



## Uji Kapasitas Antioksidan Pada Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) dengan Metode DPPH, FRAP

Muhammad Zain Alwi Asyraf<sup>1</sup>, David Limanan<sup>2\*</sup>, Eny Yulianti<sup>3</sup>,  
Frans Ferdinal<sup>4</sup>

Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

Email: [muhammad.405210043@stu.untar.ac.id](mailto:muhammad.405210043@stu.untar.ac.id), [davidl@fk.untar.ac.id](mailto:davidl@fk.untar.ac.id)

### ABSTRAK

**Kata Kunci:** *Caesalpinia sappan*, Antioksidan, FRAP, DPPH

Antioksidan berperan sebagai pelindung dari kerusakan oksidatif, termasuk antioksidan eksogen yang bisa didapatkan dari bahan-bahan herbal. Salah satu contoh antioksidan eksogen alami yang banyak ditemukan di Indonesia adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kapasitas antioksidan dari ekstrak kayu secang menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). Hasil uji kapasitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak kayu secang menunjukkan nilai IC50 sebesar 99,996 µg/mL, sementara dengan metode FRAP nilai IC50 yang diperoleh adalah 24,853 µg/mL. Berdasarkan nilai ini, kayu secang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat menurut metode FRAP (nilai IC50 ≤ 50 µg/mL) dan aktivitas antioksidan kuat menurut metode DPPH (nilai IC50 antara 50 – 100 µg/mL). Dengan demikian, kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) berpotensi dimanfaatkan sebagai antioksidan.

**Keywords:**

*Caesalpinia sappan*,  
Antioxidants, FRAP,  
DPPH

### ABSTRACT

*Antioxidants play a protective role against oxidative damage, including exogenous antioxidants that can be obtained from herbal ingredients. One example of natural exogenous antioxidants found in Indonesia is secang wood (Caesalpinia sappan L.). This study aims to measure the antioxidant capacity of secang wood extract using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and FRAP (ferric reducing antioxidant power) methods. The results of the antioxidant capacity test using the DPPH method on secang wood extract showed an IC50 value of 99.996 µg/mL, while with the FRAP method the IC50 value obtained was 24.853 µg/mL. Based on these values, secang wood has very strong antioxidant activity according to the FRAP method (IC50 value ≤ 50 µg/mL) and strong antioxidant activity according to the DPPH method (IC50 value between 50 - 100 µg/mL). Thus, secang wood (Caesalpinia sappan L.) has the potential to be utilised as an antioxidant.*

**Corresponden Author: David Limanan**

Email: [davidl@fk.untar.ac.id](mailto:davidl@fk.untar.ac.id)

Artikel dengan akses terbuka dibawah lisensi



## Pendahuluan

Oksigen (O<sub>2</sub>) adalah elemen vital bagi kehidupan, berperan penting dalam sistem pernapasan serta sebagai penerima akhir elektron dalam proses respirasi seluler di mitokondria yang menghasilkan energi. Di mitokondria sel eukariotik, manusia mengubah oksigen menjadi energi dalam bentuk *Adenosin Triphosphate* (ATP) melalui fosforilasi oksidatif, komponen utama dalam metabolisme aerob yang menghasilkan energi. Meskipun oksigen penting untuk proses metabolisme ini, ia juga dapat membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang berpotensi bersifat toksik. Untungnya, tubuh manusia memiliki sistem pertahanan alami berupa antioksidan untuk menetralkan efek berbahaya dari ROS tersebut (Yosafat & Ferdinal, 2023).

ROS meskipun sering terbentuk sebagai produk sampingan dari metabolisme oksigen, juga memiliki fungsi fisiologis penting, seperti berperan dalam sinyal seluler. Namun, paparan stres lingkungan seperti sinar UV, radiasi, polutan, dan logam berat meningkatkan produksi ROS secara signifikan, yang berujung pada ketidakseimbangan dan kerusakan sel serta jaringan (Arini, 2023; Hertika & Putra, 2019; Pizzino dkk., 2017). Peningkatan ROS ini terkait erat dengan proses penuaan alami dan menjadi faktor utama dalam perkembangan berbagai penyakit kronis, seperti kanker, aterosklerosis, penyakit kardiovaskular, diabetes, penyakit *Parkinson* dan *Alzheimer*, cedera hati, serta gangguan sistem imun (Brahmanta, 2021; Isfandiary dkk., 2021; Shankar & Mehendale, 2014).

