode DPPH dan penentuan kandungan senyawa fenolik totalnya.

**Tabel 1.** Rendemen Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Lempuyang wangi

Sampel	Rendemen (%)
Fraksi n-heksan	19,03%
Fraksi etil asetat	1,43%
Fraksi etanol	34,77%

### 3.3. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Untuk perhitungan yang digunakan dalam aktivitas antioksidan adalah nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition concentration 50%*) karena nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) sebagai X dengan % aktivitas penangkap radikal rata-rata sebagai Y dari seri replikasi pengukuran. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol daun lempuyang wangi ditunjukkan pada gambar 1



**Gambar 1.** Aktivitas antioksidan nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak (EK) dengan nilai  $R^2 = 0,990$ , fraksi n-heksan (FNH) dengan nilai  $R^2 = 0,976$ , fraksi etil asetat (FEA) dengan nilai  $R^2 = 0,982$ , dan fraksi etanol (FET) dengan nilai  $R^2 = 0,981$ .

Berdasarkan grafik tersebut dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel ekstrak lempuyang wangi dan fraksi-fraksinya, semakin tinggi pula aktivitas

antiradikal terhadap DPPH. Menurut Reynertson (2007) senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat aktif apabila nilai  $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ , nilai  $IC_{50}$  antara 50-100  $\mu\text{g/mL}$  merupakan antioksidan aktif, antioksidan dengan aktivitas sedang nilai  $IC_{50}$  antara 100-200  $\mu\text{g/mL}$ , dan antioksidan tidak aktif apabila memberikan nilai  $IC_{50}$  diatas 200  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil dari penelitian ekstrak nilai persamaan regresi linier adalah  $y = 0,222X - 11,439$  dan fraksi n-heksan nilai persamaan regresi linier adalah  $y = 0,171X - 0,142$ , fraksi etil asetat nilai persamaan regresi linier adalah  $y = 0,121X + 27,511$  dan fraksi etanol nilai persamaan regresi linier adalah  $y = 0,098X + 7,986$  memiliki aktivitas yang rendah dan termasuk ke dalam kategori aktivitas tidak aktif menurut Reynertson (2007).

Hasil pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas pada ekstrak etanol daun lempuyang wangi dan fraksi-fraksinya dibandingkan dengan aktivitas penangkap radikal vitamin E diperoleh aktivitas penangkap radikal bebas berturut-turut dari  $IC_{50}$  yang paling kecil yaitu vitamin E (6,488  $\mu\text{g/mL}$ ), fraksi n-heksan (224,89  $\mu\text{g/mL}$ ), fraksi n-heksan (255,24  $\mu\text{g/mL}$ ), ekstrak (276,75  $\mu\text{g/mL}$ ), dan fraksi etanol (420,39  $\mu\text{g/mL}$ ). Vitamin E memiliki potensi aktivitas antioksidan yang sangat aktif ( $IC_{50} \leq 50\mu\text{g/mL}$ ) sedangkan ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol memiliki aktivitas antioksidan yang tidak aktif ( $IC_{50}$  diatas 200  $\mu\text{g/mL}$ ).

#### 3.4. Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total sampel daun lempuyang wangi menggunakan metode spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu (Chang *et al.*, 2001). Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik. Hal tersebut ditunjukkan dengan warna biru pada larutan uji (Salluca *et al.*, 2008). Kadar fenol total dalam sampel dinyatakan dalam milligram asam galat per gram sampel (*Galic Acid Equivalens/GAE*).

Penentuan *operating time* (OT) asam galat dilakukan pada panjang gelombang maksimal referen 750 nm (Chun *et al.*, 2003). Menunjukkan absorbansi yang stabil pada 84 menit. Penentuan panjang gelombang maksimal dimaksudkan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki absorbansi terbesar. Hasil percobaan menunjukkan serapan terbesar terjadi pada panjang gelombang 760,5 nm.

Kurva baku asam galat digunakan untuk menentukan kandungan fenol dari sampel. Kurva baku tersebut ditentukan dengan mengukur absorpsi asam galat pada berbagai seri konsentrasi dan didapatkan persamaan regresi linier antara konsentrasi asam galat (X) dan absorbansi (Y). Dari percobaan, didapatkan persamaan regresi  $Y = 0,098X + 0,058$  dengan R sebesar 0,994

Hasil percobaan menunjukkan bahwa pada sampel daun lempuyang wangi yang mengandung senyawa fenolik paling banyak adalah fraksi etil asetat. Hal ini menunjukkan bahwa sanyawa-senyawa fenolik banyak yang tersari pada fraksi etil asetat, yang menyebabkan senyawa fenolik bersifat semipolar sehingga larut dalam pelarut semipolar.

