

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (ZINGIBER CASSUMUNAR ROXB) DENGAN METODE ABTS [2,2'-AZINOBIS (3-ETHYLBENZOTHAZOLINE)-6-SULFONIC ACID]**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF BANGLE RHIZOME (ZINGIBER CASSUMUNAR ROXB) USING ABTS METHOD [2,2'-AZINOBIS (3-ETHYLBENZOTHAZOLINE)-6-SULFONIC ACID]**

**Muhammad Natsir Djide<sup>1</sup>, Fhahri Mubarak<sup>2\*</sup>, Rikayani Natasya<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Farmasetika Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi Sarjana Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Indonesia

\*Email: [fhahri.mubarak@stifa.ac.id](mailto:fhahri.mubarak@stifa.ac.id)

Diterima: 03 Maret 2022. Disetujui: 30 Maret 2022. Dipublikasikan: 23 April 2022

**Abstrak:** Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat atau mencegah kerusakan akibat oksidasi radikal bebas. Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) mengandung senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak rimpang bangle dalam meredam radikal ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat]. Rimpang bangle di maserasi dengan etanol 96%. Ekstrak diidentifikasi senyawa flavanoid dan dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dengan pembandingan kuersetin. Hasil uji aktivitas antioksidan rimpang bangle memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 25,320 ppm yang tergolong antioksidan sangat kuat sedangkan kontrol positif kuersetin diperoleh nilai  $IC_{50}$  3,394 ppm yang termasuk kategori sangat kuat. Ekstrak rimpang bangle memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dalam meredam radikal bebas.

**Kata Kunci :** Rimpang bangle, Aktivitas antioksidan, ABTS

**Abstract:** Antioxidants are compounds that can inhibit or prevent damage caused by free radical oxidation. Bangle rhizome (*Zingiber cassumunar* Roxb.) contains polyphenolic compounds which have antioxidant activity. This study aims to determine the antioxidant activity of bangle rhizome extract in reducing ABTS radicals [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulphonic acid]. Bangle rhizome was macerated with 96% ethanol. The extract identified flavonoid and tested for antioxidant activity using the ABTS method with comparison quercetin. The results of the antioxidant activity test of bangle rhizome had an  $IC_{50}$  value of 25.320 ppm which was classified as very strong antioxidant, while the positive control of quercetin obtained an  $IC_{50}$  value of 3.394 ppm which was included in the very strong category. Bangle rhizome extract has very strong antioxidant activity in reducing free radicals.

**Keywords :** Bangle rhizome, antioxidant activity, ABTS

## PENDAHULUAN

Pola kehidupan manusia saat ini telah mengalami perubahan seiring dengan perkembangan waktu. Sebagian besar penyakit diawali oleh reaksi oksidasi berlebihan dalam sel tubuh manusia. Reaksi ini dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Makanan yang dibakar, paparan sinar matahari berlebih, obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas [1].

Radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil [2]. Jika hal ini terus menerus terjadi maka dapat memicu munculnya penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, peradangan dan kardiovaskuler. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan yang berasal dari luar tubuh [3].

Antioksidan merupakan zat yang dapat menghentikan pembentukan radikal bebas dan reaksi berantai dimana dapat menyebabkan kerusakan sel atau bahkan kematian. Mekanisme kerja antioksidan dalam menangkal radikal bebas yaitu bisa sebagai mengkatalisir pemusnahan radikal di dalam sel, pereduksi, pendonor atom hidrogen, pendonor elektron, dan peredam terbentuknya singlet oksigen. Sumber antioksidan yang potensial banyak ditemukan berasal dari tumbuhan. Salah satu tanaman sumber antioksidan adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) [4].

Bangle adalah salah satu spesies dari genus *Zingiber* yang termasuk dalam family *Zingiberaceae*. Rimpang bangle diketahui mengandung senyawa aktif seperti *cassumumin* dan *cassummarin* yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan senyawa tersebut dikenal sebagai kompleks kurkuminoid. Rimpang bangle mengandung saponin, flavonoid,

minyak atsiri, tanin, triterpenoid, vitamin C, vitamin E, karoten, dan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan [5].

Metode yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah metode peredaman radikal bebas [2,2' azino-bis (3-ethylbenzothiazolin)-6-sulfonat acid]. Prinsip pengujian dengan metode ABTS adalah mengukur daya antioksidan terhadap radikal bebas ABTS yang ditandai dengan penurunan intensitas warna dari radikal ABTS tersebut [6].

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti melakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak rimpang bangle dengan metode ABTS (2,2'-azino-bis-[3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonat acid]..