Manusia telah mengembangkan serangkaian pertahanan antioksidan untuk melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh spesies terkait. Selain itu, sejumlah komponen yang berasal dari sumber makanan seperti tumbuhan memiliki aktivitas antioksidan. Istilah antioksidan dapat didefinisikan secara harfiah sebagai zat apapun yang dapat mencegah, mengurangi, atau memperbaiki kerusakan biomolekul target yang disebabkan oleh ROS (Li & Trush, 2016). Tumbuhan yang mengandung sifat antioksidan salah satunya adalah kayu secang. Kayu secang yang mempunyai nama Latin *Caesalpinia Sappan* merupakan tanaman yang tumbuh subur di Asia Tenggara, Tiongkok bagian selatan dan benua India, baik di alam liar maupun sebagai pohon budidaya. Kayu secang merupakan pohon berbunga asli Asia tropis yang memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi. Senyawa fitokimia dalam kayu secang ini, terutama *homoisoflavonoid brazilin*, *sappanone A*, *protosappanin*, *hematoxylin*, berpotensi digunakan untuk melindungi organ kardiovaskular (Syamsunarno dkk., 2021). Selain kontribusi terhadap kesehatan kayu secang juga memberikan manfaat yang baik bagi industri makanan. *brazilin* yang diekstraksi dari bagian inti kayu secang telah digunakan sebagai pengawet makanan dan sebagai bahan makanan fungsional (Warinhomhaun dkk., 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Prabawa dkk. (2018) menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 55,018 µg/mL menggunakan metode DPPH. Sementara itu, penelitian Setiawan dkk. (2018) yang menggunakan metode FRAP melaporkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 11,34 µg/mL, yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat karena berada di bawah 50 µg/mL. Mengingat masih terbatasnya informasi tentang kandungan antioksidan dalam kayu secang,

penelitian ini diharapkan dapat memperdalam pemahaman tentang potensi antioksidan yang dimiliki ekstrak kayu secang.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kapasitas antioksidan ekstrak kayu secang dengan metode DPPH dan FRAP, yang akan memberikan gambaran kuantitatif mengenai kemampuan ekstrak ini dalam melawan ROS. Dengan adanya penelitian ini, diharapkan dapat diperoleh data ilmiah yang mendukung pemanfaatan kayu secang sebagai sumber antioksidan alami di Indonesia, sekaligus menambah pilihan sumber antioksidan yang dapat diandalkan dalam pencegahan berbagai penyakit terkait stres oksidatif.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental berbasis *in vitro* yang berfokus pada uji kapasitas antioksidan. Pengujian kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan metode FRAP dan DPPH, dengan sampel berupa kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Setelah pengumpulan data, analisis akan dilakukan menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism v.7.0 (La Jolla, California, USA). Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler, Gedung J Lantai 1, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara, yang berlokasi di Jl. S. Parman No. 1, Grogol, Jakarta Barat.

