

Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Kecipir Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH)

Nurhaida Widiani^{1*}, Putri Irma¹, dan Marlina Kamelia²

¹Pendidikan Biologi, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, UIN Raden Intan Lampung

² Biologi, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, UIN Raden Intan Lampung

*corresponding author: nurhaidawidiani@radenintan.ac.id

Article Info

Article History

Received : 2 Juli 2022

Revised : 4 November 2022

Published : 23 November 2022

*Correspondence email:
nurhaidawidiani@radenintan.ac.id

ABSTRACT

*The fruit of *Psophocarpus tetragonolobus* L thought to have an antioxidant activity such as seeds and leaves. Ethanol extract from winged bean contains saponins, flavonoids, polyphenols, steroids, and terpenoids. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of winged bean fruit using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). The antioxidant activity test of winged bean extract was carried out at concentrations of 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, and 150 ppm. Added with DPPH (50 ppm) of winged bean extract. Vitamin C was used as a positive control. Absorbance measurement to determine the antioxidant activity of winged bean using a UV-Vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 517 nm. The results of this study obtained a qualitative color change in both the winged bean extract and vitamin C. The IC₅₀ value winged bean extract was 98.3229 ppm and included strong antioxidant activity based on the Blois classification.*

Keyword: Antioxidants, DPPH, *Psophocarpus tetragonolobus* L.

ABSTRAK

Buah kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L) diduga memiliki aktivitas antioksidan seperti halnya biji dan daunnya. Ekstrak etanol dari buah kecipir mengandung saponin, flavonoid, polifenolat, steroid dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah kecipir dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Ekstrak buah kecipir didapat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah kecipir dilakukan

pada konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm. Ekstrak buah kecipir ditambah dengan DPPH (50 ppm). Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Pengukuran absorbansi untuk mengetahui aktivitas antioksidan buah kecipir menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Hasil penelitian ini didapatkan perubahan warna secara kualitatif baik pada ekstrak buah kecipir dan vitamin C. Nilai IC₅₀ ekstrak buah kecipir senilai 98,3229 ppm dan termasuk memiliki aktivitas antioksidan kuat.

Kata Kunci: Antioksidan, DPPH, *Psophocarpus tetragonolobus* L.,

PENDAHULUAN

Polusi lingkungan dapat menyebabkan peningkatan jumlah radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga bersifat sangat reaktif. Peningkatan jumlah radikal bebas yang berlebihan dapat merusak sel tubuh yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif seperti penuaan dini, katarak, rematik, penyakit jantung koroner dan liver (Rifai et al., 2018).

Radikal bebas dapat dinetralkan dengan penggunaan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah proses oksidasi dengan menyumbangkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas. Di dalam tubuh sudah terdapat antioksidan endogen yang berperan sebagai pertahanan tubuh awal. Antioksidan endogen diantaranya superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion peroksidase (GPx) (Wijaya, 2011). Akan tetapi antioksidan ini tidak dapat menetralkan radikal bebas yang berlebihan, sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh. Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan.

Kecipir merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung antioksidan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Masaenah dkk (2019) diketahui bahwa ekstrak etanol 70% daun kecipir mengandung aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa penapisan fitokimia ekstrak buah kecipir mengandung flavonoid, polifenolat, steroid dan juga terpenoid (Nurmala, 2018). Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96% buah kecipir.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus, di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, blender, ayakan, neraca analitik, *vacum rotary evaporator*, pipet volum, sendok zat, cawan petri, corong kaca, gelas kimia, gelas ukur, aluminium

foil, vortex, dan spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kecipir yang berwarna hijau yang diperoleh dari holti park. Bahan lainnya ialah etanol, air aquades, DPPH, Vitamin C.

Cara Kerja

Pembuatan Simplisia

Buah kecipir dipisahkan dengan bijinya, diiris tipis-tipis, dikering anginkan dan dioven dengan suhu 40°C sampai buah kering dan mampu diremah. Setelah kering buah kecipir dihaluskan dengan blender dan diayak sampai diperoleh tepung.

