

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI SENYAWA HASIL ISOLASI
DARI EKSTRAK METANOL TANAMAN *Euphorbia hirta***

**ANTIOXIDANT ACTIVITY AND IDENTIFICATION OF ISOLATED COMPOUNDS
FROM METHANOL EXTRACT OF PLANT *Euphorbia hirta***

Eli Masruroh. dan Tukiran*

Departement of Chemistry, Faculty Mathematics and Natural Sciences
State University of Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya, (60231), tlp 031-8298761

*Corresponding author, e-mail: masrurohelly@gmail.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa pada isolat daun tanaman *Euphorbia hirta*. Uji aktivitas antioksidan pada isolat menggunakan metode DPPH dan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC_{50} 30,02 ppm untuk isolat dan 18,33 ppm untuk vitamin C. Hal ini menunjukkan isolat dan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Melalui analisis UV-Vis, IR dan GC-MS menunjukkan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan adalah senyawa methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate.

Kata kunci: *Euphorbia hirta*, antioksidan, isolat

Abstract. The aim of the research is to determine antioxidant activity and to identify compounds of isolates from methanol plant *Euphorbia hirta* leaf. Test for showed antioxidant activity of isolates from methanol using DPPH method and vitamin C as a positive control. The test results showed antioxidant activity with IC_{50} value of 30.02 ppm for isolates and 18,33 ppm for vitamin C. It means that isolates and vitamin C have antioxidant activity with a very strong for ($IC_{50} < 50$ ppm). Through UV-Vis, IR, and GC-MS analysis showed the compound has antioxidant activity is methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate.

Keyword: *Euphorbia hirta*, antioxidant, isolates

PENDAHULUAN

Radikal merupakan suatu senyawa atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dapat terjadi melalui metabolisme sel, sinar UV, asap rokok, polusi, makanan, minuman, dan pestisida. Apabila jumlah radikal bebas yang terus bertambah sedangkan antioksidan endogen jumlahnya tetap, maka ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan akan memicu kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif, penyakit jantung koroner, dan penyakit jantung. Oleh karena diperlukan antioksidan eksogen yang berperan untuk menangkal radikal bebas [1].

Antioksidan merupakan zat yang dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan yaitu dengan memberikan satu elektronnya pada

senyawa yang bersifat radikal sehingga radikal bebas tersebut menjadi non radikal [2]. Berdasarkan sumbernya antioksidan digolongkan menjadi antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik yang sering digunakan antara lain BHT (*Butylated HydroxyToluena*), BHA (*Butylated Hydroxyanisole*), dan etoksiquin [3]. Antioksidan sintetik bersifat karsinogenik dan dapat menimbulkan kerusakan sel [4]. Hal ini menyebabkan antioksidan yang bersumber dari alam menjadi alternatif dan sangat dibutuhkan.

Euphorbia hirta merupakan jenis tanaman obat tradisional yang tersebar luas di Indonesia [5]. Tanaman ini dapat bersifat sebagai antiseptik, antiinflamasi, antifungi, dan antibakteri itu tidak terlepas dari komponen kimia yang ada di dalamnya. Kandungan

senyawa pada *Euphorbia hirta* antara lain quercitrin, myricitrin, β -sitosterol, gallic acid, ellagic acid, α -Amerin, β -amyrin [6].

Dengan manfaat dan kandungan senyawa kimia pada tanaman *Euphorbia hirta*, maka perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan pada isolat dari ekstrak metanol dan identifikasi senyawa yang terkandung di dalamnya. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat: blender, oven, evaporator, vial, labu ukur, spatula, kertas saring, alat KKG, *silica gel* 60 (*silica gel* 60, 0,063–0,200 mm dan 0,200–0,500 mm atau 70–230 mesh ASTM), penyaring Buchner, pipet tetes, penangas listrik, spektrofotometer UV-Vis, IR, dan GC-MS. Bahan: serbuk daun *Euphorbia hirta*, *n*-heksana, kloroform p.a, metanol p.a, metanol teknis, DPPH, vitamin C, HgCl_2 , KI, silika gel, plat KLT, I_2 , $\text{Bi}(\text{NO}_3)_2$, HNO_3 pekat, H_2SO_4 pekat, FeCl_3 , HCl pekat, HCl 2N, pita Mg, asam asetat anhidrat, NaCl 10%, gelatin 1%, amonia dan aquades.