### 3.5. Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Fenolik Total

Menurut Toew *et al.*, (2007), karoten, flavonoid dan komponen fenolik lain merupakan senyawa antioksidan alami dalam tanaman dan buah-buahan. Maka perlu dilakukan kolerasi antara kadar fenolik dalam ekstrak dan fraksi-fraksinya dengan besarnya aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) menggunakan regresi linier.

**Tabel 2.** Hubungan kadar aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) dengan kadar fenolik total (GAE)

Sampel	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	GAE (mg/g sampel)	
Ekstrak etanol	276,75	55,876	A = 359,118
Fraksi n-heksan	255,24	20,552	B = - 1,256
Fraksi etil asetat	224,89	94,309	R <sup>2</sup> = 0,4631
Fraksi etanol	420,39	35,559	

Berdasarkan kolerasi antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) menggunakan regresi linier didapatkan R<sup>2</sup>= 0,4631 yang dapat diartikan yaitu 46,31% aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstrak daun lempuyang wangni dan fraksi-fraksinya disumbangkan oleh senyawa fenolik dan 53,69 disumbangkan oleh senyawa lain.

## 4. Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) memiliki  $IC_{50}$  untuk ekstrak 276,75  $\mu\text{g/mL}$ , fraksi n-heksan 255,24  $\mu\text{g/mL}$ , fraksi etil asetat 224,89  $\mu\text{g/mL}$ , dan fraksi etanol 420,39  $\mu\text{g/mL}$  serta vitamin E sebagai kontrol memiliki  $IC_{50}$  sebesar 6,488  $\mu\text{g/mL}$ .
2. Kandungan fenolik pada daun lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) untuk ekstrak nilai rerata sebesar 55,876 mg/g, fraksi n-heksan nilai rerata sebesar 20,552 mg/g, fraksi etil asetat nilai rerata 94,309 mg/g, dan fraksi etanol air nilai rerata sebesar 35,559 mg/g.
3. Hubungan antara antioksidan dengan kadar fenolik total terdapat 46,31% aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstrak daun lempuyang wangni dan fraksi-fraksinya disumbangkan oleh senyawa fenolik dan 53,69 disumbangkan oleh senyawa lainendatang.

## Referensi

- Ansel, H.C., 1989, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar & Iis Aisyiah, Edisi IV, 607-608
- Chang, S.T., Wu, J.H., Wang, S.Y., Kang, P.L., Yang, N.S., and Shyur, L.F., 2001, Antioxidant Activity of Extracts from Acacia confuse Bark and Heartwood, *J.Agric.Food.Chem*, 49, 3420-3424
- Chun, K.O., Kim Dae-ok., and Lee, Y.C., 2003, Superoxide Radikal Scavenging Activity of the Major Polyphenol in Fresh Plums, *Journal Agric. Food Chem*, Departement of Food Science and Tecnology, Cornell University, Geneva, New York
- Reynertson, K., A., 2007, A dissertation, The City University of New York, 1-123

- Sudarsono, Gunawan, D. & Wahyuono, S., 2002, Tumbuhan Obat II Hasil Penelitian, Sifat- sifat dan Penggunaan, 186, Yogyakarta, Pusat Studi Obat Tradisional UGM
- Teow, C., Truong, V., McFeeters, R., Thompson, Pecota, K.V., Yencho, Craig, 2007, Antioxidant activities, phenolic and b-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours, Food chemistry, 103, 829-838
- Usia, T., Watabe, T., Kadota, S. & Tezuka, Y., 2005, Mechanism-Based Inhibition of CYP3A4 by Constituen of Zingiber aromaticum, Biologi Pharmacy Bull, 28 (3), 495-499
- Wicaksono, A.N., 2013, Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Semipolar Ekstrak Daun Lempuyang Gajah (Zingiber Zerumbet Smith.) Dengan Metode Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Menggunakan Elisa Reader Dan Spektrofotometer Uv- Vis, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

---