

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 80% DAN 96% DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Mega Arista
Fakultas Farmasi
arista_mega@yahoo.com

Abstrak-Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel tubuh sehingga menimbulkan berbagai penyakit. Radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan. Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% atau 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Ekstraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dilakukan dengan cara maserasi kinetik menggunakan pelarut etanol 80% atau 96%. Pada pengujian secara kualitatif (reaksi warna) teramati adanya pemudaran warna ungu dari larutan DPPH pada kedua jenis ekstrak etanol. Pada pengujian secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis diamati absorbansinya pada λ 516,5 nm selama waktu reaksi terpilih yaitu 30 menit untuk ekstrak etanol 80% dan 20 menit untuk ekstrak etanol 96%. Dari hasil perhitungan ekstrak etanol 80% memiliki nilai EC_{50} 813,09 bpj dan untuk ekstrak 96% sebesar 1024,27 bpj. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kedua nilai EC_{50} tersebut berbeda bermakna dan pelarut ekstraksi yang lebih baik adalah etanol 80%.

Kata kunci : antioksidan, daun katuk, (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), DPPH.

Abstract-Radicals can cause damage to body cells, causing various diseases. Free radicals can be inhibited by antioxidants. Katuk leaves (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) are known to have antioxidant activity. Research of Antioxidant Activity from ethanol 80% or 96% katuk leaves (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) extract conducted a qualitative and quantitative. Extraction katuk leaves (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) done by kinetic maceration using 80% ethanol or 96%. In a qualitative test (color reaction) observed a purple discoloration of DPPH solution in both types of ethanol extract. In a quantitative test using DPPH method with UV-Vis spectrophotometry observed absorbance at λ 516.5 nm was selected for the reaction time is 30 minutes to extract 80% ethanol and 20 minutes to extract 96% ethanol. From the calculation of 80% ethanol extracts had EC_{50} value of 813.09 ppm and to extract 96% of 1024.27 ppm. The results of statistical analysis showed that the two EC_{50} values are significantly different and better extraction solvent is 80% ethanol.

Keywords: antioxidants, katuk leaves , (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), DPPH

PENDAHULUAN

Secara alamiah, setiap makhluk hidup atau organisme akan mengalami proses penuaan. Proses penuaan merupakan bagian dari siklus hidup yang normal

bila datangnya tepat waktu. Sayangnya, terkadang terjadi proses penuaan dini yang terlalu cepat.

Kemajuan Ilmu Pengetahuan kemudian menemukan bahwa banyak sekali faktor penyebab terjadinya proses penuaan secara dini yaitu antara lain karena faktor genetik, gaya hidup, lingkungan, mutasi gen, rusaknya sistem kekebalan dan pengaruh radikal bebas. Dari semua faktor penyebab tersebut, teori radikal bebas merupakan teori yang paling sering diungkapkan (**Kosasih et al., 2006**).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang sifatnya tidak stabil. Radikal bebas mempunyai 1 elektron atau lebih yang tanpa pasangan sehingga untuk menjadi stabil cenderung mengambil elektron dari molekul lain yang kemudian menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai aksi berantai yang dapat merusak jaringan. Reaksi berantai akan berhenti bila radikal bebas itu diredam (**Yuslinda et al., 2012**).

Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh antara lain berasal dari asap rokok, polusi udara termasuk timbal dari pembakaran mesin mobil, bahan kimia pencemar lingkungan, pertisida, obat-obatan, serta makanan olahan yang banyak mengandung pengawet (**Limawati, 2009**). Radikal bebas tidak selalu berasal dari luar tubuh tetapi juga dapat berasal dari proses alami tubuh, seperti metabolisme sel normal, proses peradangan, dan kekurangan nutrisi (**Winarsi, 2007**).

Untuk melindungi diri dari radikal bebas, tubuh menghasilkan senyawa anti radikal bebas atau disebut juga antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dalam jumlah kecil dibanding substrat mampu menunda atau mencegah terjadinya oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi. Antioksidan memberikan elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa antioksidan yang memiliki berat molekul kecil ini, mempunyai kemampuan melepas atom hidrogen dan menurunkan reaktivitas radikal (**Winarsi, 2007**). Antioksidan secara alami sudah dihasilkan dalam tubuh, namun jumlahnya terbatas untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri. Oleh karena itu, diperlukan adanya asupan antioksidan yang berasal dari luar tubuh.

Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun alami. Saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan seperti BHT (*Butylated*

Hydroxy Toluene) dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik. Oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru (**Zuhra et al., 2008**).

Buah dan sayur umumnya mengandung nutrisi dan senyawa fitokimia yang mampu berperan sebagai antioksidan. Antioksidan yang banyak terdapat dalam buah dan sayur antara lain vitamin C, vitamin E, karotenoid, dan senyawa fenolik, khususnya flavonoid. Antioksidan yang terdapat dalam buah dan sayur dapat digunakan untuk melawan stres oksidatif, untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan mencegah penyakit kronis seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan diabetes (**Benjapak et al., 2008**).

Dalam beberapa penelitian telah diketahui bahwa daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) mengandung senyawa flavonoid yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan. Daun katuk memiliki banyak kegunaan seperti mengobati bisul, demam dan darah kotor. Manfaat lain yang telah dikenal luas oleh masyarakat adalah sebagai pelancar ASI/laktogogum (**Azis dan Muktaningsih, 2006**). Dalam *Journal of Medical Plant Research* Volume 5 tahun 2011 dikatakan bahwa IC_{50} dari ekstrak metanol 100% daun katuk adalah $86,74 \pm 2,92 \mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun katuk memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 bpj, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100bpj, sedang jika bernilai 100-150 bpj, dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200 bpj (**Zuhra et al., 2008**).

Macam pelarut dan tingkat kepolaran pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi proporsi senyawa-senyawa kandungan yang tersari, yang mungkin akan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak yang didapat.

Pada penelitian ini, akan dilakukan penelitian aktivitas antioksidan ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yang diekstraksi dengan etanol 80% dan 96%. Pelarut yang digunakan adalah etanol karena etanol adalah pelarut yang aman dan tidak toksik (**Markham, 1988**). Dalam penelitian ini digunakan serbuk daun katuk kering. Pengeringan ini bertujuan untuk mendapat simplisia yang tidak

mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama (**DepKes RI, 1985**).

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun katuk menggunakan metode DPPH karena DPPH merupakan suatu radikal bebas yang stabil selama bertahun-tahun jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik (**Molyneux, 2004**). Pada penelitian ini ingin diketahui komposisi etanol-air yang lebih baik antara etanol 80% dan etanol 96% dalam ekstraksi kandungan antioksidan dari daun katuk.

Pada penelitian ini ingin diketahui apakah ekstrak etanol daun katuk memiliki aktivitas antioksidan dan komposisi etanol-air yang lebih baik antara etanol 80% dan etanol 96% dalam ekstraksi kandungan antioksidan dari daun katuk.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yang diperoleh dari desa Siwalan Kecamatan Sugiwaras, Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) segar yang akan diteliti ditimbang dan dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tanpa terkena sinar matahari langsung). Daun katuk yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk, ditimbang kemudian diayak dengan menggunakan mesh 30 hingga diperoleh serbuk halus.

Penentuan Kandungan Lembab (*Moisture Content*)

Penentuan *moisture content* menggunakan *moisture content balance*. Bahan diletakkan dalam wadah *moisture content balance* yang sebelumnya telah ditara, dan dilihat bobot awal bahan. Lalu bahan dikeringkan pada suhu 105°C pada *moisture content balance* sampai diperoleh bobot sampel yang konstan, kemudian dilihat bobot akhir bahan. Penentuan dilakukan sebanyak 3 kali dengan cara yang sama. Perbedaan antar penimbangan tidak lebih dari 0,25%