### **Pembuatan Ekstrak Kayu Secang**

Sampel penelitian ini adalah kayu secang, yang terlebih dahulu ditimbang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan secara merata dalam wadah terbuka tanpa paparan sinar matahari selama dua hari hingga teksturnya mengering. Setelah kering, kayu secang dihaluskan menjadi simplisia, kemudian ditimbang dan dicatat. Simplisia ini selanjutnya diekstrak menggunakan metode perkolasi dengan pelarut metanol. Proses dimulai dengan mencampur simplisia dengan metanol dan mengaduknya hingga merata. Simplisia yang telah dicampur didiamkan selama satu jam tanpa paparan sinar matahari, sebelum lanjut ke tahap perkolasi. Proses perkolasi dimulai dengan menempelkan kapas yang dibasahi sedikit metanol pada dinding perkolator. Setelah itu, simplisia dimasukkan dan ditutup dengan kertas saring di bagian atasnya. Pelarut kemudian dituangkan hingga tingginya mencapai 1-2 cm di atas kertas saring. Simplisia dibiarkan selama 24 jam, kemudian cairan perkolat dibiarkan menetes perlahan dengan kecepatan 1–2 mL/menit, sambil terus ditambahkan pelarut agar mengalir melalui simplisia. Ekstrak perkolat ditampung dalam gelas ukur dan volumenya diukur. Sebagian perkolat diuapkan dengan rotary evaporator hingga mengental, dan hasilnya ditimbang serta dicatat. Sisa perkolat digunakan untuk uji fitokimia tanpa melalui proses evaporasi.

### **Pembuatan Trolox**

Larutan Trolox dibuat sebagai standar pembanding antioksidan dengan mencampurkan 0,01 gram Trolox dalam 100 mL metanol, menghasilkan konsentrasi akhir sebesar 100 µg/mL.

### **Pembuatan Larutan DPPH**

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 0,1 gram bubuk DPPH dalam 500 mL metanol di dalam tabung volumetrik, kemudian dihomogenkan. Untuk mencegah oksidasi dari udara, larutan ini ditutup rapat dan dilapisi aluminium foil agar terlindung dari cahaya.

### **Pembuatan Larutan FRAP**

Beberapa bahan utama ditimbang, yaitu 187 mg natrium asetat trihidrat, 150 mg TPTZ, dan 270 mg FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. Dalam labu ukur 250 mL, natrium asetat trihidrat dicampur dengan 16 mL asam asetat, kemudian diencerkan dengan aquadest hingga tanda 250 mL. Di labu ukur 50 mL, TPTZ dilarutkan dalam HCl 40 mM hingga mencapai garis. Di labu ukur 100 mL, FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O dilarutkan dengan aquadest hingga tanda 100 mL. Ketiga larutan ini kemudian dicampur dalam labu ukur 100 mL dengan perbandingan: 25 mL natrium asetat trihidrat, 2,5 mL TPTZ, dan 2,5 mL FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. Campuran diencerkan dengan aquadest hingga mencapai tanda 100 mL.

### **Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan metode DPPH**

Ekstrak kayu secang pertama-tama ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL metanol, kemudian diaduk hingga tercampur sempurna. Larutan sampel ini diencerkan hingga mencapai konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL, dan 250 µg/mL pada masing-masing tabung reaksi. Sebagai pembanding, larutan trolox disiapkan dengan melarutkan 0,01 gram trolox dalam 100 mL metanol, kemudian diencerkan dalam 10 mL pada lima tabung reaksi dengan volume 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL masing-masing. Sebanyak 100 µL larutan stok sampel ditambahkan ke dalam microplate polistirena jernih 96-wells, diikuti oleh penambahan larutan trolox sesuai konsentrasi dan 400 µL larutan DPPH. Campuran ini dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 520 nm menggunakan *spektrofotometer Genesys 30-Vis*, dan prosedur ini diulang tiga kali (triplo).

**Tabel 1. Kapasitas Antioksidan Kayu Secang dengan Metode DPPH**

<b>Konsentrasi (µg/mL)</b>	<b>Rata – rata Absorbansi (µg/mL)</b>	<b>%Inhibisi</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
50	0,387	29,121	
100	0,327	40,110	99,996
150	0,254	53,480	
200	0,119	78,205	
250	0,062	84,615	

### **Pengukuran Kapasitas Antioksidan dengan metode FRAP**

Sebanyak 0,02 gram ekstrak kayu secang dilarutkan dalam 10 mL etanol dan diaduk hingga homogen. Larutan sampel ini kemudian diencerkan untuk memperoleh konsentrasi 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, dan 30 µg/mL. Standar Trolox disiapkan dengan konsentrasi 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, dan 30 µg/mL sebagai pembanding. Sebanyak 100 µL larutan sampel serta larutan Trolox dalam

