

**Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol
Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang)**

Diah Dhianawaty D¹., Ruslin²

¹Bagian Biokimia dan Biomolekular, Fakultas Kedokteran Universitas
Padjadjaran Bandung. ²Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo Kendari.

Abstrak

Ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica* (alang-alang) terbukti mempunyai aktivitas antihipertensi. Hipertensi disebabkan oleh banyak faktor, diantaranya oleh aktivitas enzim konversi angiotensin (ACE), spesies oksigen reaktif (ROS). Studi menunjukkan berbagai terapi antioksidan dapat menurunkan tekanan darah. Senyawa polifenol dari tumbuhan mempunyai banyak manfaat, diantaranya bermanfaat sebagai antioksidan. Oleh karena itu dilakukan studi ekperimental untuk mengukur kandungan polifenol total menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak - pereaksi Folin-Ciocalteu, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dari Juli sampai Desember 2014. Hasilnya, ekstrak mempunyai kandungan total polifenol 1,53% (EAG) dan aktivitas antioksidan IC₅₀ 0,32 mg/ml. Senyawa fenol mempunyai kemampuan mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas DPPH, yang menyebabkan DPPH tereduksi yang ditandai dengan perubahan warna DPPH dari

ungu menjadi kuning. Dengan demikian aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica* didukung oleh adanya senyawa polifenol. Simpulan, ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica* mempunyai kandungan polifenol total 1,53% (EAG) dan aktivitas antioksidan IC₅₀ 0,32 mg/ml. Adanya senyawa polifenol mendukung aktivitas antioksidan dari ekstrak.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, *Imperata cylindrica*, kandungan polifenol total.

Total Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang) Root

Abstract

Methanol extract of *Imperata cylindrica* (alang-alang) root has been proven for its anti-hypertensive activity. Hypertension is caused by many factors, such as by activity of angiotensin converting enzyme (ACE) and reactive oxygen species (ROS). Study shows a variety of antioxidant therapies can decrease blood pressure. Polyphenol compounds of plants have many benefits, including as antioxidant. Therefore, this experimental study was done for measuring the total polyphenol content using visible spectrophotometry method-Folin-Ciocalteu reagent, and antioxidant activity test with 1,1-diphenyl-method 2-pikrilhidrazil (DPPH) from July to December 2014. The results, extract had total polyphenol content of 1.53% (GAE) and antioxidant activity IC₅₀ of 0.32 mg/ml. The

polyphenol compounds have the ability to donate hydrogen atom on DPPH free radical, which cause reduced of DPPH that was marked with the color change of DPPH from purple to yellow. Thus, antioxidant activity of methanol extract of *Imperata cylindrica* root was supported by the presence of polyphenol compounds. In conclusion, the methanol extract *Imperata cylindrica* root has a total polyphenol content of 1.53% (GAE) and antioxidant activity IC₅₀ of 0.32 mg/ml. The presence of polyphenol compounds support the antioxidant activity of the extract.

Key word: Antioxidant activity, *Imperata cylindrica*, total polyphenol content.

Pendahuluan

Obat tradisional terutama yang berasal dari tumbuhan (herbal) telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk memelihara, mencegah dan menyembuhkan berbagai penyakit. Masyarakat Sulawesi Tenggara memanfaatkan akar alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai obat hipertensi. Ruslin dkk, telah membuktikan ekstrak metanol akar alang-alang yang diberikan secara oral pada dosis 60 dan 90 mg/kg-bw mempunyai khasiat antihipertensi terhadap tikus jantan galur Wistar.^{1,2} Penelitian lainnya menyatakan ekstrak etanol daun alang-alang pada dosis 160 and 320 mg/ml yang diberikan secara intra vena memberikan efek pengurangan tekanan jantung hewan coba kucing dari 266 menjadi 180 mmHg, tapi tidak mempunyai efek pada detak jantung. Dosis efektif terkecil persen IC₅₀ adalah