Prosedur Penelitian

a. Persiapan sampel

Daun tanaman *Euphorbia hirta* dibersihkan dari kotoran yang menempel selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering dan selanjutnya digiling sampai halus.

b. Tahap ekstraksi

Sebanyak 1 kilogram sampel yang sudah dihaluskan dimaserasi secara bertingkat dengan pelarut *n*-heksana, kloroform, dan metanol. Selanjutnya disaring, filtrat yang didapat selanjutnya diupkan dengan menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang digunakan pada penelitian adalah ekstrak metanol.

c. Uji fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dalam tanaman *Euphorbia hirta*. Uji yang dilakukan meliputi: uji fenolik, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid.

d. Identifikasi senyawa

Pemisahan senyawa dilakukan dengan metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) sampai diperoleh isolat. Isolat yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, IR, dan GC-MS.

e. Uji aktivitas antioksidan

1. Membuat larutan DPPH 0,05 mM
2. Dilakukan optimasi panjang gelombang larutan DPPH 0,05 mM
3. Membuat larutan uji dengan pelarut metanol p.a dan dibuat dalam berbagai konsentrasi (10, 20,30,40, dan 50 ppm).
4. Masing-masing konsentrasi larutan uji diambil 1 mL dan direaksikan dengan 4 mL larutan DPPH 0,05 mM. Kemudian dibiarkan selama 30 menit. Larutan uji diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap vitamin C sebagai kontrol positif. Setelah itu dihitung nilai persen inhibisi (% P) serta nilai IC_{50} . Untuk menentukan nilai %P digunakan rumus sebagai berikut:

$$\%P = \frac{A_K - A_P}{A_K} \times 100\%$$

Keterangan :

A_K = absorbansi blanko

A_S = absorbansi sampel

%P = persen peredaman

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap Ekstraksi

Filtrat hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporatory* sampai diperoleh ekstrak kental *n*-heksana, kloroform, dan metanol.

Uji fitokimia

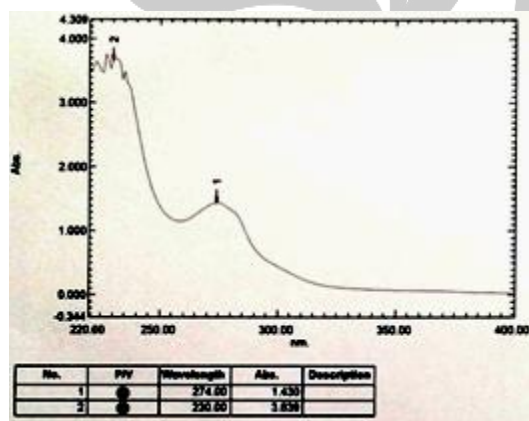
Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol tanaman *Euphorbia hirta*. Uji yang dilakukan antara lain: uji fenolik, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Hasil uji fitokimia ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol *Euphorbia hirta*

No	Uji fitokimia	Hasil	Ket
1	Fenolik	Larutan berwarna hitam	+
2	Flavonoid	Larutan berwarna jingga Larutan berwarna biru	+
3	Tanin	kehitaman	+
4	Saponin	Larutan berwarna jingga (terbentuk buih yang stabil)	+
5	Steroid	Larutan berwarna kuning	-
6	Triterpenoid	Larutan berwarna jingga	+
7	alkaloid	Larutan berwarna hijau kekuningan (tidak ada endapan)	-
	a. Mayer	Larutan berwarna merah kecoklatan (ada endapan)	+
	b. Wagner	Larutan berwarna jingga (ada endapan)	+
	c. Dragendorff		

