

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazil)

Oleh :

Imelda Sari, S.Farm., M.Farm¹

0108038705

Jamaluddin²

1901021003

Universitas Audi Indonesia

Jln. Bunga Ncole Raya, No. 83 Medan Tuntungan

imeldasari88@yahoo.com

ABSTRAK

Kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) merupakan tanaman endemik yang berasal dari Kalimantan Selatan yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 30% dan 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang diperoleh dengan metode ekstraksi sokletasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) secara kualitatif dan kuantitatif dengan kuersetin sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 30% dan 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) secara kualitatif menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang ditandai dengan noda kuning pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,1mM. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif menghasilkan nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration) secara berturut-turut dari ekstrak etanol 30% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.); ekstrak etanol 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.); dan kuersetin adalah 717,01 ppm; 534,69 ppm; dan 2,04 ppm. Ekstrak etanol 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstrak etanol 30% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.).

Kata kunci: Kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.), antioksidan, DPPH, kromatografi lapis tipis (KLT), IC_{50}

Antioxidant activity test of ethanol extract Mundar fruit peel (*Garcinia forbesii* King.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1 - Picrylhydrazil)method

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can counteract free radicals. Mundar rind (*Garcinia forbesii* King.) is endemic plants from South Kalimantan that has the potential antioxidant activity. This research was conducted antioxidant activity test of ethanolic extract 30% and 70% of Mundar rind (*G. forbesii* King.) obtained by soxhlet extraction method. Antioxidant activity test of Mundar rind (*G. forbesii* King.) used the DPPH (2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazil) method qualitatively and quantitatively with quercetin as a positive control. The results of the antioxidant activity test qualitatively of ethanolic extract 30% and 70% of Mundar rind (*G. forbesii* King.) showed antioxidant activity marked with a yellow spot with purple background on kromatogram after sprayed with DPPH solution 0,1mM. The results of the antioxidant activity test quantitatively obtained IC_{50} (Inhibitory Concentration) value respectively of ethanolic extract 30%; ethanolic extract 70%; and quercetin were 717,01 ppm; 534,69 ppm; and 2,04 ppm. The ethanolic extract 70% of Mundar rind (*G. forbesii* King.) had better antioxidant activity than the ethanolic extract 30% of Mundar rind (*G. forbesii* King.).

Keywords: Mundar rind (*G. Forbesii* King.), antioxidant, DPPH, thin layer chromatography (TLC), IC_{50}

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan sel-sel tersebut kehilangan fungsi dan strukturnya. Akumulasi dari kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini (Liochev, 2013).

Efek negatif radikal bebas terhadap tubuh dapat dicegah dengan senyawa yang disebut antioksidan (Halliwell, 2012). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal radikal bebas (Masaki, 2010). Salah satu alternatif antioksidan alami yang cukup potensial adalah kulit buah Mundar atau Manggis Merah (*G. forbesii* King.) yang banyak ditemui di daerah Kalimantan Selatan (Saleh *et al.*, 2003).

Komponen zat aktif yang umumnya terdapat dalam genus *Garcinia* diantaranya *xanthon*, antosianin, tanin, dan senyawa fenolik. Sedangkan pada kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang telah diteliti mengandung flavonoid, asam organik (asam malat, asam tartrat, asam sitrat, dan asam asetat), dan vitamin C (Lako *et al.*, 2007); Randy, 2014); Ningsih *et al.*, 2017). Menurut Ingrid & Herry (2014), ekstrak tanaman yang memiliki senyawa fenolik dan flavonoid bersifat antioksidan yang lebih efektif daripada antioksidan sintetik.

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti ingin melakukan penelitian uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang berasal dari Kalimantan Selatan, karena penelitian aktivitas antioksidan kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang berasal dari Kalimantan Selatan masih belum diteliti.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah DPPH, etanol 30% dan 70%, etil asetat, kuersetin (kontrol positif), metanol p.a, *n*-heksana, plat KLT *silika gel 60 GF₂₅₄*, dan simplisia kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.), yang buahnya diperoleh dari kec. Astambul, Kab. Banjar, Kalimantan Selatan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium, *chumber*, kuvet, lampu UV, neraca analitik, pipa kapiler, *rotary evaporator*, seperangkat alat soxhlet, dan spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan Simplisia

Buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang telah dikumpulkan selanjutnya disortasi basah, kemudian dicuci dengan air yang mengalir. Setelah dicuci, dipisahkan antara bagian kulit buahnya dengan daging buahnya. Kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang telah terpisah dari daging buahnya, kemudian ditimbang, dirajang, dan dikeringkan. Kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang telah kering, dilakukan sortasi kering, ditimbang, kemudian *disimpan* ke dalam wadah yang tertutup baik.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) dibuat menggunakan metode ekstraksi soxhletasi dengan pelarut etanol 30% dan 70%. Simplisia kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) 50 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 30% dan 70% dengan perbandingan volume pelarut (1:5). Ekstrak cair kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) yang telah diperoleh, dikumpulkan dan dipekatan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-45°C sehingga diperoleh ekstrak kental.