Ekstraksi Buah Kecipir

Sebanyak 50 gram tepung buah kecipir dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% hingga serbuk simplisia terendam, selanjutnya dibiarkan selama 3-4 hari. Ekstrak kental yang telah didapatkan lalu diuapkan dengan menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol kering.

Pembuatan Larutan Sampel

Larutan stok 500 ppm dibuat dengan melarutkan ekstrak etanol buah kecipir sebanyak 5 mg dan kedalam etanol dan dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Kemudian buat larutan sampel 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 150 ppm.

Pembuatan larutan DPPH 50 ppm

DPPH sebanyak 5 mg ditimbang dan dilarutkan dengan 100 ml metanol absolut dalam labu tentukur.

Pembuatan larutan vitamin C

Asam askorbat sebanyak 5 mg ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan

dengan menggunakan etanol dan ditepatkan volumenya hingga tanda batas. Selanjutnya ambil masing-masing larutan tersebut sebanyak 0,4 ml, 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml lalu diencerkan kembali dengan etanol dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Pengukuran sampel blanko dilakukan dengan memipet 2 ml etanol dan 2 ml DPPH 50 ppm. Kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap, ukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pengukuran ekstrak etanol buah kecipir dilakukan dengan mengambil masing-masing sampel dengan berbagai konsentrasi diambil menggunakan pipet mikro sebanyak 2 ml kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml DPPH. Kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap, serapannya diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pengukuran sampel pembanding asam askorbat dilakukan dengan memipet 2 ml larutan asam askorbat dari berbagai konsentrasi kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml DPPH, divortex, dan diinkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap. Serapannya diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH.

Analisis Data

Aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dapat diketahui melalui perhitungan persentasi inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Purwanto *et al.*, 2017):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. Blanko} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Blanko : Absorban DPPH 100 ppm

Abs. Sampel : Absorbansi Sampel Uji

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*). Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Menurut Scherer dan Helena (2009), nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI) ditentukan dengan cara membagi konsentrasi DPPH yang digunakan (ppm) dengan nilai IC_{50} yang diperoleh (ppm).

Tabel 1 Sifat antioksidan berdasarkan IC_{50}

Nilai IC_{50}	Aktivitas Antioksidan
< 50 ppm	Sangat kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah

HASIL DAN PEMBAHASAN

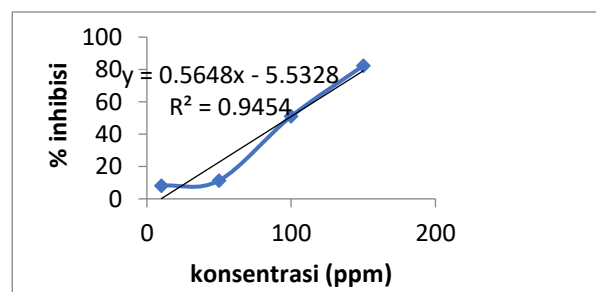
Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah kecipir diuji dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Hasil uji aktivitas antioksidan secara kualitatif menunjukkan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Berdasarkan hasil penelitian semakin tinggi konsentrasi larutan ekstrak buah kecipir makin pudar warna ungu yang dihasilkan. Semakin pudar warna ungu yang dihasilkan maka semakin besar daya peredamannya, sehingga secara kualitatif menunjukkan makin tinggi konsentrasi ekstrak buah kecipir maka antioksidan yang dihasilkan oleh larutan uji semakin tinggi (Kurniawan *et al.*, 2017).

