

PERBANDINGAN DAYA ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KAYU SECANG PUTIH DAN MERAH (*Caesalpinia sappan* L.) TERHADAP DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl*)

Afradilla N. Taufik
afril0102@gmail.com

Abstract – Antioxidant is a compound that able to slow oxidation pace or prevent the forming of free radical. There are many antioxidant product sold in the market with a relatively high price, while there are many component of nature antioxidant in plant. One of the plant with antioxidant is Sappan Heartwood (*Caesalpinia sappan* L.) of Caesalpiniaceae. This research test the antioxidant of red and white *Caesalpinia sappan* L. qualitative and quantitatively using DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl*) method. Result of qualitative can be seen from the fading of the purple color from DPPH solution. The quantitative test were done using Spectrophotometry UV-Vis using DPPH method. Absorbance was found at wavelength 520,4 nm on the 10th minute for both Sappan Heartwood. The EC₅₀ of white Sappan Heartwood is 292,88 bpj and the EC₅₀ of red Sappan Heartwood is 16,54 bpj. Statistical test using t-test ($\alpha = 0,05$) show that there are significant difference of red and white Sappan Heartwood. Result indicate that red *Caesalpinia sappan* L. have better antioxidant.

Keyword : Antioxidant, DPPH, Red Sappan Heartwood, W hite Sappan Heartwood, *Caesalpinia sappan* L.

Abstrak - Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat laju oksidasi, atau mencegah reaksi kimia pembentukan radikal bebas. Banyak terdapat produk-produk antioksidan yang dijual dipasaran dengan harga yang relatif mahal, padahal komponen antioksidan di alam terdapat secara melimpah pada tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang memiliki daya antioksidan adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dari suku Caesalpiniaceae. Telah dilakukan uji daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang putih dan merah secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl*). Pengujian daya antioksidan secara kualitatif ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu dari larutan DPPH. Untuk pengujian secara kuantitatif dengan spektrofotometri sinar tampak menggunakan metode DPPH. Absorbansi diamati pada panjang gelombang 520,4 nm pada menit ke-10 untuk kedua macam ekstrak kayu secang. Nilai EC₅₀ ekstrak etanol kayu secang putih adalah 292,88 bpj dan nilai EC₅₀ ekstrak etanol kayu secang merah adalah 16,54 bpj. Perhitungan statistik menggunakan t-test ($\alpha = 0,05$) menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara nilai EC₅₀ ekstrak etanol kayu secang putih dan merah. Berdasar perbedaan

tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kayu secang merah mempunyai daya antioksidan yang lebih baik.

Kata kunci : Antioksidan, DPPH, kayu secang putih, kayu secang merah *Caesalpinia sappan L.*

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat laju oksidasi, atau mencegah reaksi kimia pembentukan radikal bebas. Antioksidan berdasar pada sumber perolehannya dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu antioksidan yang dibuat oleh tubuh sendiri, antioksidan alami, dan antioksidan sintetik (Kumalaningsih, 2007). Banyak terdapat produk-produk antioksidan yang dijual dipasaran dengan harga yang relatif mahal, padahal komponen antioksidan di alam terdapat secara melimpah pada tumbuhan, baik dalam sayur-sayuran maupun buah-buahan (Winarsih, 2007). Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari. (Kumalaningsih, 2007).

Salah satu tumbuhan yang memiliki daya antioksidan adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) dari suku Caesalpinaceae. Pada penelitian terhadap daya antioksidan ekstrak kayu secang secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak sederhana dari kayu secang memiliki daya antioksidan (Wetwitayaklung *et al*, 2005). Selain itu pada ekstrak kayu secang juga menunjukkan efek perlindungan terhadap kerusakan DNA akibat induksi dari radikal hidroksi. Karena memiliki aktivitas antioksidan yang kuat secara *in vitro* dan dapat melindungi efek pada kerusakan DNA yang di induksi oleh radikal hidroksi maka kayu secang berpotensi untuk digunakan sebagai penelitian chemopreventif (Chalermpong S, 2010).

