



Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L)

Dewi Trisnantini^{*1}, Alifah Ismawati², Bhayangkara Tegar Pradana¹, Jason Gabriel
Jonathan²

^{1*}Program Studi Teknik Kimia, FT, Universitas Indonesia, Depok Jawa Barat 16424

²Program Studi Teknologi Bioproses, FT, Universitas Indonesia, Depok Jawa Barat 16424

*E-mail: detris@che.ui.ac.id, alifah11isma@gmail.com

Abstract

Mimusops elengi L is one of the plant from India, Sri Lanka and Burma that have potential as antioxidant which can be used to treat various disease. The main content of the ethanol extract of the leaves *Mimusops elengi* L which have antioxidant activity are quercetin, hentriacontane, and β -carotene which is a source of natural antioxidants. Extraction using reflux method by varying the extraction time 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes, 60 minutes and 75 minutes. The extract of leaves of *M. elengi* were prepared in methanol. The measurement of antioxidant activity carried out using DPPH method. The result showed that the extract ethanol at 45 minutes variety of time extraction have the highest antioxidant activity, with IC₅₀ value were 10,6.

Keywords: Antioxidant, DPPH, IC₅₀, *Mimusops elengi* L, Reflux

Pendahuluan

Penyakit degeneratif merupakan penyakit nomor satu di Asia Tenggara. Berdasarkan data WHO tahun 2008, angka kematian di Asia Tenggara sekitar 14,5 juta, sekitar 55% (7,9 juta) disebabkan oleh penyakit degeneratif. Angka kematian akibat penyakit ini diprediksi akan meningkat 21% pada tahun 2018 (WHO, 2011). Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya.

Radikal bebas bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yakni cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memulai reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh. (Badarinath et al., 2010). Radikal bebas dapat diatasi dengan penggunaan antioksidan. (Mandal et al., 2009).

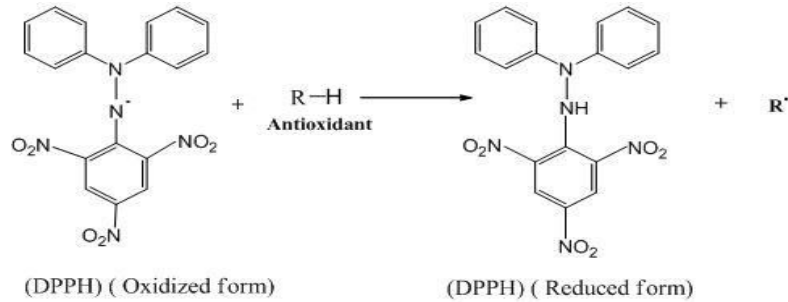
Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal maupun berasal dari asupan luar tubuh. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan senyawa yang disintesis secara kimia. Salah satu sumber senyawa antioksidan adalah tanaman dengan kandungan senyawa polifenol yang tinggi.

Salah satu tanaman yang mengandung senyawa polifenol adalah tanaman tanjung (*Mimusops elengi* L.). Tanjung berasal dari India dan kini tersebar di berbagai wilayah Indonesia. Secara tradisional, tanjung telah digunakan untuk mengobati penyakit cacingan (anthelmintik), demam (antipiretik), radang (antiinflamasi), maag (antiulcer), masalah gigi dan gusi (antikaries), diabetes, hipertensi, diare, disentri, kanker, dan masalah kesuburan (Dar, Behbahanian, Malik, & Jahan, 1999). Tanjung juga memiliki fungsi sebagai zat astringen, zat tonik, antibakteri, antifungal, antidiuretik, antidot, dan antitoxin (Ali, Mozid, Yeasmin, Khan, & Sayeed, 2008). Efek tersebut disebabkan oleh kemampuan senyawa antiradikal bebas dalam jumlah yang cukup tinggi di dalamnya.

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. (Vanselow, 2007).

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Prayoga, 2013).





Gambar 1. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan(Sumber : pubs.rsc.org)

Nilai konsentrasi efektif merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat 50% oksidasi. Perhitungan nilai konsentrasi efektif atau IC50 menggunakan rumus (1) sebagai berikut:

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan :

A_c = Nilai absorbansi kontrol

A = Nilai absorbansi sampel

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200).Semakin kecil nilai IC50 semakin tinggi aktivitas antioksidan. (Badarinath, 2010).