Pengukuran kualitatif selanjutnya perlu dikonfirmasi secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dan persen inhibisi dari ekstrak buah kecipir dan pembandingnya yaitu vitamin C dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai absorbansi dan persen inhibisi ekstrak buah kecipir dan vitamin C

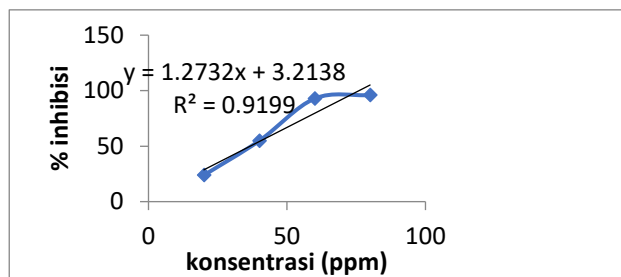
No	Sampel	Konsentrasi	Nilai absorbansi	% inhibisi
1	Ekstrak buah kecipir	10	0.4428	8.189923
		50	0.4275	11.36222
		100	0.2362	51.02633
		150	0.085	82.37611
2	Vitamin C	20	0.3675	23.80261
		40	0.2179	54.82065
		60	0.0344	92.86751
		80	0.0193	95.99834

Berdasarkan tabel 2 terlihat bahwa semakin besar konsentrasi semakin kecil nilai absorbansi dan semakin besar persen inhibisi. Data ini kemudian dibuat persamaan garis regresi linier gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Persamaan regresi linier ekstrak buah kecipir

Gambar 1 menunjukkan persamaan regresi linier membentuk garis lurus $y = 0,5648x - 5,5328$ dengan nilai $r = 0,9454$. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar pula persen inhibisi.



Gambar 2. Persamaan regresi linier vitamin C

Hubungan antara konsentrasi (ppm) dan persen inhibisi pada vitamin C menghasilkan persamaan regresi linier $y = 1,2732x + 3,2138$ dengan $r = 0,9199$. Semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula persen inhibisi. Nilai persen inhibisi merupakan kemampuan senyawa dalam meredam radikal bebas. Dari persamaan linier dapat dihitung nilai IC_{50} .

Tabel 3. Nilai IC_{50} buah kecipir dan vitamin C

No.	Bahan	Nilai IC_{50} (ppm)	Aktivitas antioksidan
1	Ekstrak buah kecipir	98,3229	Kuat
2	Vitamin C	36,7469	Sangat kuat

Nilai IC_{50} merupakan hasil konsentrasi efektif dari ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH (Tristantini *et al.*, 2016). Hasil perhitungan IC_{50} menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan buah kecipir tidak lebih baik dari vitamin C

PEMBAHASAN

Uji aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak etanol buah kecipir dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dengan mengamati perubahan warna pada sampel yang berupa ekstrak etanol buah kecipir dan vitamin C yang digunakan sebagai pembanding. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang memiliki aktivitas

antioksidan sangat kuat. Warna DPPH awal ialah ungu, ketika ditambahkan larutan sampel warna ungu memudar menjadi kuning. Perubahan warna terjadi karena Elektron yang tidak berpasangan dari DPPH berpasangan dengan atom hidrogen yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan (Ferdinand dan Abdi, 2018). Hal ini mengindikasikan telah terjadinya reaksi peredaman radikal bebas. Sampel yang mengandung senyawa antioksidan akan menunjukkan adanya perubahan warna. Semakin pudar warna DPPH maka semakin tinggi kadar antioksidan didalam sampel (Jothy, 2011). Hasil penelitian pada sampel buah kecipir menunjukkan warna ungu DPPH baru hilang secara keseluruhan pada konsentrasi 150 ppm, sedangkan pada pembanding vitamin C warna DPPH sudah hilang pada konsentrasi 60 ppm.

Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Dari hasil perhitungan didapatkan nilai IC_{50} ekstrak etanol buah kecipir sebesar 98,3229 yang artinya memiliki aktivitas antioksidannya kuat. Nilai IC_{50} vitamin C sebesar 36,7469 yang artinya memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.