Hasil isolasi yang dilakukan terhadap ekstrak kayu secang menunjukkan bahwa komponen utama yang terkandung di dalamnya adalah brazilin. Brazilin termasuk ke dalam golongan flavonoid sebagai isoflavonoid yang diduga merupakan senyawa dari kayu secang yang memiliki daya sebagai antioksidan

(Zanin *et al*, 2012). Brazilin merupakan kristal kuning yang memberikan warna kuning pada kayu secang. Akan tetapi jika teroksidasi akan menghasilkan senyawa brazilein yang akan memberikan warna merah kecoklatan pada kayu secang (Holinesti, 2009). Akibat dari senyawa Brazilin yang teroksidasi menjadi Brazilein ini menyebabkan adanya dua macam warna kayu secang, yaitu putih dan merah kecoklatan. Dipasaran, kayu secang yang banyak digunakan adalah yang berwarna merah, sementara keberadaan kayu secang putih di masyarakat masih jarang dan pengujian yang membandingkan daya antioksidan kayu secang putih dan merah di Indonesia pun masih belum dilakukan.

Pada penelitian ini ingin diketahui perbandingan daya antioksidan kayu secang putih dan merah (*Caesalpinia sappan* L.) dengan metode ekstraksi maserasi dengan pengadukan menggunakan pelarut etanol 80%. Pengujian daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang putih dan merah menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylidrazil*). DPPH merupakan suatu senyawa radikal bebas yang relatif stabil. Senyawa ini cocok digunakan sebagai pereaksi untuk pengujian pada senyawa yang mempunyai efek sebagai peredam radikal bebas (senyawa antioksidan). Dan sebagai parameter digunakan nilai EC₅₀.

METODE PENELITIAN

BAHAN PENELITIAN

Bahan Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang dari kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yang berwarna putih dan berwarna merah. Kayu secang putih diperoleh dari daerah Sedayu, Gresik. Untuk kayu secang merah diperoleh dari salah satu pasar tradisional di wilayah Surabaya utara pada bulan Maret 2013. Determinasi tanaman kayu secang merah dilakukan oleh Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT).

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah : etanol 96% (Merck), DPPH p.a (Sigma) dan Aquadem.

ALAT

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain : Blender, timbangan gram, timbangan analitik, seperangkat alat modifikasi maserasi, *Rotary evaporator*, Spektrofotometer Sinar Tampak (Shimadzu), *Moisture Content Balance*, cawan porselin, eksikator, aluminium foil, kertas saring, mesh 30 dan alat-alat gelas laboratorium.

METODE KERJA

Penyiapan bahan penelitian

Batang kayu secang yang berwarna putih dan merah yang akan diteliti dan telah diidentifikasi di keringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa pengaruh sinar matahari. Jika bahan sudah kering, bahan tersebut ditetapkan kadar lembabnya menggunakan alat *Moisture Content Balance*.

Penentuan Kandungan Lembab (*Moisture Content*)

Penentuan kandungan lembab menggunakan *moisture content balance*. Kemudian dihitung % Kandungan lembab (MC) simplisia kayu secang putih dan merah.

$$\% \text{ MC} = \frac{\text{bobot basah} - \text{bobot kering}}{\text{bobot kering}} \times 100\%$$

Untuk masing-masing sampel dilakukan tiga kali penimbangan (Dep Kes RI, 1995).

Pembuatan ekstrak Etanol Kayu Secang Putih dan Ekstrak Etanol Kayu Secang merah

87 gram serbuk kayu secang putih dan 175 gram serbuk kayu secang merah ditambahkan etanol 80% sampai terendam, kemudian diaduk selama 1 jam, didiamkan ± 24 jam kemudian disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Pada ampas dilakukan kembali pengadukan selama 1 jam dengan pelarut etanol 80% dan didiamkan kembali selama ± 24 jam (maserasi dilakukan 3 kali). Setelah filtrat keseluruhan terkumpul dari 3 kali ekstraksi pada masing-masing batang

kayu secang putih dan kayu secang merah, kemudian masing-masing filtrat dipisahkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ dan selanjutnya diuapkan diatas *waterbath* sampai didapatkan bobot konstan.

Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang Kristal DPPH seberat 4,0mg kemudian dilarutkan dalam etanol 80% sampai 100,0ml, sehingga didapatkan konsentrasi larutan DPPH 0,004% (40 bpj). Larutan ini segera digunakan, dijaga pada temperatur rendah dan terlindung dari cahaya.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih dan Merah

Untuk ekstrak etanol kayu secang putih ditimbang 51mg kemudian dilarutkan dalam etanol 80% sampai 50,0ml sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 1020 bpj. Dari larutan induk ekstrak etanol kayu secang putih tersebut dibuat pengenceran kembali sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 150, 250, 350, 450, dan 550 bpj.

Untuk ekstrak etanol kayu secang merah ditimbang 10mg kemudian dilarutkan dalam etanol 80% sampai 25,0ml sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 400 bpj. Dari larutan induk ekstrak etanol kayu secang merah tersebut dibuat pengenceran kembali sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 bpj.

Pengujian kualitatif Peredam Radikal Bebas DPPH

Larutan DPPH 40 bpj sebanyak 3,0ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1,5ml larutan uji ekstrak kayu secang putih dan kayu secang merah pada tiap konsentrasi pengenceran. Jika hasilnya positif, warna larutan akan berubah dari ungu menjadi ungu pucat dan semakin memudar sampai menjadi tidak berwarna.

Pengujian Kuantitatif Peredaman Radikal Bebas DPPH Dengan Spektrofotometri Sinar Tampak

Larutan uji sebanyak 1,5ml ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,0ml, didiamkan selama waktu reaksi terpilih, lalu diamati pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan sebanyak 4 kali pengamatan (4 replikasi). Untuk pembandingan digunakan larutan etanol 80% sebanyak 1,5ml ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,0ml.

Analisis Data

Perhitungan kapasitas peredam radikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu dari DPPH dengan perhitungan :

$$\% \text{ peredaman} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi Larutan Uji}}{\text{Absorbansi Larutan Pembanding}} \right) \times 100\%$$

Nilai 0% menunjukkan bahwa larutan sampel uji tidak mempunyai aktivitas peredam radikal bebas. Dan nilai 100% menunjukkan bahwa larutan sampel uji mempunyai aktivitas peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran bahan uji untuk melihat batas konsentrasinya.

Dari nilai % peredaman berbagai konsentrasi, dibuat kurva konsentrasi vs % peredaman, lalu dihitung regresinya dan untuk selanjutnya ditentukan nilai EC_{50} (*Effective Concentration 50*, konsentrasi bahan uji yang meredam 50% jumlah radikal bebas) (Joyeux *et al*, 1995).

Untuk mengetahui adanya korelasi antara konsentrasi sampel uji (x) dengan % peredaman (y) dilakukan regresi dan perhitungan r hitung yang kemudian dibandingkan dengan r tabel. Jika r hitung lebih besar dari r tabel pada $\alpha = 0,05$ maka berarti ada korelasi yang bermakna antara konsentrasi sampel uji dengan % peredaman (Hadi, 2007).

Analisis Statistik T-test

Cara pengolahan data yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode statistika T-test dalam penelitian ini, akan dibandingkan nilai EC_{50} ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah. Bila hasil t hitung lebih besar daripada t tabel pada $\alpha = 0,05$ maka terdapat perbedaan

bermakna antara daya antioksidan dari ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah (Scheffler, 1979)

HASIL PENELITIAN

Hasil Penentuan Kandungan Lembab

Hasil penentuan kandungan lembab simplisia kayu secang putih dan merah dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1 Hasil Penentuan Kandungan Lembab Serbuk Simplisia Kayu Secang Putih dan Merah Menggunakan *Moisture Content Balance*

Simplisia	Replikasi	Bobot Simplisia Awal (g)	Bobot Simplisia Kering (g)	Kadar Air (%)	Kadar Air Rata-rata (%) \pm SD
Kayu Secang putih	1	1,012	0,916	9,486	9,453 \pm 0,141
	2	1,011	0,917	9,298	
	3	1,013	0,916	9,575	
Kayu Secang Merah	1	1,255	1,140	9,163	8,966 \pm 0,171
	2	1,049	0,956	8,865	
	3	1,026	0,935	8,869	