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

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Katuk

100 gram serbuk daun katuk yang telah dikeringkan dan dihaluskan dengan derajat kehalusan tertentu dimaserasi kinetik selama 1 jam dengan menggunakan pelarut etanol 96% atau 80% sebanyak 800 ml, didiamkan semalam kemudian disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Pada ampas dilakukan maserasi kinetik ulang (maserasi kinetik ulang dilakukan 3 kali). Dari filtrat yang didapat dikumpulkan dan campuran ekstrak tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diuapkan diatas *waterbath* $\pm 60^{\circ}\text{C}$ sampai didapatkan bobot konstan. Kemudian hasilnya ditimbang pada cawan yang telah ditara dan disimpan dalam eksikator.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 40 bpj sebanyak 3,0 ml, ditambah aquadem sebanyak 1,5 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, diamati absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm. Sebagai blanko digunakan 3 ml etanol 80% + 1,5 ml aquadem. Dibuat kurva absorbansi vs panjang gelombang. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi yang diperoleh adalah panjang gelombang maksimum.

Penetapan Waktu Reaksi

Larutan DPPH 40 bpj (4 mg serbuk dilarutkan dalam 100 ml metanol) sebanyak 3,0 ml ditambah larutan uji dengan konsentrasi tertentu sebanyak 1,5 ml. Absorbansi diamati pada panjang gelombang terpilih dengan interval waktu yang berbeda-beda (5, 10, 15, 20, 25, 30 menit). Sebagai pembandingan digunakan larutan DPPH 40 bpj sebanyak 3,0 ml ditambah larutan metanol sebanyak 1,5 ml.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji Kualitatif (reaksi warna)

Sebanyak 21 mg ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu ukur 25 ml dengan metanol lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (larutan induk 840 bpj). Larutan DPPH 40 bpj sebanyak 3,0 ml ditambahkan larutan uji sebanyak 1,5 ml untuk tiap konsentrasi (dibuat 5 konsentrasi). Jika hasilnya positif, warna larutan akan berubah dari ungu menjadi ungu pucat dan semakin memudar sampai menjadi tidak berwarna.

Uji Kuantitatif

Larutan DPPH 40 bpj sebanyak 3,0 ml ditambahkan larutan uji sebanyak 1,5 ml untuk tiap konsentrasi (dibuat 5 konsentrasi dari larutan induk). Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 516,5 nm, pada waktu reaksi terpilih. Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya peningkatan konsentrasi sampel.

Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan ekstrak tersebut dihitung sebagai % peredaman dengan rumus sebagai berikut:

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (bpj) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman sebagai ordinatnya (sumbu Y) sehingga didapatkan nilai EC_{50} .

Analisis Data

Dari nilai % peredaman pada berbagai konsentrasi, selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (bpj) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai EC_{50} didapat dari perhitungan pada saat % peredaman sebesar 50%. $Y = aX + b$.

Berdasarkan data perhitungan % peredaman dapat diketahui adanya korelasi antara sampel uji (X) dengan % peredaman (Y) dan dapat dihitung koefisien korelasi r ($\alpha = 0,05$). Jika hasil perhitungan r menunjukkan hasil yang lebih besar dari r tabel pada $\alpha = 0,05$ berarti ada korelasi bermakna antara konsentrasi larutan sampel uji dengan % peredaman (**Hadi, 2000**).

Analisis Statistik *T-test*

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara daya antioksidan dari ekstrak etanol daun katuk yang didapat dari hasil ekstraksi dengan pelarut etanol 80% dibanding pelarut etanol 96%, maka dilakukan analisa statistik menggunakan metode *T-test* terhadap nilai EC_{50} yang didapat. Bila hasil t hitung lebih besar daripada t -tabel pada $\alpha = 0,05$ maka terdapat perbedaan yang bermakna antara daya antioksidan dari ekstrak etanol 80% daun katuk dibanding dengan ekstrak etanol 96% daun katuk (**Schfler, 1979**).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Kandungan Lembab

Hasil penentuan kandungan lembab serbuk daun katuk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penentuan *Moisture Content* Daun Katuk Menggunakan *Moisture Content Balance*

Replikasi	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Kadar Lembab (%)	Kadar Lembab Rata-rata (%)
I	0,536	0,494	8,5	8,62 ± 0,2650
II	0,553	0,510	8,43	
III	0,537	0,493	8,92	

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Katuk

Cara maserasi kinetik dilakukan dengan cara merendam simplisia dengan etanol kemudian diaduk secara terus menerus dan didiamkan semalam. Dengan pengadukan tersebut, cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, maka larutan yang lebih pekat akan didesak keluar sehingga serbuk dapat terekstraksi sempurna. Setelah hasil ekstraksi dipisahkan, pada ampas dilakukan pengulangan maserasi kinetik sebanyak tiga kali untuk memperoleh ekstrak yang cukup banyak.