Aktivitas antioksidan pada buah kecipir diduga karena pada ekstraknya terdapat senyawa flavonoid. Hal ini didukung oleh penelitian Nurmala (2018) yang menyatakan bahwa ekstrak buah kecipir mengandung senyawa flavonoid, polifenolat, steroid dan terpenoid. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik, yaitu senyawa dengan gugus OH yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik. Senyawa fenolik mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal bebas dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil (Handayani, 2014). Semakin banyak gugus hidroksil yang dimiliki, maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Maanari, 2014).

Proses ekstraksi buah kecipir dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Flavonoid memiliki sifat polar dan pelarut etanol memiliki sifat polar. Berdasarkan penelitian sebelumnya pelarut etanol efektif dalam menarik

senyawa bioaktif yang bersifat polar seperti flavonoid (Nurmala, 2018).

Berdasarkan penelitian diketahui bahwa buah kecipir cukup berpotensi sebagai antioksidan yang dapat mencegah reaksi oksidasi radikal bebas dalam tubuh. Reaksi oksidasi dapat terjadi setiap saat. Reaksi ini dapat membentuk radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat merusak struktur serta fungsi sel. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat dengan antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Antioksidan akan bereaksi dengan oksidan untuk menghambat oksidasi pada sel-sel tubuh (Sayuti dan Rina, 2015)

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan perubahan warna secara kualitatif baik pada ekstrak buah kecipir dan vitamin C. Nilai IC₅₀ ekstrak buah kecipir senilai 98,3229 ppm dan termasuk memiliki aktivitas antioksidan kuat.

REFERENSI

- Chaleb P. Maanari, Edi S, Julius P. 2014. Aktivitas Penangkal Radikal Hidroksil Fraksi Flavonoid dari Limbah Tongkol Jagung pada tikus Wistar. *Jurnal MIPA UNSRAT Online Vol: 134 - 138*
- Ferdinan A, Abdi BP. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jantung Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca L.*) Pontianak. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. Vol. 3(1), 88 - 96*
- Handayani V, Aktsar RA, Miswati S, 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Journal Pharm Sci Ris, Vol. 1(2): 86 - 93.*
- Jothy, S.L., Zakaria Z, Sreenivasan S. 2011. Phytochemicals Screening, DPPH Free Radical Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of Cassia fistula Seeds Extract. *Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 5 (10): 1941 - 1947.*
- Krisnawan A.H., Ryanto B, Devi R. S, Weilinten S. 2017. Potensi Antioksidan Ekstrak Kulit dan Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus Lemon*) Lokal dan Impor. *Prosiding Seminar Nasional: 30 - 34.*
- Masaenah E, Anna P. R, Devina P. 2019. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% dan Infusa Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC.) Dengan Metode Perendaman Radikal Bebas. *Jurnal Farmamedika Vol. 4(1): 11 - 17.*
- Nurmala, Fetri L, Ratu C. 2018. Potensi ekstrak buah kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus L*) sebagai Anti Osteoporosis dengan Parameter Peningkatan Alkalin Fosfatase pada Tikus Wistar Betina yang Diinduksi Deksametason. *Jurnal ilmiah farmasi farmasyifa. Vol. 1(1): 18 - 25*
- Purwanto D, Syaiful B, dan Ahmad R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnawija (*Kopsia arboera* Blume.) dengan berbagai pelarut. *Jurnal kovalen Vol. 3 (1): 24 - 32.*
- Rifai G, I Wayan RW, Komang AN. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut dan Rasio Bahan dengan Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bjiji Alpukat (*Persea americana Mill.*). *Jurnal ITEPA, VOL. 7(2): 22 - 32*
- Sayuti K dan Rina Y. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press. Padang. Hlm 68

- Scherer R dan Helena TG. 2009. Antioxidant Activity Index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Method. *Journal Food Chemistry* 112: 654–658
- Tristantini D, Alifah I, Bhayangkara TP, Jason GJ. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”.
- Wijaya H dan Lukman J. 2011. Antioksidan: Mekanisme Kerja dan Fungsinya dalam Tubuh Manusia. *Journal of Agro-Based Industry*, Vol. 28 (2).