0,013 mg/ml. Ekstrak ini menunjukkan sifat vasodilatasi antihipertensi yang mirip dengan mekanisme kerja adrenalin. Ekstrak ini dapat dimanfaatkan untuk mengelola hipertensi.³

Dari pedoman berbasis bukti tahun 2014 untuk pengelolaan penyakit darah tinggi pada orang dewasa, *the Eighth Joint National Committee (JNC 8)*, mentabulasikan beberapa obat anti-hipertensi diantaranya: inhibitor enzim konversi angiotensin (ACE), pemblok reseptor angiotensin, β -blocker, tiazid-tipe diuretika, dan lainnya.⁴ Kondisi penyakit hipertensi saat ini meningkat, hipertensi sering dikaitkan dengan kelainan metabolik seperti diabetes dan dislipidemia. Baru-baru ini telah dihipotesiskan bahwa stres oksidatif memerankan kunci dalam patogenesis hipertensi.^{4,6} Juga telah diamati penurunan aktivitas superoksida dismutase dan glutathion peroksidase pada subyek yang baru didiagnosis hipertensi dan belum diobati, hasilnya berbanding terbalik dengan tekanan darah. Produksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida lipid juga lebih tinggi pada subyek penderita hipertensi.⁵

ROS yang berlebihan terbukti sebagai senyawa yang dapat menyebabkan dan memperburuk hipertensi.⁶⁻⁸ ROS yang dihasilkan oleh berbagai sumber seluler, termasuk nikotinamida adenina dinukleotida (NADPH) oksidase, mitokondria, xantin oksidase, turunan endotelium oksida nitrat sintase (eNOS), siklooksigenase, dan lipoksigenase adalah superoksida (O_2).⁶⁻⁸ Superoksida adalah molekul berumur pendek yang kemudian dapat mengalami dismutasi enzimatis menjadi hidrogen peroksida. Superoksida dapat mengoksidasi protein dan lipid, atau bereaksi dengan NO dari endotelium menghasilkan spesies

nitrogen reaktif peroksi nitrit (NO). NO dan spesies reaktif nitrogen lainnya kemudian dapat mengoksidasi protein, lipid, dan kofaktor enzim penting yang kemudian dapat meningkatkan stres oksidatif. Hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh dismutasi enzimatis O_2 , selanjutnya dapat dikonversi ke radikal hidroksil yang sangat reaktif (via kimia Fenton) yang dapat menyebabkan kerusakan asam deoksiribo nukleat (DNA).⁶⁻⁷

Beberapa senyawa polifenol mempunyai aktivitas antihipertensi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid dan tanin yang umumnya terdapat dalam buah-buahan, sayuran, dan minuman, dapat menghambat nicotinamida adenin dinucleotida fosfat (NADPH) oksidase melalui penghambatan ACE, peningkatan eNOS-spesifik, dan mengubah ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2).⁵⁻¹¹ Flavonoid dan tanin memiliki efek penghambatan pada aktivitas ACE, yang memainkan peran penting dalam pengaturan tekanan darah arteri. Aktifitas senyawa fenol berasal dari jumlah gugus hidroksil pada cincin benzena. Studi *docking* menunjukkan bahwa asam fenolat dan flavonoid menghambat ACE melalui interaksi dengan ion *zinc* dan interaksi ini distabilkan oleh interaksi lain dengan asam amino pada sisi aktif.¹¹

Ekstrak metanol akar alang-alang telah diteliti mempunyai aktivitas menurunkan hipertensi, dan penelitian lainnya membuktikan stres oksidatif dapat menjadi penyebab hipertensi. Demikian juga senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan diantaranya adalah senyawa fenol telah dibuktikan mempunyai aktivitas antihipertensi. Penelitian ini ditujukan untuk menemukan

kadar senyawa fenol dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol akar alang-alang tersebut.