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, batang pengaduk, cawan porselin (*Pyrex*®), labu ukur 5 mL, 10 mL dan 25 mL (*Pyrex*®), mikro pipet (*Dragonlab micropipette*®), pipet tetes, gelas kimia (*Pyrex*®), gelas ukur 25 mL, dan 50 mL (*Pyrex*®), blender (*Cosmos*), tabung reaksi (*Pyrex*®), neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis (*Szimaadzu*®), dan vial. Bahan-bahan yang digunakan yaitu, rimpang bangle, ABTS (2,2'-azinobis-[3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonat acid]), aluminium klorida ( $AlCl_3$ ), aluminium foil, air suling ( $H_2O$ ), asam klorida ( $HCl$ ), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), besi (III) klorida ( $FeCl_3$ ), etanol 96 %, etanol p.a, kalium persulfat ( $K_2S_2O_8$ ), kertas saring dan kuersetin.

### Pengumpulan bahan baku dan preparasi sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah rimpang bangle yang diperoleh dari Desa Suloara', Kecamatan Sesean Suloara', Kabupaten Toraja Utara. Sampel rimpang bangle dikumpulkan dan disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih, ditiriskan kemudian diiris-iris melintang lalu dilakukan pengeringan dengan menggunakan panas matahari langsung dan ditutup dengan kain hitam hingga kering, kemudian ditimbang bobot keringnya. Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender lalu diayak dengan pengayak.

### Pembuatan Ekstrak

Serbuk rimpang bangle diekstraksi secara maserasi dengan menimbang sampel sebanyak 200 g, dimasukkan ke dalam toples, dibasahkan seluruh permukaan sampel dengan etanol 96% sebanyak 500 mL selama 30 menit, kemudian ditambahkan 1500 mL dengan pelarut etanol, ditutup menggunakan aluminium foil, dimaserasi selama 3x24 jam pada tempat yang terlindung cahaya. Setelah 3 hari di saring menggunakan kertas saring, ulangi proses remaserasi sebanyak 2 kali sehingga didapat ekstrak cair rimpang bangle. ekstrak cair diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang untuk dihitung % rendemen [7].

### Uji kualitatif senyawa flavanoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan 1,5 mL etanol 96%. kemudian ditambahkan 5-6 tetes asam klorida pekat, hasil positif terbentuk warna merah menunjukkan adanya flavanoid, jika terbentuk warna orange menunjukkan adanya flavon [8].

### Pembuatan larutan stok sampel

Ekstrak etanol rimpang bangle ditimbang sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Dilarutkan dengan etanol p.a dan ditepatkan volume sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

### Pembuatan larutan stok kontrol positif

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol p.a dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Setelah itu, dipipet 1 mL larutan stok kemudian dicukupkan dengan etanol p.a 10 mL sehingga diperoleh 100 ppm [9].

### Pembuatan Larutan Stok ABTS [1]

1. Larutan a : Ditimbang 7,1 mg ABTS, dilarutkan dalam 5 mL aquadest
2. Larutan b : Ditimbang 3,5 mg  $K_2S_2O_8$ , dilarutkan dalam 5 mL  $H_2O$
3. Larutan a dan b dicampur dan diinkubasi selama 12-16 jam dalam ruang gelap dan cukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 25 ml

### Pengukuran Serapan Larutan Blanko ABTS

Larutan ABTS dipipet sebanyak 1 mL dan cukupkan volumenya sampai 5 mL dengan etanol p.a. dalam labu tentukur. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 15 menit. Kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang  $\lambda$  600-800 nm.

### Pengukuran Aktivitas Peredaman Radikal ABTS Sampel

Larutan stok sampel ekstrak rimpang bangle 1000 ppm dipipet masing-masing 100  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 300  $\mu$ L, 400  $\mu$ L, dan 500  $\mu$ L, sampel dan ditambahkan 1 mL larutan ABTS, campuran dicukupkan hingga 5 mL etanol p.a. Homogenkan hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm dan diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 751 nm.

### Pengukuran Aktivitas Peredaman Radikal ABTS Kuersetin

Larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm dibuat dari larutan 100 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 50; 100; 150; 200; dan 250  $\mu$ L dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml ditambahkan 1 ml larutan radikal ABTS, kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Larutan diinkubasi selama 2 menit yang diperoleh dan diukur

serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang [10].

