

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH KUPA (*Syzygium polycephalum*) TERHADAP RADIKAL BEBAS DENGAN METODE DPPH

Trisna Nurmalasari, Sita Zahara, Nisa Arisanti,
Putri Mentari, Yulia Nurbaeti, Tresna Lestari, Ira Rahmiyani
Prodi S1 Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

Abstrak

Gowok atau Kupa (*Syzygium polycephalum*) merupakan buah asli Indonesia. Pada tanaman gowok, umumnya bagian yang dimanfaatkan adalah buahnya. Namun keberadaannya kini mulai langka dan sampai saat ini, penelitian mengenai buah gowok dalam kaitannya sebagai antioksidan belum pernah dilakukan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat direndam. Antioksidan sintetik seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluena), PG (Propil Galat) dan TBHQ (Tert-Butil Hidrokuinon) dapat menyebabkan karsinogenesis, hal ini menyebabkan penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan. Antioksidan alami dalam buah dan sayuran yang memiliki fungsi seperti mencegah berkembangnya radikal bebas di dalam tubuh sekaligus memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak. Tumbuh-tumbuhan diketahui kaya akan antioksidan misalnya vitamin C, beta karoten, Vitamin E, dan flavonoid. Ekstraksi simplisia buah kupa ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif antioksidan dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan pengembang n-heksan : etanol (6:4) untuk daging buah dan etil asetat : methanol (8:2) untuk biji, serta menggunakan penampak bercak 1-1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH) 0,2%. Uji kuantitatif antioksidan buah kupa dilakukan dengan metode DPPH dengan vitamin C sebagai pembanding. Hasil pengujian menunjukkan ekstrak biji buah lebih aktif menunjukkan aktivitas antioksidan dan termasuk kedalam antioksidan sangat kuat (IC_{50} 5,246 ppm) serta ekstrak daging buah termasuk kedalam antioksidan kuat (IC_{50} 60,187 ppm).

Kata kunci : buah kupa, antioksidan, DPPH, *Syzygium polycephalum*

Abstract

Kupa (Syzygium polycephalum) is a fruit native to Indonesia. In plants Kupa, generally part used is fruit. But its existence is now scarce and until recently, the research on fruit kupa in relation as antioxidants has never been done. Antioxidants are chemical compounds that can donate one or more electrons to free radicals, so that these free radicals can be soaked. Synthetic antioxidants such as BHA (butylhydroxyanisole), BHT (Butyl Hydroxy Toluene), PG (Propyl Error) and TBHQ (Tert-Butyl Hydroquinone) can lead to carcinogenesis, this has led to increased use of natural antioxidants. Natural antioxidants in fruits and vegetables that have functions such as preventing the development of free radicals in the body and repair cells damaged tubh. Herbs known to be rich in antioxidants such as vitamin C, beta carotene, vitamin E and flavonoids. Extraction of crude drugs kupa fruit is done by maceration method using ethanol 95%. Test of antioxidant activity qualitatively and quantitatively. Qualitative test of antioxidant with Thin Layer Chromatography using developer n-hexane: ethanol (6: 4) for the pulp and ethyl acetate: methanol (8: 2) to seeds, as well as using penampak spotting 1-1-diphenyl-2 picrylhydrazyl (DPPH) 0.2%. Kupa fruit antioxidants quantitative test performed by DPPH with vitamin C as a comparison. The test results indicate more active seed extract showed antioxidant activity and included into a very powerful antioxidant (IC_{50} 5.246 ppm) as well as fruit pulp extract included into a powerful antioxidant (IC_{50} 60.187 ppm).

Key Word : *Syzygium Fructus*, antioxidants, DPPH, *Syzygium polycephalum*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang sangat luas, mempunyai kurang lebih 35.000 pulau besar dan kecil dengan keanekaragaman jenis flora dan

fauna yang sangat tinggi. Salah satu tanaman yang berkhasiat obat, dikenal dan digunakan oleh masyarakat adalah tanaman buah gowok. Tanaman buah

gowok atau buah kupa diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Pohon buah gowok tumbuh liar terutama di hutan-hutan sekunder, antara ketinggian 200-1800 m dpl.

Selain itu gowok dapat juga ditanam di kebun-kebun pekarangan dan lahan-lahan yang lainnya. Buah gowok ini memang rata-rata yang diambil untuk dimanfaatkan adalah buahnya. Sampai saat ini, penelitian mengenai buah gowok dalam kaitannya sebagai antioksidan belum pernah dilakukan.