Metode Penelitian

Pengujian aktivitas antioksidan dari daun *Mimusops elengi* dilakukan melalui beberapa tahapan penelitian yang meliputi : penyiapan bahan, pembuatan ekstrak, dan uji aktivitas antioksidan ekstrak.

1. Penyiapan Alat dan Bahan

a. Alat

Tabel 1. Daftar alat percobaan

No	Nama Alat	Kegunaan
1	Ember	Menampung daun ketika proses pencucian dan setelah pencucian
2	Sikat	Membantu melepaskan kotoran yang menempel pada daun
3	Nampan	Wadah untuk meletakkan daun ketika proses pengeringan
4	Blender	Menghaluskan daun menjadi serbuk simplisia
5	Saringan	Alat untuk memisahkan tulang daun dengan daun serta menyeragamkan ukuran partikel simplisia
6	Toples	Sebagai tempat menyimpan serbuk simplisia
7	Labu leher tiga	Sebagai wadah ekstraksi refluks
8	Kondenser	Sebagai pendingin uap ketika ekstraksi
9	Heating mantle	Sebagai pemanas ketika ekstraksi
10	Statip	Sebagai penopang alat ekstraksi
11	Klem	Sebagai penjepit kondensor pada statip
12	Sumbat karet	Sebagai penutup mulut labu ketika ekstraksi
13	Alat rotary evaporator	Sebagai pemisah antara ekstrak dengan pelarut
14	Waterbath	Sebagai alat untuk menguapkan ekstrak
15	Vial 10 ml	Sebagai wadah sampel uji
16	Botol coklat 200 ml	Sebagai wadah ekstrak
17	Gelas beaker 300 ml	Sebagai alat ukur untuk volume pelarut
18	Spatula	Sebagai pengaduk
19	Kertas saring	Sebagai penyaring ekstrak
20	Neraca digital	Sebagai alat untuk menentukan massa
21	Vial 30 ml	Sebagai wadah larutan induk
22	Labu takar 100 ml	Sebagai alat untuk pengenceran DPPH, sampel uji, dan sampel pembanding



<i>Lanjutan</i>		
No	Nama Alat	Kegunaan
23	Labu takar 10 ml	Sebagai alat untuk pengenceran larutan induk sampel uji dan sampel perbandingan
24	Labu takar 5 ml	Sebagai alat untuk pengenceran sampel uji dan sampel perbandingan dalam pembuatan variasi konsentrasi
25	Mikropipet	Sebagai alat pemindah larutan dengan skala tertentu
26	Aluminium foil	Sebagai pembungkus labu takar dan vial ketika pengujian DPPH
27	Inkubator	Sebagai alat inkubasi

b. Bahan

Tabel 2. Bahan Percobaan

No	Nama Bahan	Kegunaan
1	Air mengalir	Membersihkan kotoran yang menempel pada daun
2	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil	Radikal bebas sebagai penguji antioksidan
3	Ethanol 96 %	Pelarut untuk ekstraksi
4	Ethanol Pro Analysis	Pelarut untuk membantu melepaskan ekstrak yang menempel pada labu evaporator
5	Methanol Pro Analysis	Pelarut untuk sampel uji
6	Daun <i>Mimusops elengi</i>	Bahan uji

2. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 4,25 gram serbuk simplisia di ekstraksi dengan metode refluks menggunakan pelarut etanol 96%. Simplisia di letakkan didalam gelas beaker kemudian ditambahkan 200 ml etanol untuk melarutkan simplisia. Kemudian larutan tersebut di masukkan kedalam labu leher tiga pada alat refluks yang telah dihubungkan dengan kondensor. Kemudian simplisia dipanaskan pada suhu 50°C dengan variasi waktu pengambilan sampel adalah 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan 75 menit.

3. Pengujian Antioksidan

Menyiapkan 5 sampel ekstrak daun tanjung yang memiliki variasi waktu ekstraksi yaitu 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 75 menit. Kemudian membuat larutan induk masing-masing sampel sebesar 100 ppm dengan melarutkan 10 mg ekstrak pada 100 ml metanol PA. Selanjutnya melakukan pengenceran menggunakan pelarut metanol PA dengan membuat variasi konsentrasi yaitu 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm dan 9 ppm pada tiap masing-masing sampel.