#### Penentuan Nilai IC<sub>50</sub>

Hasil perhitungan dari aktivitas antioksidan dimasukkan kedalam persamaan garis  $y = ax + b$  dengan konsentrasi ( $\mu\text{g/L}$ ) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % aktivitas antioksidan sebagai koordinatnya (sumbu y) dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}}$$

Nilai IC<sub>50</sub> dari perhitungan pada saat % aktivitas antioksidan sebesar 50% akan diperoleh dari persamaan garis. Data dari hasil perhitungan masing-masing metode pengujian antioksidan didapatkan % kapasitas peredaman. Dibuat kurva konsentrasi terhadap % kapasitas peredaman, kemudian didapat persamaan regresi  $y = a + bx$ . Nilai IC<sub>50</sub> dihitung untuk menentukan berapa konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk memiliki 50% kapasitas peredaman.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) yang diambil dari Desa Suloara', Kabupaten Toraja Utara. Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode 2,2 azinobiz (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS). Tahapan penelitian dimulai dari proses pengolahan sampel, ekstraksi, skrining fitokimia dan pengujian antioksidan.

Rendemen merupakan perbandingan bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot simplisia yang digunakan. Nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman obat, dimana senyawa memiliki berbagai manfaat bagi kehidupan manusia. Penentuan persen rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa. Bobot serbuk simplisia rimpang bangle yaitu 200 gram kemudian diekstraksi dan didapatkan bobot ekstrak sebanyak 12,1 gram. Lalu dihitung nilai rendemen dan didapatkan yaitu 2,42 %. Hal tersebut dikarenakan proses remaserasi hanya dilakukan sebanyak 2 kali sehingga kemungkinan tidak semua senyawa target terlarut sempurna oleh pelarut yang digunakan.

Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid pada ekstrak etanol rimpang bangle dengan menggunakan metode kualitatif yang dapat dilihat dari perubahan warna ataupun pembentukan endapan jika sampel direaksikan dengan bahan kimia tertentu. Berikut adalah hasil skrining fitokimia flavonoid ekstrak etanol rimpang bangle.



Gambar 1. Uji kualitatif senyawa flavanoid.

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel rimpang bangle memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu senyawa flavanoid. Hasil positif terbentuk warna merah menunjukkan adanya flavonoid, jika terbentuk warna orange menunjukkan adanya flavon [8]. Flavonoid memiliki kemampuan mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas.

ABTS merupakan metode penelitian aktivitas antioksidan yang diperoleh dari hasil oksidasi kalium persulfat dengan garam diamonium persulfat. ABTS adalah reagen yang dapat stabil selama 3 hari dalam ruangan gelap di suhu 25°C [11]. Adanya aktivitas antioksidan sampel ditandai dengan hilangnya warna biru pada pereaksi [12]. Kelebihan dari metode ABTS yaitu dapat bereaksi cepat dengan antioksidan, memiliki fleksibilitas ekstra sehingga dapat digunakan pada rentang pH yang luas, dan dapat larut dalam pelarut polar maupun non polar [13].

Tabel 1. Uji Aktivitas Antioksidan Rimpang Bangle

| Konsentrasi (ppm) | % Inhibisi | IC <sub>50</sub> (ppm) |
|-------------------|------------|------------------------|
| 10                | 32,479     | 25,318                 |
| 20                | 42,827     |                        |
| 30                | 52,766     |                        |
| 40                | 69,262     |                        |
| 50                | 82,067     |                        |

Tabel 2. Uji Aktivitas Antioksidan Kontrol Positif Kuersetin

| Konsentrasi (ppm) | % Inhibisi | IC <sub>50</sub> (ppm) |
|-------------------|------------|------------------------|
| 1                 | 16,852     | 3,394                  |
| 2                 | 23,411     |                        |
| 3                 | 45,610     |                        |
| 4                 | 63,168     |                        |
| 5                 | 71,544     |                        |

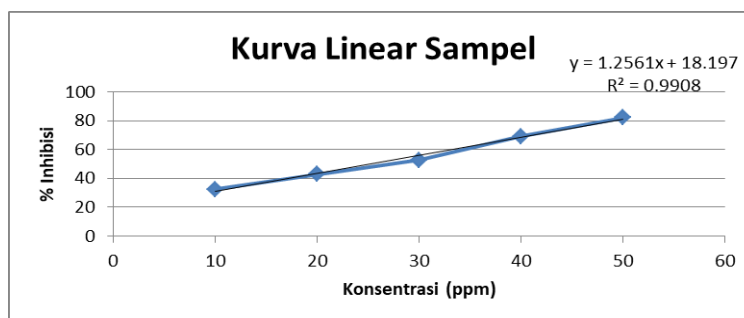
Larutan sampel dibuat pada konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm serta kuersetin dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm dengan menambahkan 1 ml larutan stok ABTS dan ditambahkan etanol p.a dalam labu tentukur 5 ml. Setelah itu diinkubasi selama 2 menit kemudian diukur absorbansi menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang

maksimum 751 nm. Dalam proses pengerjaan atau pencampuran dilakukan diruangan gelap dengan menggunakan vial dilapisi dengan aluminium foil dikarenakan metode ABTS yang sangat sensitif terhadap cahaya.