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid. Antioksidan sintetik seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol), BHT (Butil Hidroksi Toluen), PG (Propil Galat) dan TBHQ (Tert-Butil Hidrokuinon) dapat menyebabkan karsinogenesis (Amarowicz, R dalam Rohman, A 2005). Hal ini menyebabkan penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan antioksidan alami dalam buah dan sayuran yang memiliki fungsi seperti mencegah berkembangnya radikal bebas di dalam tubuh sekaligus memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak. Tumbuh-tumbuhan diketahui kaya akan antioksidan misalnya vitamin C, beta karoten, Vitamin E, dan flavonoid.

Metode pengujian antioksidan yang paling umum adalah DPPH, metode ini merupakan metode yang sederhana,

cepat, dan mudah untuk screening aktivitas penangkap radikal bebas beberapa senyawa.

Dari uraian-uraian diatas tampak jelas bahwa penelitian ini bermanfaat dalam memberikan kontribusi yang sangat berarti bagi ilmu pengetahuan khususnya farmasi, kimia, dan kedokteran, dan pada tahap selanjutnya juga sangat bermanfaat bagi masyarakat banyak, jika sudah diketahui daya antioksidan yang terkandung dalam buah gowok lebih baik daripada antioksidan lainnya, sehingga dapat dimanfaatkan dalam dunia kesehatan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (pyrex), cawan penguap (pyrex), desikator (pyrex), oven, lampu UV 254 dan UV 366 nm, rotary evaporator (EYELA OSB-2100), spektrofotometri UV-Vis (GENESYS 10S UV-Vis), chamber dan waterbath.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 95%, ammonia, HgCl₂, KI, logam Mg, HCl, amil alcohol, aquadest, gelatin, FeCl₃, NaOH, eter, pereaksi Liebermen Burchard, pereaksi vanillin-asam sulfat, metanol p.a, n-heksan p.a, etanol p.a, dan etil asetat p.a.

Prosedur Penelitian

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit kimia pada sampel meliputi uji alkaloid,

flavonoid, polifenol, tannin, saponin, steroid dan triterpenoid, mono dan seskuiterpenoid, serta kuinon.

Pembuatan Ekstrak Etanol

300 gram simplisia daging buah dan biji buah kupa dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Maserasi dilakukan selama 3 hari, setiap 24 jam dilakukan pergantian pelarut dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Maserat dikumpulkan kemudian ekstrak diuapkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara KLT

Uji pendahuluan diawali dengan mengaktifkan plat KLT pada oven pada suhu 105°C selama 10 menit. Fase diam yang digunakan adalah adalah silika gel GF₂₅₄ dengan panjang 1 x 10 cm dengan jarak elusi 8 cm. Ekstrak dielusi pada fase diam dengan menggunakan fase gerak yang sesuai. Bercak yang terbentuk diamati dengan sinar UV 254, UV 366 nm, dan pereaksi DPPH 0,2%. Senyawa antioksidan akan menunjukkan adanya bercak berwarna kuning dengan latar ungu.

Pengukuran Absorbansi Daya Antioksidan Secara Kuantitatif

Penentuan panjang gelombang maksimal DPPH dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan DPPH tambahkan 1 mL metanol p.a, kemudian ukur serapannya pada panjang gelombang

400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis hingga diperoleh panjang gelombang maksimal dari larutan DPPH.

Dibuat larutan stok ekstrak (daging buah dan biji buah kupa) dan pembanding, kemudian buat variasi konsentrasi. Masing-masing variasi konsentrasi direaksikan dengan DPPH (1:1), inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal DPPH yang telah terukur.

Dari data absorbansi yang diperoleh daya antioksidan dapat diketahui melalui persamaan :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\%$$

Dari nilai %inhibisi dari berbagai konsentrasi larutan sampel, dibuat kurva konsentrasi (C) vs %inhibisi. Lalu dari kurva tersebut dihitung regresinya sehingga dapat dihitung harga IC₅₀ (Inhibitory Concentration= konsentrasi yang dapat menghambat atau meredam 50% radikal bebas) yang dibandingkan dengan standar vitamin C.

HASIL YANG DICAPAI DAN POTENSI KHUSUS

Skrining Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia yang telah dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak daging buah dan biji buah kupa mengandung senyawa-senyawa kimia seperti yang tertera pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia

No	Pemeriksaan Golongan Senyawa	Hasil			
		Daging Buah Kupa		Biji Buah Kupa	
		Simplisia	Ekstrak	Simplisia	Ekstrak
1	Alkaloid	+	+	+	+
2	Flavonoid	+	+	+	+
3	Saponin	-	-	-	-
4	Tanin	+	+	+	+
5	Polifenol	+	+	+	+
6	Kuinon	-	-	+	-
7	Steroid & Terpenoid Monoterpen	+	-	+	+
8	& Sesquiterpen	+	+	+	+

Keterangan : + (positif mengandung senyawa)
 - (negatif mengandung senyawa)