Ekstrak etanol yang telah diperoleh kemudian dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan *Rotary Evaporator* yaitu dengan menurunkan tekanan dibawah atmosfer 76 mmHg, sehingga etanol dapat menguap pada suhu jauh dibawah titik didihnya, dengan harapan kandungan senyawa yang ada pada ekstrak tidak rusak

Hasil ekstraksi daun katuk menggunakan etanol 80% dapat dilihat pada tabel 2 dan ekstraksi dengan etanol 96% pada tabel 3.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Daun Katuk Dengan Menggunakan Etanol 80%

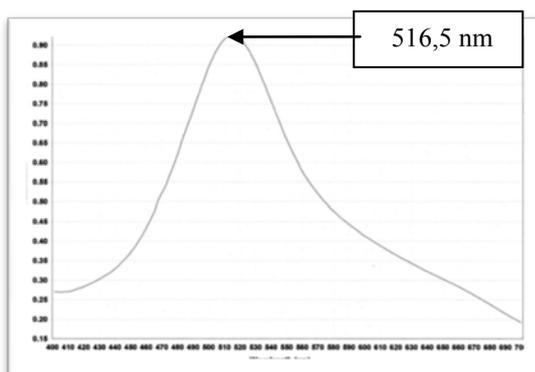
BAHAN	BERAT BAHAN (gram)	BERAT EKSTRAK (gram)
Serbuk Daun Katuk	101,0274	8,3345
	100,1915	8,3422
	100,5104	8,300

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Daun Katuk Dengan Menggunakan Etanol 96%

BAHAN	BERAT BAHAN (gram)	BERAT EKSTRAK (gram)
Serbuk Daun Katuk	101,1938	9,7312
	102,475	9,6640
	101,3571	9,6650

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

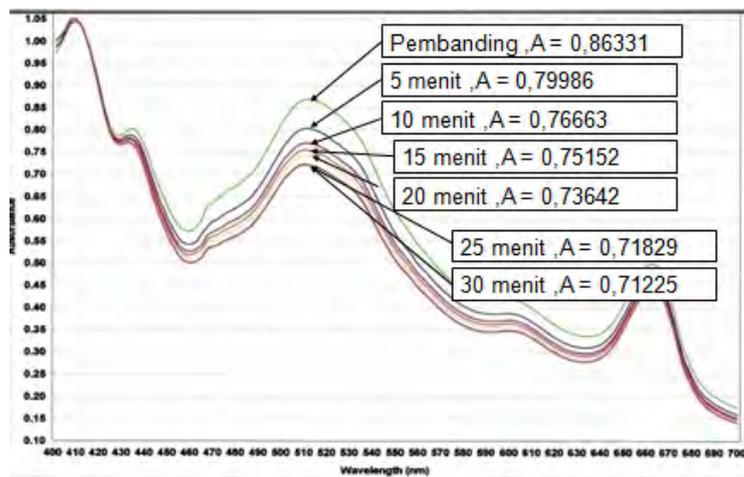
Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dari DPPH yang dilarutkan dalam metanol pada pengukuran antara 400-800 nm adalah 516,5nm (Gambar 3). Selanjutnya untuk penentuan waktu reaksi dan pengukuran peredaman radikal bebas dilakukan pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 516,5 nm.



Gambar 3. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum D PPH Yang Dilarutkan Dalam Metanol

Penetapan Waktu Reaksi

Hasil penentuan waktu reaksi yang digunakan untuk pengamatan uji daya peredam radikal bebas larutan uji ekstrak etanol 80% dapat dilihat pada gambar 4 dan tabel 4.