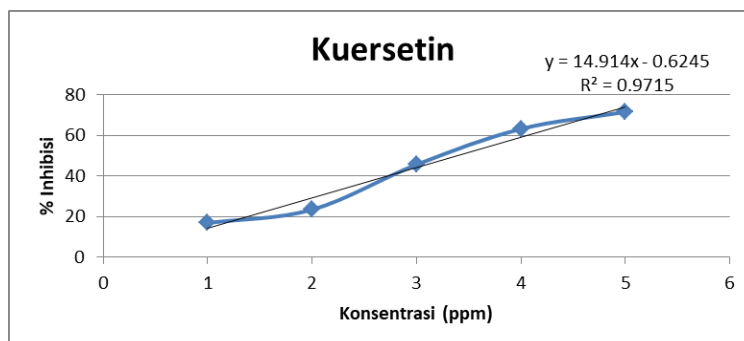
Nilai  $IC_{50}$  merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas. Hal ini pun telah sesuai dengan pendapat [12] menunjukkan bahwa bahan uji dikatakan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi bila mempunyai nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50 ppm.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol rimpang bangle dengan metode ABTS menunjukkan bahwa aktivitas

antioksidan sampel memiliki nilai ( $IC_{50}$  = 25,318 ppm) yang tergolong kategori sangat kuat. Diperoleh dari persamaan regresi dengan konsentrasi sebagai sumbu x dan nilai aktivitas antioksidan sebagai sumbu y. Kemudian pada pengujian aktivitas antioksidan metode ABTS dengan kontrol positif kuersetin diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,394 ppm yang tergolong antioksidan sangat kuat dengan persamaan regresi  $y=14,914x-0,6245$  dengan nilai  $R^2= 0,9715$ .



Gambar 2. Kurva Linear Rimpang Bangle



Gambar 3. Kurva Linear Kontrol Positif Kuersetin

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang bangle memiliki nilai  $IC_{50}$  25,318 ppm yang tergolong kedalam antioksidan sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari sampel rimpang bangle memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dalam meredam radikal ABTS.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pantria Saputri, A., Augustina, I., & Fatmaria. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) DENGAN METODE ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat) Pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 8(1), 973–980. <https://doi.org/10.37304/jkupr.v8i1.1502>
- [2] Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1, 1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS. *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2 (1), 1–5.
- [3] Fitriana, W. D., Fatmawati, S., & Ersam, T. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi. *SNIP Bandung*, 2015(Snips), 658.
- [4] Rissanti, I., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2014). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Aseton Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 17(3), 75–79. <https://doi.org/10.14710/jksa.17.3.75-79>
- [5] Citradewi, A. Sumarya, I.M., Juliansih, N. K. . (2019). Daya Hambat Ekstrak Rimpang Bangle

- (Zingiber Purpureum Roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus. 01.
- [6] Vifta, R. L., Rahayu, R. T., & Luhurningtyas, F. P. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa*) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Oficinalle*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 8(3), 197–201.
- [7] Rahmadani, S., Siti Sa'diah, & Sri Wardatun. (2008). Optimasi ekstraksi jahe merah (. *Teknologi Pangan*, 1(2), 1–8.
- [8] P.Saranraj. (2011). Pharmacological Screening Of Datura Metel And Acalypha Indica For Its Antifungal Activity Against Pathogenic Fungi. 13(1), 43–50.
- [9] Kusuma, P. (2012). Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L). *Skripsi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alaudin, Makassar*, 1–26. <http://repositori.uin-alaudind.ac.id/1957/>
- [10] Sami, F. J., & Rahimah, S. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica Oleracea* L. Var. Italica) Dengan Metode Dpph (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 107–110. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.179>
- [11] Serhan, M., Sprowls, M., Jackemeyer, D., Long, M., Perez, I. D., Maret, W., Tao, N., & Forzani, E. (2019). Total iron measurement in human serum with a smartphone. *AIChE Annual Meeting, Conference Proceedings, 2019-Novem*. <https://doi.org/10.1039/x0xx00000x>
- [12] Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(May), 211–219.
- [13] Shalaby, E. A., Shanab, S. M. M., & Singh, V. (2010). Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(24), 2622–2632. <https://doi.org/10.5897/jmpr09.300>