Menyiapkan larutan *stock* DPPH 50 ppm. Larutan *stock* DPPH dibuat dengan melarutkan 5 mg padatan DPPH ke dalam 100 ml metanol PA. Kemudian disiapkan larutan perbandingan, yaitu larutan kontrol yang berisi 2 ml metanol PA dan 1 ml larutan DPPH 50 ppm. Untuk sampel uji, disiapkan masing-masing 2 ml larutan sampel dan 2 ml larutan DPPH. Kemudian, di inkubasi selama 30 menit pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH. Semua sampel dibuat triplo.

Semua sampel yaitu sampel ekstrak yang telah di inkubasi di uji nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm.

4. Penentuan nilai IC50

Analisis pengujian antioksidan metode DPPH dilakukan dengan melihat perubahan warna masing-masing sampel setelah di inkubasi bersama DPPH. Jika semua elektron DPPH berpasangan dengan elektron pada sampel ekstrak maka akan terjadi perubahan warna sampel dimulai dari ungu tua hingga kuning terang. Kemudian sampel diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Hasil dan Pembahasan

Dari percobaan diambil data-data untuk melakukan pengolahan sehingga data tersebut dapat dianalisa. Teknik pengolahan data dilakukan dengan membandingkan konsentrasi dengan nilai % aktivitas antioksidan masing-masing sampel dalam sebuah grafik regresi. Hasil uji antioksidan menggunakan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 3.





Tabel 3.Data nilai %antioksidan sampel ekstrak daun *Mimusops elengi L*

Absorbansi Kontrol	Sampel Ekstrak Daun <i>Mimusops elengi L</i>						
	Lama Ekstraksi (menit)	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata	% Antioksidan
			data 1	data 2	data 3		
0,645	15	5	0,635	0,633	0,631	0,633	1,86
0,645		6	0,609	0,607	0,605	0,607	5,89
0,645		7	0,574	0,574	0,57	0,573	11,21
0,645		8	0,539	0,533	0,529	0,534	17,26
0,645	30	9	0,507	0,502	0,503	0,504	21,86
0,645		5	0,622	0,621	0,62	0,621	3,72
0,645		6	0,596	0,594	0,593	0,595	7,83
0,645		7	0,567	0,565	0,56	0,564	12,55
0,645	45	8	0,521	0,52	0,519	0,520	19,38
0,645		9	0,473	0,468	0,47	0,470	27,08
0,645		5	0,493	0,495	0,493	0,494	23,46
0,645		6	0,482	0,488	0,481	0,483	25,01
0,645	60	7	0,457	0,457	0,456	0,457	29,19
0,645		8	0,424	0,425	0,425	0,425	34,16
0,645		9	0,356	0,355	0,357	0,356	44,82
0,645		5	0,595	0,587	0,591	0,591	8,37
0,645	75	6	0,561	0,561	0,562	0,561	12,97
0,645		7	0,541	0,541	0,54	0,541	16,18
0,645		8	0,51	0,521	0,5	0,510	20,88
0,645		9	0,494	0,492	0,493	0,493	23,57
0,645	75	5	0,57	0,571	0,572	0,571	11,47
0,645		6	0,559	0,558	0,559	0,559	13,39
0,645		7	0,545	0,547	0,544	0,545	15,45
0,645		8	0,539	0,528	0,537	0,535	17,11
0,645		9	0,511	0,519	0,514	0,515	20,21

Data pada Tabel 3 diregresi dengan variasi konsentrasi sebagai nilai x dan %antioksidan sebagai nilai y sesuai dengan variasi waktu.

Dari Gambar 2 yang telah diplot, didapat persamaan garis seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4. Dari persamaan tersebut digunakan untuk mencari konsentrasi efektif ekstrak untuk meredam radikal bebas DPPH atau nilai IC50.