Ekstraksi kayu secang putih dan Merah dengan pelarut etanol

Hasil ekstraksi serbuk simplisia kayu secang putih dan kayu secang merah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil Ekstraksi Serbuk Simplisia Kayu Secang Putih dan Merah Menggunakan Pelarut Etanol 80%

BAHAN	BERAT SIMPLISIA (g)	BERAT EKSTRAK (g)
Kayu Secang Putih	87,1525	1,8697
Kayu Secang Merah	175,8145	17,0877

Pengujian Daya Antioksidan Dengan Metode DPPH Secara Kualitatif

Hasil pengamatan daya antioksidan dengan metode DPPH dari ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah secara kualitatif (reaksi warna) dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1 Hasil Pengujian Daya Antioksidan dengan Metode DPPH secara Kualitatif (reaksi warna) Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih

Keterangan (dilihat dari kiri ke kanan) :

1. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + etanol 80% 1,5 ml : ungu tua
2. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 50 bpj : ungu
3. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 150 bpj : ungu muda
4. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 250 bpj : ungu muda
5. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 350 bpj : ungu kekuningan
6. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 450 bpj : kuning muda



Gambar 2 Hasil Pengujian Daya Antioksidan dengan Metode DPPH secara Kualitatif (reaksi warna) Ekstrak Etanol Kayu Secang Merah

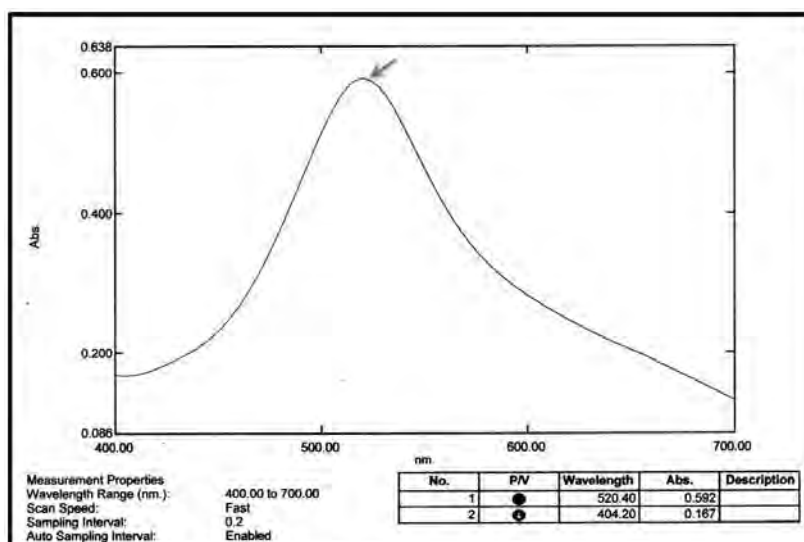
Keterangan (dilihat dari kiri ke kanan) :

1. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + etanol 80% 1,5 ml : ungu tua
2. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 5 bpj : ungu
3. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 10 bpj : ungu muda

4. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 15 bpj : ungu kekuningan
5. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 20 bpj : kuning muda
6. 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan sampel 25 bpj : kuning