Identifikasi Kandungan Kimia

Kandungan kimia yang akan diidentifikasi pada ekstrak kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) adalah alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, triterpenoid/steroid, dan tannin.

Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Mundar dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kulit buah Mundar (*G. forbesii* King) dilarutkan secukupnya dengan pelarut asalnya. Plat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ digunakan sebagai fase diam, eluen yang digunakan sebagai fase gerak yaitu N-Heksan : Etil Asetat (3:7), dan penampak bercak yang digunakan yaitu DPPH 0,1 mM (Ghosal & Mandal, 2012). Bercak pada KLT yang memiliki aktivitas antioksidan akan berubah

warna menjadi warna kuning dengan latar belakang ungu (Kuntorini & Astuti, 2010).

Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Mundar dengan Metode DPPH

DPPH ditimbang lebih kurang 1,98 mg. Lalu, dilarutkan dengan metanol p.a hingga 50 mL, kemudian ditempatkan ke dalam botol gelap. Cukupkan pelarutnya hingga tanda batas, kemudian kocok hingga homogen (Ulfah, 2016). Dipipet 2 mL larutan DPPH (0,1 mM) ke dalam vial Lalu ditambahkan metanol p.a sebanyak 2 mL, dihomogenkan. Kemudian diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit (Ulfah, 2016). Larutan DPPH ditentukan panjang gelombang serapan maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) 450-650 nm (Aminah et al., 2016). Panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan berada panjang gelombang 515 nm. Dipipet 2 mL larutan DPPH (0,1 mM) ke dalam vial. Lalu ditambahkan metanol p.a sebanyak 2 mL dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit (Molyneux, 2004). Serapan larutan blanko diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) 515 nm.

Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Kuersetin dibuat dengan konsentrasi 1.000 ppm. Dari larutan induk tersebut, dibuat beberapa variasi konsentrasi, yaitu 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm sebanyak 10 mL. Masing-masing seri larutan kuersetin diukur sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial. Kemudian masing-masing vial ditambahkan 2 mL larutan metanol p.a dan 2 mL larutan DPPH. Lalu, dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Lalu, diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang (λ) 515 nm.

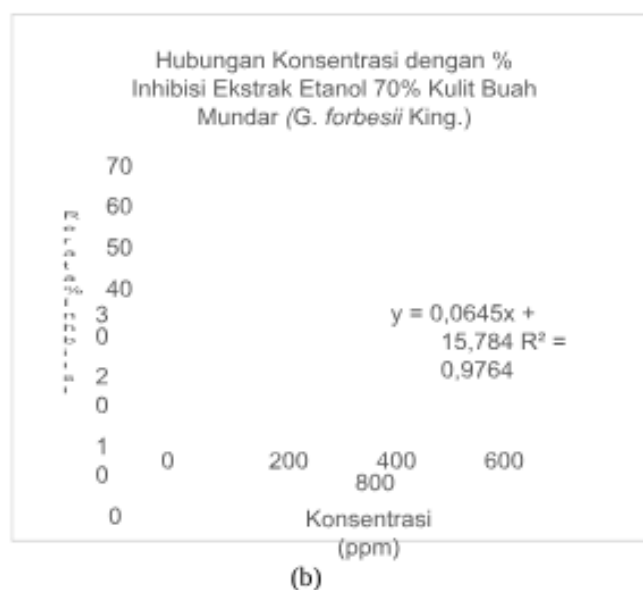
Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Mundar (*G. forbesii* King.)

Ekstrak etanol kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk dibuat seri konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 750 ppm sebanyak 10 mL. Masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam vial. Ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2 mL, dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit (Molyneux, 2004). Lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm.

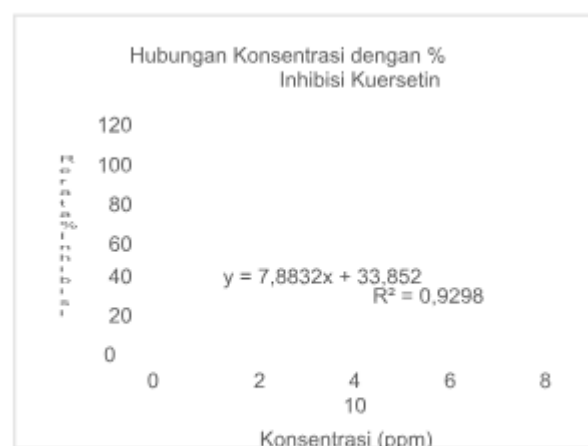
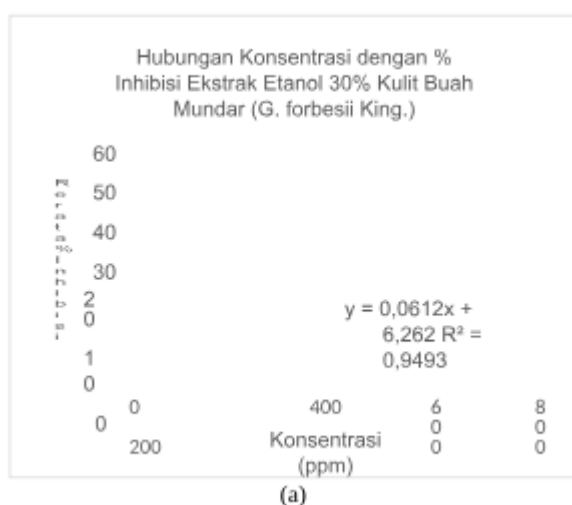
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi kandungan kimia menunjukkan pada kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) baik yang diekstraksi menggunakan etanol 30% maupun etanol 70% memiliki senyawa flavonoid, fenol dan saponin. Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan ekstrak etanol 30% dan 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) memiliki aktivitas antioksidan terlihat pada bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,1mM. yang dapat dilihat pada Gambar 1. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi antara senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen di dalam ekstrak etanol kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) dengan molekul DPPH, sehingga mengakibatkan molekul DPPH tereduksi membentuk DPPH-H (Budilaksono *et al.*, 2014).