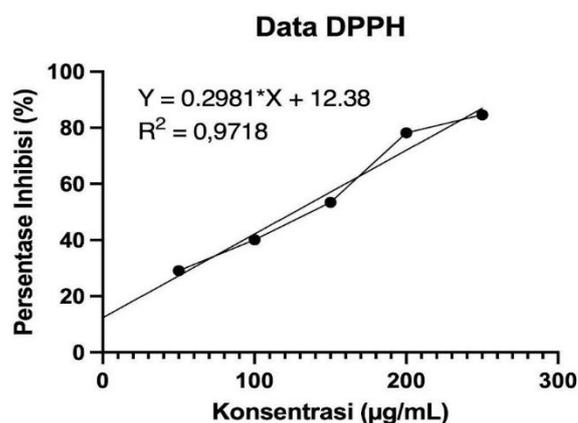
konsentrasi yang telah ditentukan ditambahkan ke dalam 96-well clear polystyrene microplate yang telah berisi 300  $\mu\text{L}$  larutan FRAP. Prosedur ini diulang tiga kali (triplo) untuk setiap larutan, kemudian campuran dibiarkan selama 10 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 594 nm.

**Tabel 2. Kapasitas Antioksidan Kayu Secang dengan Metode FRAP**

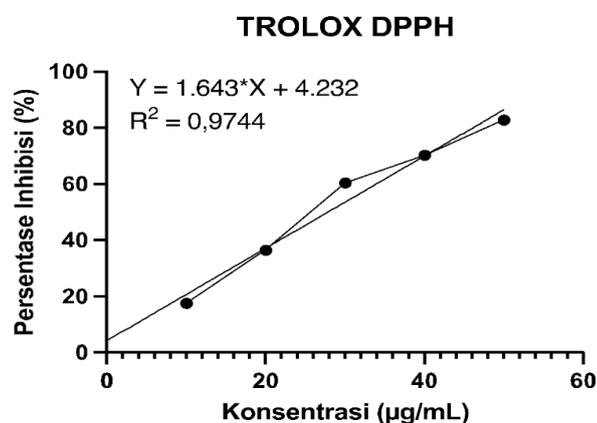
Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Rata – rata Absorbansi ( $\mu\text{g/mL}$ )	%Inhibisi	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
5	0,116	22,414	24,853
10	0,128	29,688	
15	0,137	34,307	
20	0,175	48,571	
25	0,185	51,351	

## Hasil Dan Pembahasan

### Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Kayu Secang dengan metode DPPH