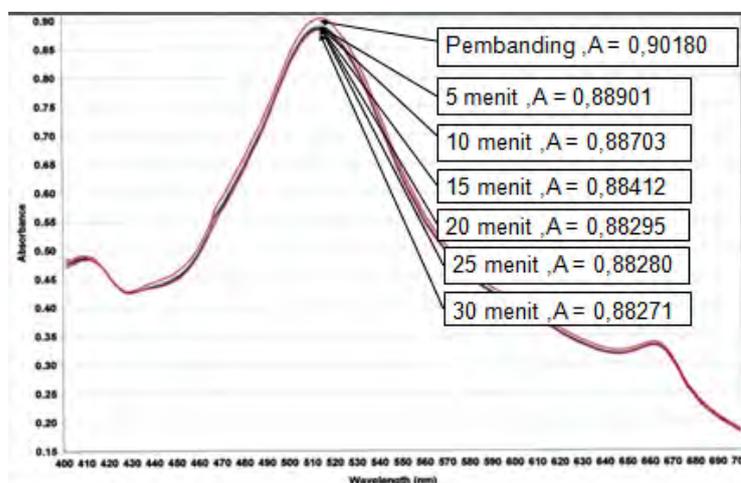


Gambar 4. Spektra Hasil Penentuan Waktu Reaksi Ekstrak Etanol 80% Daun Katuk Terhadap Larutan DPPH

Tabel 4. Penurunan Absorbansi DPPH Terhadap Waktu

No	Menit	Penurunan Absorbansi
1	0-5	0,06345
2	5-10	0,03323
3	10-15	0,01511
4	15-20	0,0151
5	20-25	0,01813
6	25-30	0,01

Hasil penentuan waktu reaksi untuk pengamatan uji daya peredam radikal bebas larutan uji ekstrak etanol 80% didapat bahwa penurunan absorbansi terkecil pada menit 25-30, oleh karena itu untuk pengamatan selanjutnya dilakukan pengamatan waktu reaksi 30 m enit (tabel 4) dan untuk ekstrak etanol 96% penurunan absorbansi terkecil pada menit 20-25, oleh karena itu untuk pengamatan selanjutnya dilakukan pengamatan waktu reaksi 20 menit (tabel 5).



Gambar 5. Spektra Hasil Penentuan Waktu Reaksi Ekstrak Etanol 96% daun katuk Terhadap Larutan DPPH

Tabel 5. Penurunan Absorbansi DPPH Terhadap Waktu

No	Waktu Pengamatan	Penurunan Absorbansi
1	0-5	0,01192
2	5-10	0,0029
3	10-15	0,0029
4	15-20	0,0012
5	20-25	0,0001
6	25-30	0,0001

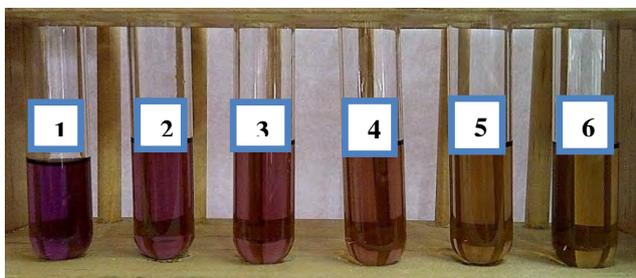
Uji Aktivitas Antioksidan

Uji Kualitatif (reaksi warna)

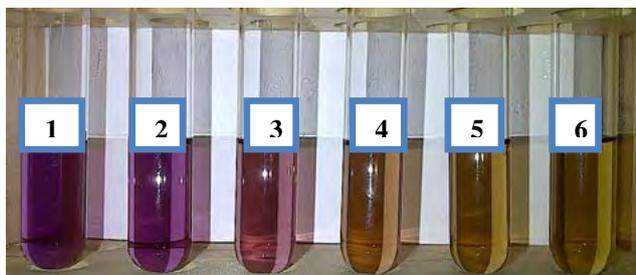
Hasil pengamatan daya antioksidan dengan metode DPPH dari ekstrak etanol daun katuk secara kualitatif (reaksi warna) dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Dari reaksi warna ini dapat dilihat bahwa warna larutan pada tabung 2, 3, 4, 5, 6 baik ekstrak etanol 80% maupun ekstrak etanol 96% warna ungu makin pudar dibandingkan dengan tabung 1 yang merupakan pembanding. Hal ini membuktikan bahwa secara kualitatif ekstrak etanol daun katuk mempunyai daya peredaman radikal bebas terhadap DPPH.