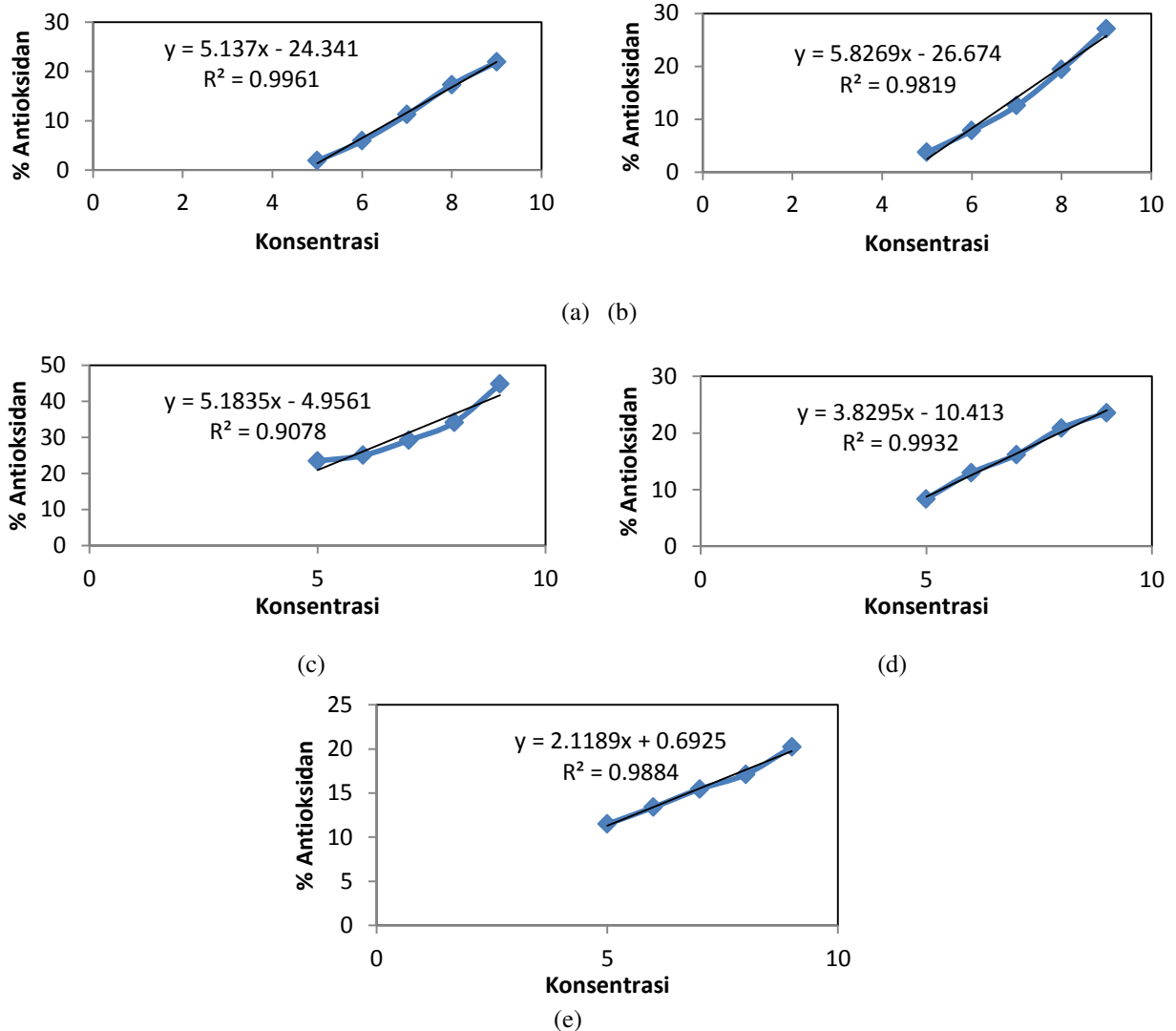
Tabel 4. Nilai IC50 sampel ekstrak daun *Mimusops elengi L*

Waktu Ekstraksi	Persamaan garis	Nilai Y	Nilai x atau IC50
15 menit	$y = 5,137x - 24,341$	50	14,47
30 menit	$y = 5,8243x - 26,651$	50	13,16
45 menit	$y = 5,1835x - 4,9561$	50	10,6
60 menit	$y = 3,8295x - 10,413$	50	15,775
75 menit	$y = 2,1189x + 0,6925$	50	23,27

Nilai IC50 merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y. Setelah mensubstitusikan nilai 50 pada nilai y, akan didapat nilai x sebagai nilai IC50.

Berdasarkan Tabel 4, nilai IC50 dari seluruh sampel uji variasi waktu ekstraksi menunjukkan nilai IC50 kurang dari 50. Sesuai dengan parameter nilai IC50 pada tabel 5, ini menunjukkan bahwa daun tanjung merupakan antioksidan yang sangat kuat (nilai IC50 <50). Untuk variasi waktu ekstraksi, pada waktu ekstraksi 45 menit menunjukkan nilai IC50 tertinggi yaitu 10,6.