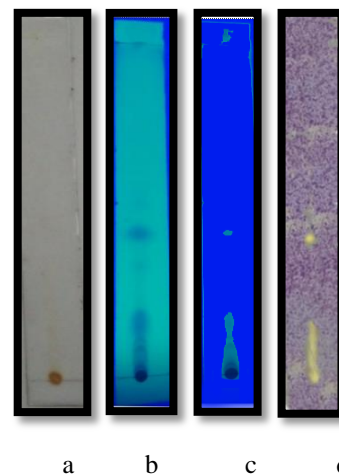
Pembuatan Ekstrak Etanol

Ekstraksi dilakukan terhadap simplisia daging buah dan biji buah kupa menggunakan metode maserasi untuk mempertahankan senyawa yang mudah rusak akibat proses pemanasan, terutama senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Ekstrak etanol daging buah kupa diperoleh dengan rendemen 11,77 % sedangkan biji buah kupa diperoleh dengan rendemen 12,91%.

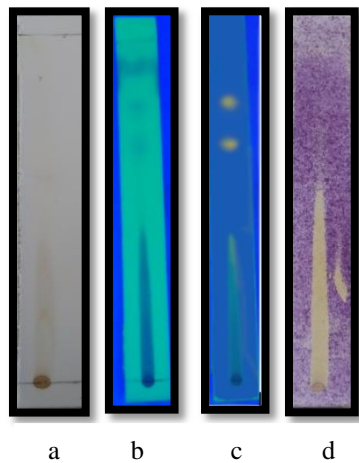
Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan secara KLT

Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sebagai langkah awal untuk mengetahui adanya potensi aktivitas antioksidan pada ekstrak buah kupa. Pemantauan ekstrak dengan KLT ini menggunakan fasa diam silica gel GF₂₅₄ dan eluen dengan campuran pelarut yang berbeda untuk bagian daging buah dan biji buah kupa. Untuk ekstrak etanol daging buah kupa digunakan eluen campuran n-heksan : etanol (6:4), sedangkan untuk ekstrak etanol biji buah

digunakan campuran etil asetat : metanol (8:2). Plat KLT yang telah elusi kemudian disemprot dengan larutan DPPH. Dari masing – masing plat KLT terbentuk bercak berwarna kuning dengan latar ungu, dari hasil pengujian kualitatif ini membuktikan bahwa dari masing – masing ekstrak memiliki potensi sebagai antioksidan.



Gambar 1 Hasil Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 2 Hasil Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Keterangan : (1) = ekstrak etanol daging buah kupa

(2) = ekstrak etanol biji buah kupa

a = sinar tampak

b = Sinar UV λ 254 nm

c = Sinar UV λ 366 nm

d = Setelah disemprot DPPH 0,2%

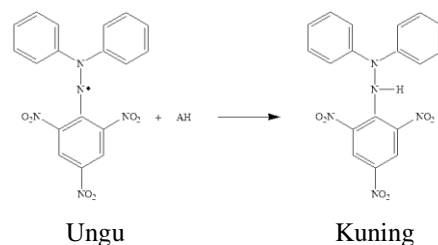
Pengukuran Absorbansi Daya Antioksidan Secara Kuantitatif

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Uji aktivitas ekstrak daging dan biji buah kupa dilakukan terhadap radikal bebas DPPH dan asam askorbat sebagai pembanding. Uji aktivitas antioksidan ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH.

Dari hasil pengukuran serapan maksimum larutan DPPH dalam methanol dengan konsentrasi 50 ppm diperoleh panjang gelombang maksimum 515 nm. Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH didasarkan pada pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum yang

sebanding dengan konsentrasi ekstrak sebagai penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke dalam larutan DPPH.

Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka akan semakin kecil nilai absorbansi yang dihasilkan. Hal ini dapat terjadi karena adanya senyawa aktif di dalam ekstrak buah kupa yang bereaksi sebagai antioksidan akan mereduksi radikal bebas DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan satu atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron, sehingga radikal bebas DPPH akan membentuk senyawa DPPH yang stabil. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan kuat akan memberikan nilai peredaman besar yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang kecil. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari ungu pekat menjadi kuning terang. Terjadinya perubahan warna larutan ini dapat ditunjukkan dengan penurunan serapan dari DPPH pada panjang gelombang maksimum 515 nm.



Gambar 2. Reaksi terbentuknya radikal bebas DPPH menjadi DPPH tereduksi

Untuk menentukan nilai IC_{50} dibuat kurva antara persen peredaman

terhadap konsentrasi ekstrak sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = bx \pm a$.