**Gambar 1. Kurva Persentase Inhibisi DPPH dengan Ekstrak Kayu Secang**

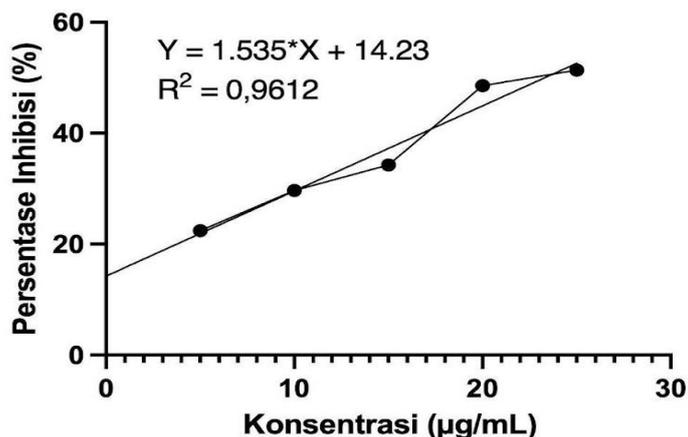


**Gambar 2. Kurva Persentase Inhibisi Standar Trolox dengan metode DPPH**

IC50 merupakan konsentrasi antioksidan yang mampu menghilangkan sifat radikal 50%. Penelitian dari Prabawa dkk. (2023) menunjukkan ekstrak kayu secang mengandung antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC50 sebesar 55,018  $\mu\text{g/mL}$ , dikarenakan menurut Molyneux dkk. (2018) sampel dengan nilai IC50 di bawah 50 mg/L tergolong antioksidan sangat kuat, sedangkan sampel dengan nilai IC50 antara 50 – 100  $\mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan kuat, dan yang mempunyai nilai IC50 sebesar 100 – 150  $\mu\text{g/mL}$  tergolong dalam antioksidan sedang. Penelitian lain dari Setiawan dkk. (2018) didapatkan nilai IC50 yaitu 101,80  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan dengan trolox yang memiliki nilai IC50 76,19  $\mu\text{g/mL}$ . Dalam pengujian ini, ekstrak kayu secang menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan dengan nilai IC50 yang hampir setara dengan trolox sebagai standar perbandingan.

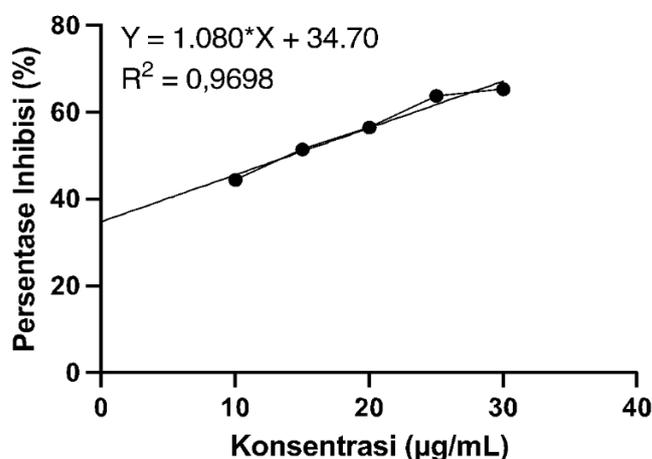
### Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Kayu Secang dengan metode FRAP

#### Data FRAP



Gambar 3. Kurva Persentase Inhibisi FRAP dengan Ekstrak Kayu Secang

#### TROLOX FRAP



Gambar 4. Kurva Persentase Inhibisi Standar Trolox dengan Metode FRAP

Penelitian dari Setiawan dkk. (2018) menunjukkan hasil yang mendukung penelitian ini dengan metode FRAP didapatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 11,34 µg/mL dan IC<sub>50</sub> trolox sebesar 11,04 µg/mL. Hal ini menjelaskan bahwa ekstrak kayu secang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> mendekati trolox yaitu kurang dari 50 µg/mL. Penelitian lain dari Febryan dkk. (2021) menyatakan bahwa IC<sub>50</sub> pada ekstrak kayu secang berada pada angka 13,99 µg/mL.

### **Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Pertama, penelitian hanya dilakukan dengan metode uji in vitro sehingga hasilnya belum dapat langsung diaplikasikan pada kondisi biologis in vivo. Untuk memahami efektivitas antioksidan kayu secang pada organisme hidup, diperlukan uji lebih lanjut, seperti uji in vivo atau uji klinis. Kedua, ekstraksi menggunakan metode perkolasi dengan metanol mungkin hanya mengekstrak senyawa tertentu, sehingga tidak semua komponen aktif potensial dapat diisolasi. Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi lain seperti sokletasi atau ekstraksi superkritikal dapat memberikan hasil yang lebih menyeluruh. Ketiga, penelitian ini terbatas pada pengujian dengan metode DPPH dan FRAP. Penggunaan metode lain, seperti ABTS atau ORAC, akan membantu memperoleh pemahaman lebih lengkap mengenai kapasitas antioksidan ekstrak kayu secang.

Dengan mempertimbangkan keterbatasan ini, penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan uji lanjutan menggunakan metode pengujian lain dan memvalidasi temuan ini melalui uji in vivo agar hasil penelitian lebih aplikatif untuk pengembangan produk kesehatan berbasis antioksidan dari kayu secang.