Gambar 2. Kurva hubungan %aktivitas antioksidan terhadap konsentrasi sampel daun *Mimusops elengi* L dengan variasi waktu (a) 15 menit (b) 30 menit (c) 45 menit (d) 60 menit (e) 75 menit

Tabel 5. Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC50 (Sumber : molyneux, 2004)

Nilai IC50	Sifat Antioksidan
50 ppm <	Sangat kuat
50 ppm-100 ppm	Kuat
100 ppm-150 ppm	Sedang
150 ppm-200 ppm	lemah

Perbedaan nilai IC50 ini dapat disebabkan oleh jumlah antioksidan yang terkandung didalam ekstrak. Pada variasi waktu 60 menit dan 75 menit terjadi penurunan nilai IC50. Hal ini terjadi akibat kerusakan antioksidan didalam ekstrak yang dipengaruhi oleh lamanya waktu kontak antara zat aktif dengan pelarut yang suhunya semakin meningkat akibat pemanasan yang lama.

Kesimpulan

Ekstrak daun *Mimusops elengi* Lyang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi atau bernilai IC50 terendah adalah daun *Mimusops elengi* Lyang di ekstraksi dengan variasi waktu 45 menit yaitu sebesar 10,6.



Daftar Pustaka

- Adi G. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak dan Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Sempur Air (*Dillenia indica*) dengan Ekstraksi Soxhlet. Skripsi. Departemen Teknik Kimia. Universitas Indonesia. 2007
- Ali MA, Mozid MA, Yeasmin MS, Khan AM, & Sayeed MA. An Evaluation of Antimicrobial Activities of *Mimusops elengi* Linn. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 2008: 871-874.
- Anonim. Noncommunicable Diseases in the South-East Asia Region. *World Health Organization Regional Office for South-East Asia*. 2011.
- Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, & Gnanaprakash K. A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2010: 1276-1285.
- Bharat G, Smita P, & Minoo P. Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological review of *Mimusops*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2012: 743-748.
- Dar A, Behbahanian S, Malik A, & Jahan N. Hypotensive effect of the methanolic extract of *Mimusops elengi* in normotensive rats. *Phytomedicine* 1999; 6(5): 373-378.
- Faty L. Ekstraksi Senyawaan Bioaktif Daging Buah Sempur Air (*Dillenia Indica*) dengan Pelarut Polar (Uji Aktivitas Antioksidan). *Departemen Teknik Gas dan Petrokimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia*. 2004.
- Geankoplis CJ. *Transport Process and Unit Operation*. Massachusetts: Allyn and Bacon Inc. 1983.
- Harmita. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA-UI. 2006.
- Hernani, & Raharjo, M. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadya. 2005.
- Kanchan LS, Priya S, Shiv K, Singh DK., Singh VK. *Mimusops elengi* Linn. (Maulsari): a potential medicinal plant. *Archives of Biomedical Science*. 2014.
- Mandal S, Yadav S, Nema R. Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2009: 102-104.
- Marxen K, Vanselow KH, Lippemeier S, Hintze R. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*. 2007.
- Md Nur A, Nusrat, B, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2012.
- Prasad VK, Kavita NY, Ramesh SD, Rakesh SS, Patil MJ. *Mimusops elengi*: A Review on Ethnobotany, Phytochemical. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014.
- Prayoga G. Fraksinasi, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour). *Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia*. 2013.
- Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant. *molecules*. 2009.
- Treyball RE. *Mass-Transfer Operation*. Singapore: McGraw Hill Book Company, 1981.





Lembar Tanya Jawab

Moderator : Ratna Frida Susanti (Universitas Parahyangan)

Notulen : Retno Ringgani (UPN "Veteran" Yogyakarta)

1. Penanya : Resti (UPN)
Pertanyaan : 1. Latar Belakang Penelitian ini apa?
2. Bagaimana Penyimpanan Polifenol?
Jawaban : 1. Berawal dari jamu tradisional
2. Hanya dikeringkan saja (Perlu diteliti lebih lanjut).

2. Penanya : Yuliusman (UI)
Pertanyaan : 1. Variabel parameter lain ada tidak?
2. Bagaiman kriteria umur daun yang cocok?
Jawaban : 1. Bisa dengan variabel konsentrasi.
2. Daun yang cukup besar ukurannya 4 – 10 cm daun yang matang.