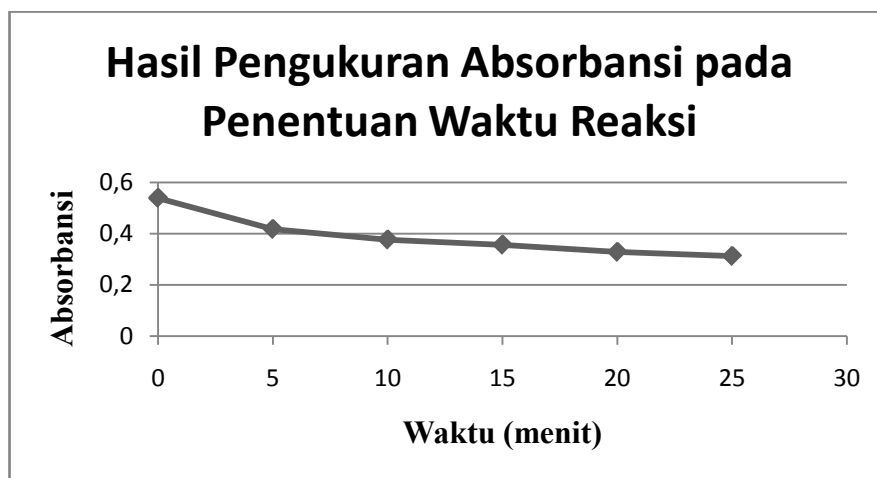
Pengujian Daya Antioksidan Dengan Metode DPPH Secara Kuantitatif

Panjang gelombang maksimum dari DPPH yang dilarutkan dalam etanol 80% didapat pada pengukuran 400-700 nm adalah 520,4 nm (Gambar 3). Untuk penentuan waktu reaksi dari pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas selanjutnya digunakan panjang gelombang 520,4 nm.



Gambar 3 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH yang Dilarutkan Dalam Etanol

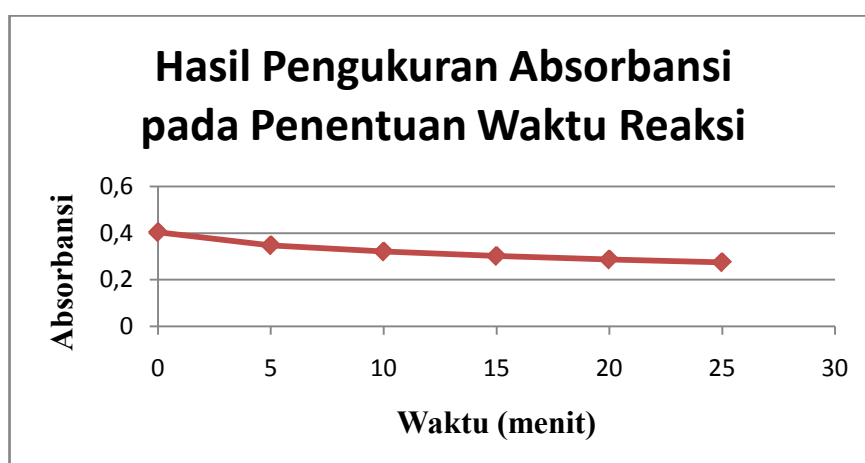
Waktu pengamatan pengujian aktivitas peredam radikal bebas DPPH dari ekstrak etanol kayu secang putih dan merah menunjukkan bahwa dengan peningkatan waktu pengamatan, absorbansi larutan DPPH semakin menurun (Gambar 4 dan Gambar 5). Hasil penentuan waktu reaksi ini didapatkan bahwa absorbansi dari menit ke 10 hingga menit ke 30 mengalami penurunan yang relatif kecil (Tabel 3 dan Tabel 4), sehingga untuk pengamatan berikutnya dilakukan pengamatan absorbansi pada menit ke 10.



Gambar 4 Kurva Hasil Pengukuran Absorbansi Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih 350 bpj Pada Penentuan Waktu Reaksi

Tabel 3 Penurunan Absorbansi Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih 350 bpj Pada Penentuan Waktu Reaksi

Waktu Pengamatan	Δ Absorbansi
0 menit – 5 menit	0,121
5 menit – 10 menit	0,041
10 menit – 15 menit	0,028
15 menit – 20 menit	0,020
20 menit – 25 menit	0,016
25 menit – 30 menit	0,014



Gambar 5 Kurva Hasil Pengukuran Absorbansi Ekstrak Etanol Kayu Secang Merah 20 bpj Pada Penentuan Waktu Reaksi

Tabel 4 Penurunan Absorbansi Ekstrak Etanol Kayu Secang Merah 20 bpj Pada Penentuan Waktu Reaksi

Waktu Pengamatan	Δ Absorbansi
0 menit – 5 menit	0,056
5 menit – 10 menit	0,027
10 menit – 15 menit	0,019
15 menit – 20 menit	0,015
20 menit – 25 menit	0,012
25 menit – 30 menit	0,010

Hasil pengamatan absorbansi dan perhitungan % peredaman radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol kayu secang putih dan merah dapat dilihat pada Tabel 5 untuk kayu secang putih dan Tabel 6 untuk kayu secang merah.