Hal ini disebabkan karena radikal bebas DPPHidrazyl mempunyai 1 atom N yang elektronnya tidak berpasangan. Atom N tersebut akan bereaksi dengan suatu senyawa yang mempunyai daya untuk meredam radikal bebas maka akan terjadi pengikatan elektron yang tidak berpasangan membentuk DPPHidrazyn yang stabil (Molyneux, 2004).



Gambar 1. Hasil Pengujian Daya Antioksidan Dengan Metode DPPH Secara Kualitatif (reaksi warna) Ekstrak Etanol 80% Daun Katuk



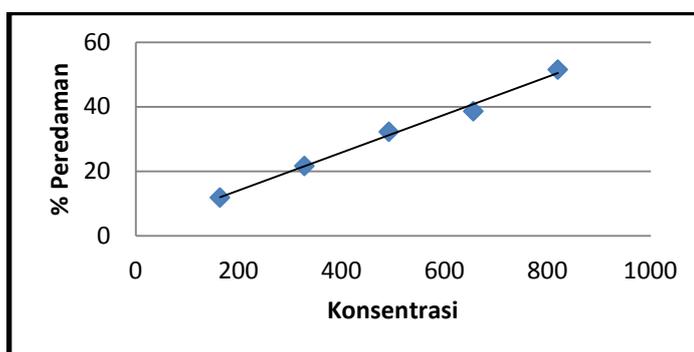
Gambar 2. Hasil Pengujian Daya Antioksidan Dengan Metode DPPH Secara Kualitatif (reaksi warna) Ekstrak Etanol 96% Daun Katuk

Uji Kuantitatif

Hasil pengamatan absorbansi dan perhitungan % peredaman radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol daun katuk dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Tabel 6. Hasil Pengamatan Absorbansi dan Perhitungan % Peredaman Ekstrak Etanol 80% Daun Katuk Terhadap Larutan DPPH

Ekstrak Etanol 80%		Bobot Ekstrak (mg)	Kadar (bpj)	A _{larutan uji}	A _{pembanding}	% Peredaman
I	1	20,9	167,2	0,90648	0,98904	8,35
			334,4	0,85304		13,75
			501,6	0,71215		28
			668,81	0,53725		45,68
			836	0,49838		49,61
	2	20,5	164	0,72819	0,82635	11,88
			328	0,64724		21,67
			492	0,55981		32,26
			656	0,50712		38,63
			820	0,40055		51,53
II	1	21	84	0,88462	0,91870	3,71
			252	0,81762		11
			420	0,70157		23,63
			672	0,54257		40,94
			840	0,44015		52,09
	2	20	160	0,83516	0,91794	9,02
			320	0,79688		13,19
			480	0,69058		24,77
			640	0,59041		41,03
			800	0,47511		48,24
III	1	20,4	163,2	0,9189	0,97269	5,86
			326,4	0,83364		14,3
			489,6	0,75312		22,57
			652,8	0,55892		42,54
			816	0,4784		50,82
	2	20,3	162,4	0,73212	0,82662	11,43
			324,8	0,64934		21,45
			487,2	0,5628		31,92
			649,6	0,49507		40,11
			812	0,41982		49,21



Gambar 6. Kurva Konsentrasi vs % Peredaman Ekstrak Etanol 80% Daun Katuk Terhadap Larutan DPPH

Tabel 7. Hasil Pengamatan Absorbansi dan Perhitungan % Peredaman Ekstrak Etanol 96% Daun Katuk Terhadap Larutan DPPH