Metode

Desain penelitian adalah studi eksperimental, yang dikerjakan dari bulan Juli sampai Desember 2014 di laboratorium Biokimia dan Biomolekular FK Unpad kampus Jatinangor. Bahan yang diteliti adalah ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica*, yang ditanam di Kendari (Sulawesi Tenggara) dengan pereaksinya DPPH dan asam galat dari Sigma Aldrich. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer Eppendorf Biospectrometer Basic AG 22331 Hamburg seri: 6135 BJ. Pada penentuan kadar total senyawa fenol digunakan asam galat sebagai standar acuan, dan hasilnya dinyatakan sebagai persen ekivalen asam galat (EAG). Untuk pengukuran perlu dibuat kurva baku asam galat yang dibuat dengan melarutkan asam galat baku dengan variasi konsentrasi 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,8; 1,6 mg/ml. Tahap selanjutnya dikerjakan seperti sampel. Dari kurva baku diperoleh persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menghitung kadar total senyawa fenol. Ekstrak sampel yang diteliti dilarutkan dalam metanol sampai dengan konsentrasi 48,15 mg/ml. Kemudian diambil sebanyak 0,050 mL dan masukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah dengan 2,5 mL pereaksi folin ciocalteau 10%, 2 ml Na karbonat (7,5 % b/v), dan diinkubasikan pada 37⁰C selama 30 menit. Selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 750 nm. Hasil serapan dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva baku asam galat dan hasilnya dinyatakan sebagai persen ekivalen asam

galat. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan pereaksi DPPH.¹²⁻¹³ Pertama disiapkan larutan stok DPPH dalam metanol dengan konsentrasi $1,0 \times 10^3$ M.

Selanjutnya dipersiapkan larutan ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica* dengan menimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam 50 ml metanol, kemudian dibuat dalam 5 variasi konsentrasi: 0,750; 0,500; 0,250; 0,125 dan 0,063 mg/50 ml. Selanjutnya masing-masing sampel ekstrak dicampur dengan 1 ml larutan stok DPPH, dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu densitas optik (serapan) nya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm, dan dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva baku DPPH. Hasilnya adalah persen konsentrasi penghambatan, yang dihitung dengan persamaan $\% IC_{50} = [(serapan\ baku - serapan\ sampel) / serapan\ baku] \times 100\%$

Hasil

Tabel 1 Kurva Baku Asam Galat

Konsentrasi Sampel (mg/ml)	Serapan
0.0	0.000
0.1	0.076
0.2	0.229

0.4	0.398
0.8	0.801
1.6	1.608

Dari kurva baku asam galat diperoleh persamaan regresi liner $y = 1,0055x - 0,0009$, selanjutnya persamaan ini digunakan untuk menghitung kadar total polifenol dalam ekstrak, dengan memasukan serapan sampel ekstrak yang terbaca pada alat spektrofotometer sebagai nilai y .

Tabel 2 Kadar Total Polifenol dari Ekstrak Metanol *Imperata cylindrica*

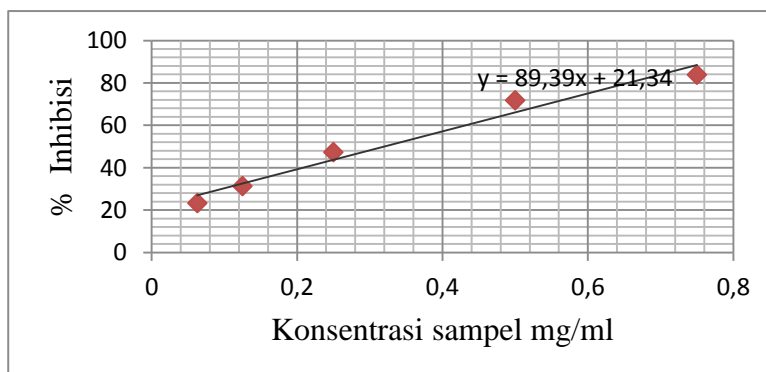
Konsentrasi Sampel (mg/ml)	Serapan	Konsentrasi Hasil Pengukuran (mg/ml)	Kadar Polifenol (%)	Kadar Polifenol Rata-rata (%)
48,15	0,714	0,71	1,48	
48,15	0,711	0,71	1,47	1,53
48,15	0,788	0,78	1,63	