Tabel 5 Hasil Pengamatan Absorbansi dan Perhitungan % Peredaman Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Bobot Ekstrak (mg)	Kadar (bpj)	A Larutan Uji	A Pembanding	% Peredaman (%)
I	51,5	154,50	0,536	0,787	31,893
		257,50	0,421		46,506
		360,50	0,334		57,560
		463,50	0,254		67,725
		566,50	0,193		75,476
II	51,7	155,10	0,520	0,817	36,352
		258,50	0,395		51,652
		361,90	0,336		58,874
		465,30	0,246		69,890
		568,70	0,186		77,234
III	51,8	155,40	0,516	0,790	34,683
		259,00	0,412		47,848
		362,60	0,312		60,506
		466,20	0,234		70,380
		569,80	0,185		76,582
IV	51,7	155,10	0,531	0,781	32,010
		258,50	0,420		46,223
		361,90	0,343		56,082
		465,30	0,257		67,093
		568,70	0,196		74,904

Tabel 6 Hasil Pengamatan Absorbansi dan Perhitungan % Peredaman Ekstrak Etanol Kayu Secang Merah Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Bobot Ekstrak (mg)	Kadar (bpj)	A Larutan Uji	A Pembanding	% Peredaman (%)
I	10,1	5,05	0,638	0,807	20,942
		10,10	0,535		33,705
		15,15	0,437		45,849
		20,20	0,294		63,569
		25,25	0,175		78,315
II	10,2	5,10	0,678	0,828	18,116
		10,20	0,567		31,522
		20,40	0,376		54,589
		25,50	0,259		68,720
		30,60	0,188		77,295
III	10,2	5,10	0,652	0,793	17,780
		10,20	0,542		31,652
		15,30	0,415		47,667
		20,40	0,295		62,799
		25,50	0,196		75,284
IV	10,2	5,10	0,653	0,791	17,446
		10,20	0,529		33,123
		15,30	0,396		49,937
		20,40	0,287		63,717
		25,50	0,173		78,129

Penentuan Persamaan Regresi dan Koefisien Korelasi (r_{hitung}) Konsentrasi vs % Peredaman Radikal bebas DPPH, Nilai EC_{50} Ekstrak Etanol Kayu Secang Terhadap DPPH

Hasil perhitungan persamaan regresi dan nilai EC_{50} untuk tiap replikasi ekstrak etanol kayu secang putih dan merah dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8

Tabel 7 Hasil Penentuan Persamaan Regresi Konsentrasi vs % Peredaman dan nilai EC_{50} Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih Terhadap DPPH

Replikasi	Persamaan Regresi	r hitung	r tabel	EC_{50} (bpj)	Ekstrak (mg)	Bahan (mg)
I	$y = 0,1052x + 17,8972$	0,9934	0,950	305,0776	15,2539	711,0304
II	$y = 0,0967x + 23,7997$	0,9912		270,9057	13,5453	631,3876
III	$y = 0,1026x + 20,7843$	0,9908		284,6560	14,2328	663,4348
IV	$y = 0,1032x + 17,9321$	0,9951		310,8834	15,5442	724,5618
Rata – rata (\bar{x})				292,88	14,64	682,60
SD				18,4699	0,9235	43,0468
KV (%)				6,3063	6,3063	6,3063

Tabel 8 Hasil Penentuan Persamaan Regresi Konsentrasi vs % Peredaman dan nilai EC₅₀ Ekstrak Etanol Kayu Secang Merah Terhadap DPPH