Identifikasi Senyawa**UV-Vis**

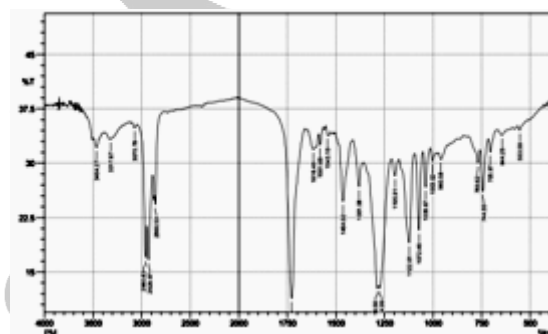
Hasil identifikasi isolat menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan dua puncak serapan seperti pada Gambar 1.

**Gambar 1. Spektrum UV Isolat**

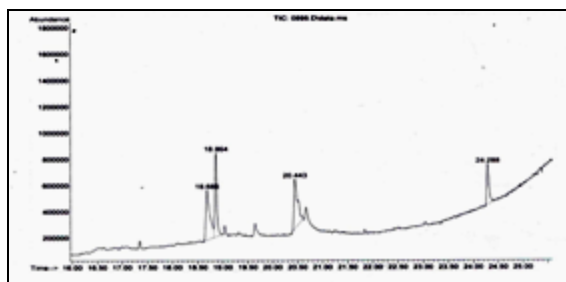
Pada Gambar 1 terlihat dua puncak serapan yaitu pada panjang gelombang 230 nm dapat terjadi transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan gugus kromofor C=C. Pada panjang gelombang 274 nm terjadi transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan gugus kromofor C=O [7].

FT-IR

Hasil identifikasi dengan IR menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3464-3317 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus OH, 29,60-29,29 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus C-H, 1728 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus C=O(karbonil), 1616-1543 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus C=C(aromatik), 3070 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus =C-H (aromatik), dan 705 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus benzena tersubstitusi seperti pada Gambar 2.

**Gambar 2. Spektrum IR Isolat****GC-MS**

Hasil identifikasi senyawa dengan GC-MS seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram GC-MS

Senyawa yang teridentifikasi dengan GC-MS disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan senyawa pada isolat *Euphorbia hirta* dengan GC-MS

No	RT	Nama senyawa	Area (%)
1	18,688	Hexadecanoic acid	17,09
2	18,865	Methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate	13,92
3	20,445	9-octadecanoic acid	15,52
4	24,290	di-n-octyl phthalate	7,95

Pada Tabel 4 terlihat jenis senyawa-senyawa yang terkandung pada isolat *Euphorbia hirta* dengan GC-MS. Senyawa yang teridentifikasi pada isolat yaitu Hexadecanoic acid, Methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate, 9-Octadecanoic acid, dan di-n-octyl phthalate.

Senyawa pada isolat yang diduga dapat bertindak sebagai antioksidan adalah senyawa Methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate, sedangkan senyawa yang lain dianggap sebagai pengotor. Dalam literatur disebutkan bahwa senyawa methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate mempunyai aktivitas antioksidan

[8]. Dugaan ini didukung dengan hasil analisis isolat menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang mengindikasikan isolat tersebut mengandung gugus C=C dan C=O. Hasil UV-Vis dipertegas dengan serapan di daerah 1728 cm^{-1} menyatakan keberadaan gugus C=O(karbonil), 1616-1543 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan gugus C=C(aromatik) dan diperkuat pada serapan 3464-3317 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan gugus OH serta adanya gugus benzene tersubstitusi pada puncak 705 cm^{-1} .