Dari perhitungan diperoleh nilai x yaitu konsentrasi polifenol dalam ekstrak 0,71, 0,71 dan 0,78 mg/ml. Selanjutnya konsentrasi yang diperoleh diubah menjadi kadar yang hasilnya dinyatakan dalam satuan persen yaitu 1,48, 1,47 dan 1,63%.

Akhirnya diperoleh kadar polifenol total rata-rata dalam ekstrak metanol akar alang-alang = 1,53% (EAG)

Table 3 Persen Inhibisi Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica*

No	Konsentrasi (mg/ml)	Serapan			% Inhibisi
		1	2	Rata-rata	
1	0,750	0,182	0,187	0,185	83,88
2	0,500	0,316	0,331	0,324	71,77
3	0,250	0,610	0,599	0,605	47,30
4	0,125	0,791	0,785	0,788	31,35
5	0,063	0,874	0,886	0,880	23,34
Baku pembanding		1,145	1,150	1,148	



Gambar 1 Persen Inhibisi vs Konsentrasi dari Ekstrak Metanol Akar

Imperata cylindrica

Aktivitas antioksidan dihitung dari aktivitas inhibisi ekstrak pada pereaksi DPPH yang berperan sebagai radikal bebas. Dari hasil pengukuran diperoleh persamaan regresi linier $y = 89,39x + 21,34$, dimana y adalah % inhibisi dan x adalah IC_{50} yaitu konsentrasi dari antioksidan yang dapat meredam atau menghambat 50% radikal bebas. Dengan menggunakan rumus regresi tersebut diperoleh IC_{50} ekstrak metanol akar alang-alang = 0,32 mg/ml

Pembahasan

Ekstrak metanol akar alang-alang mengandung senyawa fenol. Dari penelitian ini diperoleh kadar polifenol dalam ekstrak 1,48%. Senyawa fenol, yaitu suatu senyawa yang mengandung gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik. Klasifikasi senyawa fenol yang terkandung dalam tumbuhan: fenol sederhana, benzoquinone, asam fenolat, asetofenon, turunan tirosin, asam hidroksi sinamat, kumarin, naftokuinon, xanton, stilbene, flavonoid, lignan, bioflavonoid dan tannin. Senyawa fenol alami yang bersifat antioksidan dapat diklasifikasikan dalam 2 kelompok, yaitu kelompok lipofilik dan kelompok hidrofilik (diantaranya senyawa fenol).^{14,15} Aktivitas antioksidan dari senyawa fenol terbentuk dari kemampuan senyawa fenol membentuk ion fenoksida yang dapat memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas. Gambaran pada umumnya yaitu antioksidan senyawa fenol (PhH) dapat bereaksi

dengan radikal bebas (ROO•) membentuk ROOH dan sebuah senyawa fenol radikal (Ph•) yang relatif tidak reaktif. Selanjutnya senyawa fenol radikal (Ph•) dapat bereaksi kembali dengan radikal bebas (ROO•) membentuk senyawa yang bersifat tidak radikal.^{14,15} DPPH adalah senyawa radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen. Adanya senyawa antioksidan (polifenol/PhH) dalam ekstrak akar alang-alang yang mendonorkan atom hidrogen pada DPPH telah menyebabkan DPPH tereduksi. Pengurangan konsentrasi radikal bebas DPPH karena tereduksi ditandai dengan pengurangan intensitas warna ungu yang dapat diukur dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Dari hasil pengukuran dengan metode DPPH, ekstrak metanol akar alang-alang mempunyai harga $IC_{50} = 0,32$ mg/ml, artinya ekstrak metanol akar alang-alang mempunyai kemampuan mengoksidasi radikal bebas DPPH, atau dapat dinyatakan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Simpulan, kadar polifenol total dalam ekstrak metanol akar alang-alang = 1,53% (EAG), kandungan senyawa polifenol yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada DPPH mendukung adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak dengan nilai $IC_{50} = 0,32$ mg/ml.