Replikasi	Persamaan Regresi	r hitung	r tabel	EC ₅₀ (bpj)	Ekstrak (mg)	Bahan (mg)
I	$y = 2,8636x + 5,093$	0,9975	0,950	15,6822	0,3920	4,0338
II	$y = 2,3485x + 6,929$	0,9985		18,3393	0,4585	4,7173
III	$y = 2,8658x + 3,1899$	0,9992		16,3341	0,4083	4,2015
IV	$y = 2,9796x + 2,8824$	0,9993		15,8133	0,3953	4,0675
Rata - rata				16,54	0,41	4,25
SD				1,2307	0,0308	0,3166
KV (%)				7,4397	7,4476	7,4401

Analisis Perhitungan t-test

Nilai EC₅₀ yang didapat dari uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah diolah menggunakan analisis statistik t-test dengan $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui ada atau tidak hubungan yang bermakna antara EC₅₀ ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah yang dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9 Hasil Perhitungan t-test EC₅₀ Antara Ekstrak Etanol Kayu Secang Putih dan Kayu Secang Merah

Ekstrak Etanol	Replikasi	Nilai EC ₅₀	EC ₅₀ rata-rata	t tabel	t hitung
Kayu Secang Putih	1	305,0776	292,88	2,447	29,857
	2	270,9057			
	3	284,6560			
	4	310,8834			
Kayu Secang Merah	1	15,6822	16,54	2,447	29,857
	2	18,3393			
	3	16,3341			
	4	15,8133			

PEMBAHASAN

Uji kualitatif daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang merah maupun putih dilakukan dengan reaksi warna menggunakan DPPH yang diamati secara visual (Gambar 1 dan Gambar 2) menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol kayu secang yang ditambahkan kedalam larutan DPPH maka warna larutan DPPH semakin memudar. Pemudaran warna pada larutan DPPH ini terjadi

karena warna ungu larutan DPPH yang merupakan radikal bebas DPPHidrazyl mempunyai 1 atom N radikal yang tidak berpasangan. Atom N ini akan bereaksi dengan suatu senyawa yang mempunyai daya peredam radikal bebas sehingga terjadi pengikatan elektron yang tidak berpasangan membentuk DPPHidrazyn yang berwarna putih stabil (nonradikal) (Molyneux, 2004).

Hasil uji kuantitatif daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang diperoleh nilai % peredaman radikal bebas dari masing-masing ekstrak etanol kayu secang (Tabel 5 dan Tabel 6). Setelah diperoleh nilai % peredaman, kemudian dibuat persamaan regresi linier antara konsentrasi ekstrak uji vs % peredaman radikal bebas DPPH dan diperoleh nilai r_{hitung} . Dari data pada Tabel 7 dan 8 dapat dilihat bahwa ekstrak etanol kayu secang putih maupun kayu secang merah memiliki r_{hitung} yang lebih besar daripada r_{tabel} . Hal ini menunjukkan adanya korelasi bermakna antara konsentrasi ekstrak uji dengan % peredaman radikal bebas DPPH.

Hasil pengujian secara kuantitatif diperoleh nilai EC_{50} untuk ekstrak etanol kayu secang putih dengan nilai rata-rata 292,88 bpj yang setara dengan 14,64 mg ekstrak dan 682,60 mg bahan simplisia kayu secang putih. Sementara nilai EC_{50} untuk ekstrak etanol kayu secang merah mempunyai nilai rata-rata 16,54 bpj yang setara dengan 0,41 mg ekstrak dan 4,25 mg bahan simplisia kayu secang merah (Tabel 7 dan Tabel 8). Setelah diperoleh nilai EC_{50} dari kedua ekstrak uji kemudian hasil tersebut dianalisis dengan menggunakan t-test antara EC_{50} ekstrak etanol kayu secang putih dan EC_{50} ekstrak etanol kayu secang merah. Dari analisis perhitungan t-test EC_{50} diatas, diperoleh t hitung (29,857) > t tabel (2,447) (Tabel 9), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara daya antioksidan (EC_{50}) ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah (*Caesalpinia sappan* L.).