Ekstrak Etanol 96%		Bobot Ekstrak (mg)	Kadar (bpj)	A _{larutan uji}	A _{pembanding}	% Peredaman
I	1	21	168	0,86683	0,9494	8,7
			336	0,77727		18,13
			504	0,7055		25,69
			672	0,61683		35,03
			840	0,56978		39,99
	2	21	168	0,86594	0,94978	8,83
			336	0,77511		18,39
			504	0,70524		25,75
			672	0,61441		35,31
			840	0,56901		40,09
II	1	21	168	0,88462	0,9815	9,87
			336	0,73245		25,37
			672	0,65054		33,72
			756	0,63347		35,46
			840	0,54132		44,85
	2	20,9	167,2	0,83197	0,96615	13,89
			334,4	0,77767		19,51
			501,6	0,70052		27,49
			668,8	0,60175		37,72
			836	0,55475		41,14
III	1	20,5	164	0,9127	0,98864	7,68
			328	0,83197		15,85
			492	0,76738		22,38
			656	0,66512		32,72
			820	0,60592		38,71
	2	20,4	163,2	0,73856	0,81200	9,04
			326,4	0,68072		16,17
			489,6	0,60953		24,93
			652,8	0,54279		33,15
			816	0,49838		38,62

Analisis Data

Hasil perhitungan persamaan regresi dan nilai EC₅₀ untuk tiap replikasi untuk ekstrak etanol 80% dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Konsentrasi vs % Peredaman dan Nilai EC₅₀ Ekstrak Etanol 80% Daun Katuk Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Ekstrak (mg)	Persamaan Regresi	r _{hitung}	EC ₅₀ (bpj)	r _{tabel}	n	α
I.1	20,9	y = 0,0685x - 5,2570	0,9803	807,3	0,917	6	0,01
I.2	20,5	y = 0,0587x + 2,316	0,9962	812,4			
II.1	21	y = 0,0658x - 3,5561	0,9977	814,38			
II.2	20	y = 0,0664x - 4,634	0,9840	822,49			
III.1	20,4	y = 0,0724x - 8,23	0,9755	804,26			
III.2	20,3	y = 0,0580x + 2,558	0,9990	817,72			
Rata-rata	20,52			813,09			

Hasil perhitungan persamaan regresi dan nilai EC₅₀ untuk tiap replikasi untuk ekstrak etanol 96% dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Perhitungan Persamaan Regresi Konsentrasi vs % Peredaman dan Nilai EC₅₀ Ekstrak Etanol 96% Daun Katuk Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Ekstrak (mg)	Persamaan Regresi	r _{hitung}	EC ₅₀ (bpj)	r _{tabel}	n	α
I.1	21	y = 0,0471x + 1,664	0,9955	1021,7	0,917	6	0,01
I.2	21	y = 0,0473x + 1,842	0,9950	1018,4			
II.1	21	y = 0,0437x + 5,6021	0,9606	1033,69			
II.2	20,9	y = 0,0435x + 6,137	0,9908	1034,65			
III.1	20,5	y = 0,0481x - 0,211	0,9973	1043,28			
III.2	20,4	y = 0,0467 + 1,540	0,9974	1038,65			
Rata-rata	20,8			1024,27			

Dari data di atas, dapat dilihat r_{hitung} ekstrak etanol daun katuk pada keenam replikasi baik ekstrak etanol 80% maupun ekstrak etanol 96% lebih besar daripada r_{tabel}. Hal ini menunjukkan korelasi bermakna antara konsentrasi ekstrak etanol daun katuk dengan % peredaman radikal bebas DPPH.

Analisis Perhitungan t-test

Nilai EC₅₀ yang didapat dari uji aktivitas antioksidan ekstrak daun katuk dengan menggunakan etanol 80% atau 96% diolah menggunakan analisis statistik t-test dengan α = 0,05 untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna antara EC₅₀ ekstrak etanol 80% dengan ekstrak etanol 96% yang dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Perhitungan t-test EC₅₀ Antara Ekstrak Etanol 80% dan Ekstrak Etanol 96%

Ekstrak Etanol	Replikasi	EC ₅₀	EC ₅₀ rata-rata	
80%	I.1	807,3	813,09	a
	I.2	812,4		
	II.1	814,38		
	II.2	822,49		
	III.1	804,26		
	III.2	817,72		
96%	I.1	1021,7	1024,27	b
	I.2	1018,45		
	II.1	1014,94		
	II.2	1008,65		
	III.1	1043,28		
	III.2	1038,65		

Dari analisis EC₅₀ diatas, diperoleh t_{hitung} (33,93) > t_{tabel} (2,228), maka disimpulkan terdapat perbedaan bermakna antara EC₅₀ ekstrak etanol 80%

dan ekstrak etanol 96% daun katuk (tabel 4.10, dinyatakan dengan huruf yang berbeda).

