

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL BUNGA BROKOLI (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) DENGAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan METODE ABTS (2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat)

Fitriyanti Jumaetri Sami¹, Sitti Rahimah¹
¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar
email : fitriyantijumaetri_sami@yahoo.com

ABSTRACT

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan metode ABTS (2,2-Azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). Bunga brokoli diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) dibuat dalam berbagai konsentrasi dan diuji aktivitas antioksidannya. Pada metode DPPH diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 123,698 ppm dan IC₅₀ vitamin C murni sebesar 3 ppm sedangkan pada metode ABTS diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 32,1292 ppm dan nilai IC₅₀ vitamin C murni sebesar 6 ppm.

Kata Kunci : Antioksidan, Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*), metode DPPH dan Metode ABTS

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya seperti lipid, protein maupun DNA (Winarsi, 2007). Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi dari radikal bebas. Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi berantai, menyebabkan kerusakan sel dalam tubuh (Miksusanti dkk, 2012). Sayuran jenis *Cruciferae* (*family Brassicaceae*) merupakan sumber antioksidan yang berlimpah. Salah satu jenis dari *family* tersebut adalah tanaman brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). Selain mengkonsumsi suplemen, cara untuk memenuhi kebutuhan antioksidan yaitu dengan mengkonsumsi sayuran. Brokoli merupakan salah satu jenis sayuran yang memiliki kandungan karotenoid, flavonoid, vitamin A, C, E, tiamin, riboflavin, betakaroten, lutein dan glutathion yang bersifat antioksidan (Jusuf dan Nelva, 2012). Yuliani, (2012), mendapatkan hasil bahwa lutein yang ada pada tanaman brokoli mempunyai antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan kubis, kembang kol dan kecambah. Pada penelitian ini dilakukan pengujian antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). Adanya kandungan zat aktif tersebut maka diperlukan

suatu kajian mengenai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan ABTS.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) terhadap radikal bebas DPPH dan ABTS serta metode yang tepat untuk menentukan aktivitas antioksidan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi antioksidan bunga brokoli kepada masyarakat dan para peneliti selanjutnya.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu bejana maserasi, cawan porselin, gelas ukur, labu terukur 5 ml, 10 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, beaker gelas, erlenmeyer, vial, mikropipet, pipet tetes, neraca analitik, tissue, aluminium foil, sendok tanduk, batang pengaduk dan spektrofotometer UV-VIS (*Agilent Technologies G1030 AX-DE 017 43058*).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu aquadest, metanol absolut, etanol absolut, DPPH, ABTS, vitamin C murni, ekstrak bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*).

B. Prosedur Penelitian

1. Pengolahan Sampel

Bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan lalu diiris halus.

2. Pembuatan Ekstrak Metanol

Sampel ditimbang sebanyak 300 gram kemudian dimasukkan dalam wadah dan diekstraksi secara maserasi selama 1 x 24 jam dengan

menggunakan cairan penyari metanol sambil sesekali diaduk, kemudian disaring. Ampas hasil ekstraksi kemudian diremaserasi lagi. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan *ratory evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental.

C. Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

DPPH ditimbang sebanyak 0,01577 g dan dilarutkan dengan metanol absolut hingga 100 ml dalam labu ukur.

2. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Bunga Brokoli

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang 50 mg ekstrak kental bunga brokoli dan dilarutkan dengan metanol absolut sambil dihomogenkan, volume akhir dicukupkan metanol absolut sampai 50 ml dalam labu ukur.

3. Pembuatan Larutan Stok Vitamin C Murni

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 50 mg vitamin C murni dan dilarutkan dengan metanol absolut, volume akhir dicukupkan hingga 50 ml labu ukur.

4. Pembuatan larutan stok ABTS

- Larutan a : Ditimbang 7,1015 mg ABTS, dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Diinkubasi selama 12 jam
- Larutan b : Ditimbang 3,500 mg $K_2S_2O_8$, dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Diinkubasi selama 12 jam
- Larutan a dan b dicampur dalam ruang gelap dan cukupkan volumenya dengan etanol absolut sampai 25 ml.

5. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

a. Pengukuran serapan Larutan Blanko DPPH

Larutan DPPH 0,4 mM dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan metanol absolut dalam labu terukur. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

b. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal bebas DPPH dengan Sampel

Pengujian dilakukan dengan cara memipet masing-masing 400 μ l, 500 μ l, 600 μ l, 700 μ l dan 800 μ l dari larutan stok sampel bunga brokoli 1000 ppm, campuran ditambah 1 ml DPPH 0,4 mM lalu dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan metanol absolut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm dan 160 ppm. Selanjutnya dihomogenkan dan dibiarkan selama 30

menit, lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

Besarnya persentase pengikatan radikal bebas dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ pengikat radikal} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} (50% *Inhibitory Concentration*) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase pengikatan radikal bebas.

6. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal bebas DPPH dengan vitamin C murni

Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing 10 μ l, 12.5 μ l, 15 μ l, 17.5 μ l dan 20 μ l dari larutan stok vitamin C murni 1000 ppm, campuran ditambah 1 ml DPPH 0,4 mM lalu dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan metanol absolut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 2.5 ppm, 3 ppm, 3.5 ppm dan 4 ppm, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

7. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS

a. Pengukuran Serapan Larutan Blanko ABTS

Larutan ABTS dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan etanol absolut dalam labu terukur. Larutan ini kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

b. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal bebas ABTS dengan Sampel

Larutan stok sampel ekstrak bunga brokoli 1000 ppm dipipet masing-masing 50 μ l, 100 μ l, 150 μ l, 200 μ l dan 250 μ l, campuran ditambah 1 ml larutan ABTS lalu dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan etanol absolut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Selanjutnya dihomogenkan lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel})}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100 \%$$

c. Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal bebas ABTS dengan vitamin c murni

Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing 15 μ l, 20 μ l, 25 μ l, 30 μ l dan 35 μ l dari larutan stok vitamin C murni 1000 ppm, campuran ditambah 1 ml larutan ABTS lalu dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan etanol

absolut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Selanjutnya dihomogenkan lalu serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

III. Hasil dan Pembahasan

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan. Intensitas warna ungu yang hilang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 515 nm. Sedangkan uji antioksidan dengan metode ABTS berdasarkan hilangnya warna biru akibat tereduksinya ABTS oleh antioksidan. Intensitas warna biru ini diukur pada panjang gelombang 750 nm.

Tiap konsentrasi yang diperoleh kemudian diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan vitamin C murni sebagai pembanding (kontrol positif). Aktivitas antiradikal bebas ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas.

Pada pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) mempunyai nilai IC_{50} sebesar 123,698 ppm dan vitamin C murni sebagai pembanding mempunyai IC_{50} sebesar 3 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat daya antioksidannya. Nilai IC_{50} ekstrak metanol bunga brokoli lebih besar dari nilai IC_{50} vitamin C murni. Hal ini menunjukkan bahwa daya antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli lebih lemah dibandingkan antioksidan vitamin C murni.

Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS menunjukkan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) mempunyai nilai IC_{50} sebesar 32,1292 ppm dan vitamin C murni sebagai pembanding

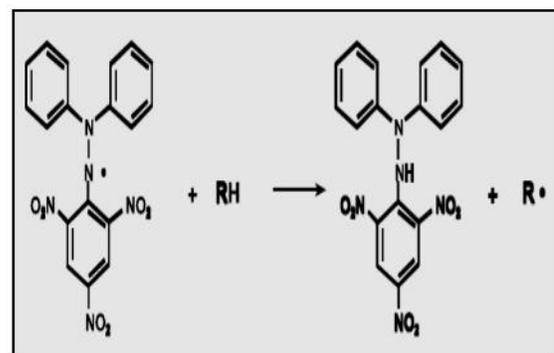
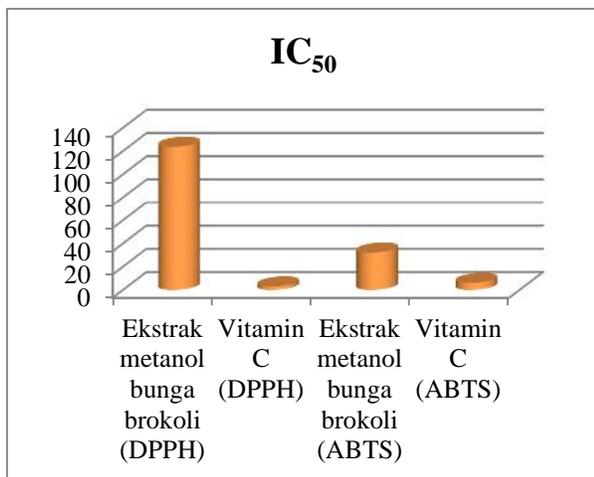
mempunyai nilai IC_{50} sebesar 6 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli lebih lemah dibandingkan vitamin C murni.