### **Kesimpulan**

Setelah melakukan berbagai penelitian dengan metode yang berbeda, maka dapat disimpulkan bahwa penelitian dengan judul “Skrining Fitokimia dan Uji Kapasitas Total Antioksidan (Metode DPPH, FRAP, dan ABTS) pada Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)” sebagai berikut: Hasil uji DPPH pada Ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) didapatkan kapasitas antioksidan dalam IC<sub>50</sub> sebesar 99,996 µg/mL termasuk antioksidan kuat. Hasil uji FRAP pada Ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) didapatkan kapasitas antioksidan dalam IC<sub>50</sub> sebesar 24,853 µg/mL termasuk antioksidan sangat kuat.

Temuan ini mendukung penggunaan kayu secang sebagai bahan alami yang dapat membantu melawan stres oksidatif, yang merupakan faktor penyebab berbagai penyakit kronis seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, dan kanker. Implikasi praktis dari penelitian ini adalah bahwa kayu secang memiliki prospek untuk dikembangkan sebagai suplemen atau bahan pengawet alami dalam industri kesehatan dan pangan. Namun, diperlukan penelitian lanjutan, termasuk uji in vivo, untuk memastikan keamanan dan efektivitasnya dalam aplikasi sehari-hari. Hasil ini memperkuat potensi kayu secang

sebagai sumber antioksidan alami yang dapat mendukung kesehatan dan kesejahteraan masyarakat.

### Daftar Pustaka

- Arini, P. S. (2023). *Potensi Ekstrak N-Heksan Kopi Robusta (Coffea Canephora) Lampung Sebagai Antioksidan dan Antibakteri Terhadap Bakteri (Staphylococcus Aureus) dan (Pseudomonas aeruginosa)*.
- Brahmanta, A. (2021). *Potensi Terapi Hiperbarik Oksigen Dalam Ortodonti: Percepatan Pergerakan Gigi*. Airlangga University Press.
- Febryan, D., Aryani, R., & Hidayat, A. F. (2021). Kajian Pustaka Metode Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan Pemanfaatannya dalam Sediaan Lip Balm. *Prosiding Farmasi*, 821–828.
- Hadi, K., Setiami, C., Azizah, W., Hidayah, W., & Fatisa, Y. (2023). Kajian Aktivitas Antioksidan Dari Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.). *Photon: Jurnal Sain dan Kesehatan*, 13(2), 48–59. <https://doi.org/10.37859/jp.v13i2.4552>
- Hertika, A. M. S., & Putra, R. B. D. S. (2019). *Ekotoksikologi untuk Lingkungan Perairan*. Universitas Brawijaya Press.
- Isfandary, M. G., Suhartono, E., & Fakhurrazy, F. (2021). Literature Review: Korelasi Kadar Glukosa dengan Kadar Karbonil pada Lansia yang Memiliki Diabetes. *Homeostasis*, 4(3), 685–696.
- Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., & Nurhikma, E. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca sapientum*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(1), 33–38. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i1.22>
- Li, Y. R., & Trush, M. (2016). Defining ROS in Biology and Medicine. *Reactive Oxygen Species*, 1(1). <https://doi.org/10.20455/ros.2016.803>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(1). <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP). *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- Shankar, K., & Mehendale, H. M. (2014). Oxidative Stress. Dalam *Encyclopedia of Toxicology* (hlm. 735–737). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00345-6>
- Syamsunarno, M. R. A., Safitri, R., & Kamisah, Y. (2021). Protective Effects of *Caesalpinia sappan* Linn. and Its Bioactive Compounds on Cardiovascular Organs. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.725745>
- Warinhomhaun, S., Sritularak, B., & Charnvanich, D. (2018). A simple high-performance liquid chromatographic method for quantitative analysis of brazilin in *Caesalpinia*

sappan L. extracts. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(4), 208–213.  
<https://doi.org/10.56808/3027-7922.2369>

Yosafat, F., & Ferdinal, F. (2023). Ekstrak Daun Sembung (*Blumea Balsamifera*) Profil Sidik Jari Dengan Hptlc, Kapasitas Antioksidan, Uji Toksisitas dan Kadar Metabolit Sekunder. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(3), 2494–2501.  
<https://doi.org/10.31004/jkt.v4i3.17106>