

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.)
DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) DAN
FRAP (Ferric Reducing Antioxidan Power)**

Fitriyanti Jumaetri Sami¹, Syamsu Nur², Naimah Ramli², Budi Sutrisno¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

²Akademi Farmasi Kebangsaan Makassar

Email : fitriyantijumaetri_sami@yahoo.com

ABSTRACT

*Has conducted research of antioxidant activity from kersen leaves (*Muntingia calabura* Linn) using DPPH (1,1-diphenyl-1-picrilhydrazil) and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Kersen leaves extracted by maceration using ethanol 70%. Phytochemical identification of kersen leaves contain phenolic, flavonoids and saponins compounds. The test results of antioxidant activity using DPPH method with series concentrations of 2, 4, 6, 8, and 10 ppm obtain IC₅₀ value 6.8249 ug / ml. Testing of the ethanol extract of antioxidants obtained by FRAP method IC₅₀ 83,149 µM. Based on these data the ethanol extract of kersen leaves has good antioxidant activity.*

Key words: Antioxidant, daun kersen (*Muntingia calabura* Linn.), DPPH methods and FRAP methods.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Maka untuk mencapai kestabilannya, akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung secara terus-menerus dalam tubuh dan apabila tidak dihentikan dapat merusak sel sehingga sangat berbahaya bagi

kesehatan serta akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.¹

Radikal bebas dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik komponen struktural meliputi molekul-molekul penyusun membran maupun komponen fungsional meliputi protein, enzim-enzim, dan DNA.² Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan, beberapa logam misalnya

besi dan tembaga, asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet matahari yang menyebabkan radiasi. Reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh.³

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah kersen (*Muntingia calabura L.*). Daun kersen berkhasiat sebagai obat batuk dan peluruh dahak, buah yang telah masak dapat digunakan untuk sakit kuning dilaporkan bahwa kersen yang mengandung flavonoid mempunyai khasiat hipotensi, dan antiseptic.^{4,5}

Nutrisi tanaman kersen per 100 g adalah air, protein, lemak, serat, kalsium, fosfor, karoten, vitamin B1, B2, B3 dan C. Kandungan senyawa aktif tanaman kersen adalah flavonoid, sesquiterpenoid dan derivat furan.⁶

Berdasarkan data tersebut pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan FRAP (*Ferric Reducing Antioksidan Power*).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Timbangan analitik, aluminium foil, kertas saring Whatman no 42, spektrofotometer UV-Vis, labu ukur, oven, pipet tetes, sendok tanduk, rotavapor, cawan Porselin, Erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung, batang pengaduk, mikro pipet, alat maserasi dan alat – alat lain yang menunjang penelitian ini.

Bahan yang digunakan adalah daun Kersen, etanol 96%, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, FeCl₃ 1%, TPTZ, FeSO₄. serbuk Mg, asam asetat glasial, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

Prosedur Penelitian

Uji Fitokimia

Pengujian Fenolik

Sebanyak 5 ml ekstrak ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1%. Uji Positif ekstrak mengandung fenol terbentuk menghasilkan warna hitam pekat.

Pengujian Flavonoid

Sebanyak 5 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 mL air panas, didihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan

dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Pengujian Saponin

Dipipet sebanyak 5 ml ekstrak lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Terbentuk busa dan tetap stabil \pm 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan larutan Sampel

Dibuat larutan uji dalam berbagai konsentrasi dengan induk 100 ppm ekstrak daun kersen (*muntingia calabura L.*) dari larutan induk tersebut dibuat seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,4 mM

Ditimbang DPPH sebanyak 0,01577 g dan dilarutkan dengan etanol pro analisis hingga 100 ml dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,4 mM.

Pengukuran Serapan Larutan Blanko DPPH

Larutan DPPH dipipet sebanyak 1 ml dan ditambahkan 4 ml etanol pro analisis dimasukkan kedalam vial, larutan ini kemudian diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Pengukuran Aktivitas Pengikatan Ekstrak Etanol Daun Kersen Terhadap DPPH.

Larutan seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dipipet masing-masing 1 ml dan di tambahkan larutan 0,4 mM DPPH 1 ml. Larutan tersebut kemudian di cukupkan dengan etanol hingga 5 ml, dikocok dan didiamkan 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 516-520 nm.

Nilai persentase inhibisi yang diwakili oleh nilai IC₅₀ dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A \text{ Blanko} - A \text{ Ekstrak})}{A \text{ Blanko}} \times 100\%$$

Kemudian dibuat dalam kurva regresi linear untuk memperoleh nilai IC₅₀

Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Pembuatan larutan Reagen

- Larutan 3 mM FeCl₃ dalam asam sitrat 5 mM (50 ml).

Dilarutkan 24.33 mg serbuk FeCl₃ dan dilarutkan dalam 50 ml larutan asam sitrat 5 mM (48 mg dalam 50 ml H₂O)

- Larutan 1 mM TPTZ dan dilarutkan dalam HCl 0.05 M sebanyak 100 ml. Campuran dihomogenkan dengan cara divortex.