Ekstrak etanol 80% daun katuk memberikan nilai EC_{50} yang lebih rendah dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% lebih baik sebagai peredam radikal bebas dibandingkan ekstrak etanol 96% daun katuk yang mana menunjukkan bahwa ada kemungkinan senyawa yang berperan sebagai antioksidan lebih bersifat polar sehingga lebih banyak terekstrak pada pelarut etanol 80%.

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun katuk memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang ditunjukkan dengan nilai EC_{50} yang kecil. Tetapi dalam penelitian ini didapatkan nilai EC_{50} yang besar. Kandungan kimia tumbuhan dapat bervariasi, tergantung dari berbagai faktor, misalnya : faktor genetik, iklim, kesuburan tanah (**Schulz *et al.*, 1998**). Selain itu perbedaan masa panen, pestisida atau herbisida yang digunakan dapat berpengaruh terhadap variasi kandungan antioksidan, nutrisi dan kandungan flavonoid dalam tanaman (**Andarwulan *et al.*, 2010**).

Syarat analisa nilai EC_{50} adalah data % peredaman tersebar di atas dan dibawah 50% tetapi data penelitian yang didapat hampir semua tersebar dibawah 50%, maka dalam penelitian ini nilai EC_{50} didapat dengan melakukan ekstrapolasi data.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian daya peredam radikal bebas dari ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol 80% dan ekstrak etanol 96% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) memiliki aktivitas antioksidan.
2. Efek antioksidan ekstrak etanol 80% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) lebih besar dibandingkan ekstrak etanol 96%.

SARAN

Untuk melengkapi hasil penelitian ini, maka disarankan untuk:

1. Dilakukan penelusuran senyawa aktif daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yang memiliki aktivitas peredaman radikal bebas.

2. Dilakukan penelitian perbandingan aktivitas antioksidan daun katuk segar dan daun katuk kering.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut kedua macam ekstrak pada waktu reaksi yang sama (30 menit).

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan Nuri, Ratna Batari, Diny Agustini, *et al*, 2010, Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia, *Food Chemistry*, 1231-1235.
- Benjapak, N, Prasan Swasitang, Sayan Tanpanich, 2008, Determination of Antioxidant Capacity and Nutritive Values of Pak-Wanban (*Sauropus androgynus* L. Merr.), *KKU Sci. J.* **36**(4) 279-289.
- Departemen Kesehatan RI, 1985, *Cara Pembuatan Simplicia*, Jakarta, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1-22.
- Hadi, Setiawan, 2000, *Analisis Regresi Jilid I*, cetakan ke-7, Penerbit Andi, Yogyakarta, 70.
- Kosasih, E.N., Tony S. dan Hendro H, 2006, *Peran Antioksidan pada Lanjut Usia*. Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia, Jakarta.
- Limawati, Stephanie, 2009, *Perbandingan Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun dan Umbi Ketela Rambat (Ipomoea batatas (L.)L.) Ungu dari Pacet-Mojokerto*, Skripsi tidak dipublikasikan, Surabaya, Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- Markham KR, 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (Terjemahan), Penerbit ITB, Bandung.
- Molyneux P, 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn*, Vol.26 No.2, 211-219.
- Scheffler, William C, 1979, *Statistika untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran, dan Ilmu yang Bertautan*, Edisi ke-2, Terjemahan oleh Suroso, 1997, ITB, Bandung, 174.
- Schulz V, Hanzel R, Tyler VE, *Rational Phytotherapy 3rd ed*, Berlin-Heidelberg-New York, 1998, 6.
- Winarsi Hery, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 18.

Yuslinda, Elka *et al.* 2012. Penentuan Aktivitas Antioksidan Dari Beberapa Ekstrak Sayur-sayuran Segar dan Dikukus Dengan Metode DPPH. *Scientia* Vol.2 No. 1.hal 1.

Zuhra,C.F., Juliati Br. dan Herlince S, 2008, A ktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 7-10.