Metode DPPH merupakan salah satu metode kuantitatif untuk mengukur aktivitas antioksidan yang terkandung DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine* dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Perubahan warna ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH saat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀.



Gambar 2. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan %
Inhibisi Ekstrak Etanol 30% (a) dan 70%
(b) Kulit Buah Mundar (*G. Forbesii*
King.)



Gambar 3. Kurva Hubungan Konsentrasi dengan %
Inhibisi Kuersetin

Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan DPPH yaitu adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan. Hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol 30% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) sebesar 717,01 ppm, ekstrak etanol 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) sebesar 534,69 ppm, dan kuersetin sebesar 2,04 ppm. Kemampuan aktivitas ekstrak etanol 30% dan 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) dalam menghambat radikal bebas lebih rendah dibandingkan dengan kuersetin. Kuersetin merupakan golongan senyawa flavonoid yang paling banyak terdapat di alam (Pertwi *et al.*, 2016). Perbedaan nilai IC_{50} antara kuersetin dan ekstrak etanol kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) dapat dikarenakan pada ekstrak etanol kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) terdapat zat-zat lain yang dapat mengganggu konsentrasi perendaman terhadap radikal bebas DPPH dan pada saat proses ekstraksi tidak hanya zat-zat atau bahan kimia yang berkhasiat sebagai antioksidan saja yang larut dalam cairan penyari, akan tetapi banyak zat-zat atau bahan kimia lain yang tidak berkhasiat sebagai antioksidan yang ikut larut dalam cairan penyari yang dapat mengganggu konsentrasi perendaman terhadap radikal bebas DPPH.

KESIMPULAN

Simpulan dari penelitian adalah ekstrak etanol 30% dan 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) memiliki aktivitas antioksidan dari hasil uji secara kualitatif yang ditandai dengan timbulnya noda kuning saat disemprot larutan DPPH 0,1 mM. Hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol 30% dan 70% kulit buah Mundar (*G. forbesii* King.) secara berturut-turut adalah 717,01 ppm dan 534,69 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Budilaksono, W., S. Wahdaningsih, & A. Fahrurroji. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 1(1)
- Ghosal, M. & P. Mandal. 2012. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Two Selected "Bihi" Fruits Used as Vegetables in Darjeeling Himalaya. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 4(2).
- Halliwell, B. 2012. Free Radicals and Antioxidant : Updating a Personal View. *Nutrition Review*. 70: 257-265.
- Ingrid, H. M. & S. Herry. 2014. Ingrid, H.M. & S. Herry. 2014. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*).
- Kuntorini, E. & M. D. Astuti. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 4(1): 15-22.
- Lako, J., V. C. Trenerry, M. Wahlqvist, & R. Premier. 2007. Phytochemical Flavonols, Carotenoids and the Oxidant Properties of a Wide Selection of Fijian Fruit, Vegetables and Other readily Available Foods. *Food Chem*. 101: 1727-1741.
- Liochev, S.I. 2013. Reaztive Oxygen Species and the Free Radical Theory of Aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 60: 1-4.
- Masaki, H. 2010. Role of Antioxidants in the Skin : Anti Aging Effects. *Journal of Dermatological Science*. 58: 85-90.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Diphenyl Picrylhdrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar J. Seu Technol*. 26(2) : 211-219.
- Munte, L., M. R. Runtuwene & G. Citraningtyas. 2015. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.). *PHARMACON*. 4(3).
- Ningsih, N., Y. Sedarnawati, & Yuliani S. 2017. Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah dan Kajian Sifat Fungsional Produk enkapsulasinya. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*. 28(1): 27-35.
- Randy, M. 2014. *Kajian Pemanfaatan dan Pengembangan Potensi Ekstrak Manggis Merah (Garcinia forbesii) sebagai Minuman Fungsional Kaya Antioksidan dan Kestabilannya*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.