Grafik di atas menunjukkan nilai IC_{50} dari ekstrak metanol bunga brokoli sebesar 123,698 ppm dan vitamin C murni 3 ppm pada metode DPPH sehingga dapat disimpulkan vitamin C murni memiliki aktivitas peredaman radikal bebas yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak metanol bunga brokoli yang memiliki aktivitas antioksidan sedang. bunga brokoli memberikan aktivitas peredaman radikal bebas yang lebih kecil karena penelitian ini masih berupa ekstrak kasarnya bukan senyawa murni, sehingga masih terdapat kemungkinan senyawa murni yang dikandung memiliki aktivitas peredaman radikal bebas lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak kasarnya.

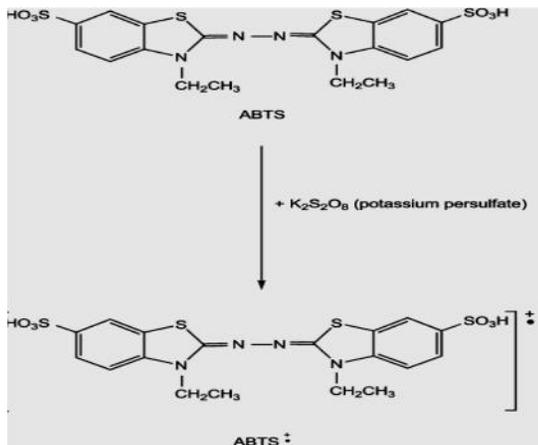
Faktor lain yang juga mempengaruhi yaitu kandungan senyawa antioksidan yang sedikit dalam ekstrak akibat waktu maserasi yang singkat yaitu 1 hari jika dibandingkan dengan teori dimana maserasi biasanya dilakukan selama 3-5 hari (Ansel, 1989) sehingga senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan tidak ditarik dengan sempurna.

Pada metode ABTS, pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) termasuk golongan antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 32,1292 ppm dan vitamin C murni sebagai pembanding dengan nilai IC_{50} sebesar 6 ppm.

Tingkat kekuatan antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki nilai IC_{50} lebih kecil dari 50 ppm (Edhisambada, 2011). Dari hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa metode ABTS lebih baik dibandingkan dengan metode DPPH. Selain hasil yang diperoleh, pengerjaan dari metode ABTS pun lebih cepat dibandingkan metode DPPH.



Gambar 1. Reaksi DPPH dengan antioksidan



Gambar 2. Reaksi pembentukan ABTS radikal dari ABTS dengan kalium persulfat

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 123,698 ppm dan bila dibandingkan dengan vitamin C murni yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 3 ppm maka sampel mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih rendah
2. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 32,1292 ppm dan bila dibandingkan dengan vitamin C murni yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 6 ppm maka sampel mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia Press. 1989
- Edhisambada. 2011. Metode Uji Aktivitas Antioksidan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). <http://edhisambada.wordpress.com>. (10 september 2013).
- Miksusanti et.al. Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Esetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). Sumatera Selatan: Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya, 2012. Vol 15 Nomor 2 C, p 1-2

Moon JK, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Nomor 57, p 1655-1666.

Jusuf, Nelva Karmila. Pengaruh Ekstrak Bunga Brokoli (*Brassica oleraceae* L. var *Italica Plenck*) Terhadap Penghambatan Penuaan Kulit Dini (*Photoaging*): Kajian pada Ekspresi Matriks Metalloproteinase-1 dan Prokolagen Tipe 1 Secara *in vitro* pada Fibroblas Manusia. Medan: Fakultas Kedokteran Sumatera Utara, 2012. p 6

Widyastuti, N. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. 2010

Winarsi, Hery. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Penerbit Kanisius, 2007. p 15

Yuliani, Fitri. Isolasi Senyawa Lutein Dari Ekstrak Bunga Brokoli Sebagai Antioksidan. Bogor: Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, 2012. p 9