Simpulan

Kadar polifenol total dalam ekstrak metanol akar alang-alang = 1,53% (EAG), kandungan senyawa polifenol yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada DPPH mendukung adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak dengan nilai $IC_{50} = 0,32$ mg/ml.

Daftar pustaka

1. Dalimarta S., Atlas of Indonesian Medicinal Plants: *Imperata cylindrica* [L.] Beauv. No.4, Depok: Puspa Swara, 2006 pp.1-3.
2. Ruslin, Asmawi MZ, Rianse U, Sahidin, Dhianawaty D, Soemardji AA, dkk. Anti-hypertensive activity of Alang-alang (*Imperata cylindrica*) (L) Beauv. root methanolic extract on male Wistar rat. Int J Res Pharm Sci. 2013;4(4): 537-42.
3. Mensah MEE, Komlaga G, Terlabi EO. Antihypertensive action of ethanolic extract of *Imperata cylindrica* leaves in animal models. L Med Plants Resch. 2010; 4(14): 1486-91.
4. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Himmelfarb CD, Handler J, dkk. 2014 Evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults. Report from the panel members appointed to the eighth Joint National Committee (JNC 8). JAMA. 2014;311(5):507-20.
5. Baradaran A, Nasri H, Kopaei RM. Oxidative stress and hypertension: possibility of hypertension therapy with antioxidants. J Res Med Sci. 2014; 19(4):358–67.
6. Sulastri D, Liputo NI. Konsumsi antioksidan dan ekspresi gen eNOS3 alel – 786T>C pada penderita hipertensi etnik Minangkabau. Majalah Kedokteran Bandung. 2011; 43(1): 1-9.
7. Kizhakekuttu TJ, Widlansky ME. Natural antioxidants and hypertension: promise and challenges. Cardiovasc Ther. 2010; 28(4): e20–e32.

8. Beg M, Sharma V, Akhtar N, Gupta A, Jasim M. Role of antioxidants in hypertension. *J Indian Acad Clin Med.* 2011;12(2):122-7.
9. Sharifi N, Souri E, Ziai SA, Amin G, Amanlou M. Discovery of new angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors from medicinal plants to treat hypertension using an in vitro assay. *DARU J Pharm Sci.* 2013;21:74-81
10. Guerrero L, Castillo J, Quiñones M, Vallvé SG, Arola L, Pujadas G, *et al.* Inhibition of angiotensin-converting enzyme activity by flavonoids: structure-activity relationship studies. *PLOS One.* 2012; 7(11): e49493.
11. Shukor NA, Camp JV, Gonzales GB, Staljanssens D, Struijs K, Zotti MJ, *dkk.* Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: a study of structure activity relationships. *J Agric Food Chem.* 2013; 9:50-8.
12. Abe LT, Lajolo FM, Genovese MI. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. *Food Sci Technol.* 2010; 30(Supl.1): 254-9.
13. Dhianawaty D, Panigoro R. Antioxidant activity of the waste water of boiled *Zea mays* (swett corn) on the cob. *Int J Res Pharm Sci.* 2013;4(2): 266-9.
14. Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. Phytochemistry of medicinal plants. *J Pharmacog Phytochem.* 2013;1(6):168-82.
15. Imperato F, Maestri DM, Nepote V, Lamarque AL, Zygadlo JA, *penyunting.* *Phytochemistry: advances in research.* Trivandrum: Research Signpost; 2006.