Nilai EC_{50} ekstrak etanol kayu secang putih lebih besar dibandingkan dengan nilai EC_{50} ekstrak etanol kayu secang merah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu secang merah dengan konsentrasi lebih rendah sudah mampu meredam 50% radikal bebas larutan DPPH dibanding dengan ekstrak etanol kayu secang putih yang membutuhkan konsentrasi lebih tinggi untuk meredam 50%

radikal bebas larutan DPPH. Hasil uji kualitatif maupun kuantitatif aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol kayu secang merah mempunyai daya antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol kayu secang putih. Penulis menduga adanya perbedaan daya antioksidan antara ekstrak etanol kayu secang merah dan putih ini dapat disebabkan karena pada kayu secang merah lebih banyak mengandung senyawa antioksidan seperti, brazilein, protosappanin A, protosappanin B (Jun HU *et al*, 2008) bila dibandingkan dengan kayu secang putih, sehingga kayu secang merah mempunyai daya antioksidan yang lebih baik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap DPPH dapat disimpulkan antara lain:

1. Terdapat perbedaan daya antioksidan antara ekstrak etanol kayu secang putih dan kayu secang merah (*Caesalpinia sappan* L.).
2. Daya antioksidan ekstrak etanol kayu secang putih memiliki nilai EC_{50} (292,88 bpj) yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai EC_{50} (16,54 bpj) ekstrak etanol kayu secang merah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu secang merah mempunyai daya antioksidan yang lebih baik.

SARAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dan untuk melengkapi penelitian ini, maka disarankan:

1. Dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari masing-masing senyawa aktif yang terkandung dalam kayu secang putih dan merah (*Caesalpinia sappan* L.)
2. Dilakukan penelitian mengenai perbandingan daya antioksidan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan metode peredam radikal bebas ABTS dan ORAC.

DAFTAR PUSTAKA

- Kumalaningsih S, 2006, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas*, Trubus agrisarana, Surabaya, 3-14.
- Winarsih Hery, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya dalam kesehatan*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 15-16, 19-20, 78-81.
- Wetwitayaklung P, Phaechamud T, Keokitichai S, 2005, The Antioxidant Activity of *Caesalpinia sappan* L. Heartwood in Various Ages. *Naresuan University Journal*. **13** (2): 43–52.
- Chalermpong S *et al*, 2010, Antioxidant activity and protective effects on DNA damage of *Caesalpinia sappan* L. extract. *J. Medicinal Plants Research* **4**(15): 1594-1600.
- Zanin Joao L. Baldim *et al*, 2012, The Genus *Caesalpinia* L. (*Caesalpinia*): Phytochemical and Pharmacological Characteristics. *Molecules* **17**: 7887-7902. (online). www.mdpi.com/journal/molecules.
- Holinesti R, 2009, Studi Pemanfaatan Pigmen Brazilein Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Sebagai Pewarna alami Serta Stabilitasnya Pada Model Pangan, *Jurnal Pendidikan dan Keluarga UNP I(2)*, IPB Bogor, ISSN 2085-4285, 11-21, (online), (<http://repository.ipb.ac.id/> diakses tgl 22-02-2013).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Medicinal Herb Indexin Indonesia Jilid II*, PT. Eisai Indonesia, Jakarta.
- Joyeux M *et al*, 1995, Comparative Antilipoperoxidant, Antinecrotic and Scavenging Properties of Terpenes and Biflavones from Ginkgo and Some Flavonoids. *Planta Medica*. **61**: 126-129.
- Hadi Setiawan, 2000, *Analisis Regresi jilid I*, cetakan ke-7, Penerbit Andi, Yogyakarta, 70.
- Scheffler, William C, 1979, *Statistika untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran, dan Ilmu yang bertautan*, Edisi ke-2, Terjemahan oleh Suroso, 1997, ITB, Bandung, 174.
- Molyneux P, 2004, The Use of The Stable Free Radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakar J. Sci. Technol.* **26** (2): 211-219, (online), (www.thaiscience.info. Diakses tgl 12-12-2012).
- Jun HU *et al*, 2008, Antioxidant Activity In Vitro of Three Constituents from *Caesalpinia sappan* L. *Tsinghua science and technology* **13**(4) :474-479.