Uji aktivitas antioksidan

Hasil optimasi panjang gelombang larutan DPPH 0,05 mM adalah 216 nm dan absorbansi 0,315 nm. Panjang gelombang ini yang digunakan untuk mengukur absorbansi sampel. Pengujian antioksidan isolat dan vitamin C dilakukan dengan berbagai konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Larutan uji terlebih dahulu direaksikan dengan larutan DPPH 0,05 mM, dan diinkubasi 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur absorbansinya pada panjang gelombang 216 nm. Dari nilai absorbansi kemudian dihitung nilai % P dan IC_{50} . Nilai IC_{50} didapat dari kurva linier antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan persen peredaman (sumbu y).

Persamaan regresi linier dari hasil uji aktivitas antioksidan isolat daun *Euphorbia hirta* dengan metode DPPH yaitu $y = 0,3249x + 39,27$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2 = 0,9682$. Sedangkan pada hasil pengukuran vitamin C diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,3534x + 43,534$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2 = 0,9956$.

Hasil dari pengujian antioksidan isolat dan vitamin C ditunjukkan pada Tabel 2 dan tabel tabel 3.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Isolat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% aktivitas Antioksidan	Nilai IC_{50}	Potensi antioksidan
10	0,181	42,42		
20	0,173	45,08		
30	0,156	50,58	33,02	Sangat kuat
40	0,153	51,53		
50	0,140	55,45		

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% aktivitas Antioksidan	Nilai IC ₅₀	Potensi antioksidan
10	0,168	46,66	18,30	Sangat kuat
20	0,155	50,79		
30	0,143	54,60		
40	0,133	57,77		
50	0,123	60,85		

Pada Tabel 2 dan Tabel 3 terlihat bahwa nilai IC₅₀ isolat lebih besar dibandingkan vitamin C, hal tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan isolat lebih rendah dari vitamin C.

Berdasarkan nilai IC₅₀ dari isolat dan vitamin C keduanya menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Suatu antioksidan tergolong sangat kuat apabila memiliki nilai IC₅₀ < 50 ppm [9].

KESIMPULAN

1. Komponen senyawa yang terkandung pada ekstrak metanol tanaman *Euphorbia hirta* adalah senyawa fenolik, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan alkaloid.
2. Senyawa yang bertindak sebagai antioksidan adalah senyawa *Methyl-3-(3,5-diterbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate*.
3. Aktivitas antioksidan isolat lebih kecil dibandingkan vitamin C dengan nilai nilai IC₅₀ 30,02 untuk isolat ppm dan 18,30 ppm untuk vitamin C.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rohmatussolihat. 2009. "Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia". *Bio Trends*. 4(1):5-9.
2. Sayuti, Kesuma dan Yenrina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
3. Cahyadi, W. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Makanan*. Jakarta : Bumi Aksara.
4. Heo, S. J., Cha, S.H., Lee, K.W., Cho, S.K., and Jeon, Y.J. 2005. "Antioxidant Activities of Chlorophyta and Phaeophyta from Jeju Island". *Algae*. 20(3):251-260.
5. Hamdiyati, Yanti, Kusnadi, Rahadian, I. 2008. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*)

Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*". *Jurnal Pengajaran Mipa*. 12(2):1-10.

6. Ekpo, O.E., and Pretorius, E. 2007. "Asthma, *Euphorbia Hirta* and Its Anti-Inflammatory Properties". *South African Journal of Science*. 103 (5):201-203.
7. Suyatno. 2011. *Penentuan Struktur Molekul Senyawa Organik*. Surabaya: Unesa University Press.
8. A.Akpuaka, Ekwenchi, M.M., Dashak, D.A. and Dildar, A. 2013. "Biological Activities of Characterized Isolates of *n*-Hexane Extract of *Azadirachta Indica* A.Juss (Neem) Leaves". *Nature and Science*. 11(5): 141.147.
9. Reynertson and Kurt Allerslev. 2007. *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruits*. Dissertation. The City University of New York.