Data hasil perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Hasil Pengukuran Antioksidan dan Nilai IC_{50} Ekstrak

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Abs	% Peredaman	Regresi linier	IC_{50} (ppm)
Vitamin C	0,5	0,393	48,28	$y = 3,158x + 46,79$ $R^2 = 0,996$	1,0157
	1,5	0,365	51,97		
	2,5	0,345	54,6		
	3,5	0,322	57,5		
	4,5	0,299	60,65		
	5,5	0,269	64,6		
	40	0,424	44,21		
Daging buah	60	0,384	49,47	$y = 0,320x + 30,74$ $R^2 = 0,997$	60,187
	80	0,332	56,31		
	100	0,289	61,97		
	120	0,228	70		
	140	0,185	75,65		
Biji buah	1	0,580	23,68	$y = 6,116x + 17,91$ $R^2 = 0,995$	5,246
	2	0,526	30,78		
	3	0,486	36,05		
	4	0,434	42,89		
	5	0,401	47,23		
	6	0,340	55,26		

Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} ekstrak etanol biji kupa memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dengan nilai IC_{50} sebesar 5,246 ppm dibandingkan dengan ekstrak etanol daging buah sebesar 60,187 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak etanol daging buah kupa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sedangkan ekstrak etanol biji buah kupa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan vitamin C sebagai pembanding. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} vitamin C yaitu 1,0157 $\mu\text{g/mL}$. Apabila dibandingkan dengan nilai IC_{50} masing-masing ekstrak, vitamin C masih memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat.

Potensi Khusus

Dari hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi penelitian-penelitian selanjutnya antara lain untuk pembuatan sediaan farmasi dengan bahan alami yang berkhasiat sebagai obat serta uji aktivitas lainnya, dan menambah pengetahuan masyarakat mengenai khasiat dari buah kupa sebagai antioksidan alami untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daging buah dan biji kupa memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak etanol biji buah kupa termasuk kedalam antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 5,246 ppm. Sedangkan ekstrak etanol daging buah kupa termasuk

kedalam antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 60,187 ppm.

Saran

Senyawa yang menunjukkan aktivitas antioksidan dalam ekstrak masih umum, untuk itu disarankan dilakukan penelitian mengenai identifikasi, penetapan kadar dan isolasi senyawa yang menunjukkan aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, L. H. 2010. *33 Macam Buah-buahan untuk Kesehatan*. Bandung: Alfabeta.
- Anonim. 2012. *Informasi Spesies Gowok*. [Online]. Tersedia: <http://www.plantamor.com/index.php?plant=106>. [6 Maret 2016].
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- _____. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- Farnsworth, N. R. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 55. (3). 225-276.
- Fitriana, W. D. Fatmawati, S. dan Ersam, T. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015). ISBN: 978-602-19655-8-0.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harmita. 2006. *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Hertiani, T. Panatun Nihlati A. dan Rohman, A. 2008. *Daya antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci Boesenbergia pandurata (Roxb.) Schlecht] dengan metode penangkapan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 3. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Jemi, R. dkk. 2010. Sifat Anti Jamur Kayu Kupa (*Syzygium polycephalum* (Mig). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis* 8. (2). ISSN 1693-3834.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2014). *Farmakope Indonesia Edisi V*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Lim, T. K. 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants Volume 3, Fruits*. New York: Springer.
- Mahmoud, I. dkk. 2001. Acylated Flavonol Glycosides from *Eugenia jambolana* Leaves. *Phytochemistry* 58. 1239-1244.

- Marham, S. (2009). *Spektroskopi: Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Miryanti, A. dkk. 2011. *Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis (Gracinia mangostana L.)*. Bandung: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan.
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung: Alfabeta.
- Panji, T. 2012. *Teknis Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Prakash, A. dkk. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories.
- Rohandi, D. dkk, editor. 2005. *Atlas Benih Tanaman Hutan Indonesia*. Bogor: Balai Penelitian Teknologi Pembenihan.
- Silaban, R.A. 2013. *Karakterisasi Simplisia dan Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Coklat (Sargassump polycystum C.A. Agardh) Menggunakan Metode Betakaroten Asam Linoleat*. [Skripsi]. Medan: Prodi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi USU.
- Sudrajat, D.J, editor. 2015. *Trees of The City: Profil Tanaman Hutan untuk Perkotaan Wilayah Jawa Barat, Banten dan DKI Jakarta*. Bogor: Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan.
- Sunarti, S. 2015. *Persebaran Syzygium endemik Jawa*. Prosidium Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia 1. (5). 1093-1098.
- Surarni, T. dkk. 2007. Flavonoid Antioksidan Penangkap Radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus buharol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Majalah Farmasi Indonesia* 18. (3). 111 – 116.
- Trilaksami, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wardana, A. dkk. 2015. *Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Tumbuhan Gowok (Syzygium polycephalum)*. Prosiding Seminar Nasional Kimia. ISBN: 978-602-0951-05-8.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.