Pembuatan seri konsentrasi kurva baku FeSO₄

Dibuat larutan kurva baku besi(II) sulfat dengan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Ditimbang 25 mg FeSO₄ dan dilarutkan dalam 50 ml H₂O.

Analisis Data

Nilai persentase inhibisi yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke

dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (µg/mL) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi antioksidan sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai IC₅₀ dihitung pada saat nilai % inhibisi sebesar 50% dengan menggunakan persamaan $y = ax + b$.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kersen dengan metode DPPH

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (X)	%Pengkikatan DPPH	Probit (y)	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak Etanol Daun Kersen	2	0.301	13.24		6.8249
	4	0.602	28.37	3.882	
	6	0.788	41.61	4.431	
	8	0.903	53.72	4.78	
	10	1	66.33		

Tabel 2. Aktivitas antioksidan Ekstrak etanol daun kersen metode FRAP

Konsentrasi	Absorbansi	X	kadar eq µM Fe ²⁺	Nilai IC ₅₀
65.6	0.264	95	475	83.149 µM
131.2	0.291	122	610	
196.8	0.325	156	780	
262.4	0.341	172	860	
328	0.396	227	1135	

Tabel 3. Identifikasi fitokimia Ekstrak etanol daun kersen

Identifikasi Senyawa	Hasil	Keterangan
Fenolik	Warna Hitam Pekat	Positif (+)
Flavonoid	Warna Merah	Positif (+)
Saponin	Terdapat Busa	Positif (+)

PEMBAHASAN

Hasil pengukuran daya antioksidan ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 1. Pengujian metode DPPH berdasarkan kemampuan senyawa ini mendonorkan atom hidrogennya. Kemampuan ini berdasarkan kemampuan menghambat radikal bebas yang dihitung dalam % inhibisi. Parameter yang dipakai untuk menunjukan aktivitas antioksidan adalah nilai Inhibition Concentration (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol daun kersen terhadap radikal DPPH 6.8249 $\mu\text{g/ml}$. Nilai ini menurut Blois (1958), suatu senyawa memiliki antioksidan sangat kuat apabila IC_{50} kurang dari 50 ppm. Jika dibandingkan nilai tersebut maka ekstrak etanol daun kersen termasuk katagori sangat kuat.⁷

Pengujian metode DPPH berdasarkan kemampuan senyawa ini mendonorkan atom hidrogennya. Kemampuan ini berdasarkan kemampuan menghambat radikal

bebas yang dihitung dalam % inhibisi. Parameter yang dipakai untuk menunjukan aktivitas antioksidan adalah harga Inhibition Concentration (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol daun kersen terhadap radikal DPPH 6.8249 $\mu\text{g/ml}$. Nilai ini menurut Blois (1958), suatu senyawa memiliki antioksidan sangat kuat apabila IC_{50} kurang dari 50 ppm. Jika dibandingkan nilai tersebut maka ekstrak etanol daun kersen termasuk katagori sangat kuat.

Hasil pengujian metode FRAP dengan FeSO_4 sebagai standar pada kondisi asam. Metode ini berdasarkan kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga membentuk kompleks Fe^{3+} TPTZ dengan cara mendonorkan elektron yang dihasilkan dari senyawa antioksidan. Hasil pengujian diinterpretasikan dengan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm dan dapat disimpulkan sebagai jumlah Fe^{2+} (dalam mikromolar) ekuivalen dengan antioksidan standar.

Pada pengujian ini diperoleh IC_{50} 83.149 μM . Berdasarkan hasil uji

identifikasi senyawa pada ekstrak etanol daun kersen secara kualitatif pada Tabel 3. Hasil identifikasi di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol positif mengandung fenolik, flavanoid dan saponin, yang mana ketiganya merupakan senyawa antioksidan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian antioksidan disimpulkan bahwa : Kandungan senyawa metabiolit sekunder pada ekstrak etanol daun kersen yaitu Fenolik , flavonoid, dan saponin. Ekstrak etanol daun kersen menghansilkan nilai IC₅₀ 6.8249 ppm dan kuersetin IC₅₀ 4.2354 ppm. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kersen memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena nilai IC50 <50 ppm. pada ekstrak daun kersen dengan Metode FRAP didapatkan nilai IC₅₀ 83.149 µM hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, and Taniguchi H. Antioxidants properties of ferulic acid and its related compound. J Agric Food Chem 2002;50:2161-2168.
2. Hidajat B. Penggunaan Antioksidan pada Anak. *Kapita Selekta Ilmu Kesehatan Anak*. 2005.
3. Winarsi, H. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius; 2007.
4. Cheng DS, Chen JJ, Hsinn HL. Activation of Nitric Oxide Signaling Pathway Mediates Hypotensive Effect of *Muntingia calabura* L. Leaf Extract. *The American Journal of Chinese Medicine* 2006;34 (5):857–72.
5. Zakaria ZA, Mohd NA, Hazalin N, et al,. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Muntingia calabura* aqueous extract in animal models. *J Nat Med* 2007;61:443-8.
6. Heinrich M, Barner J, Gibbons S, Williamson EM. Farmakognosi dan Fitoterapi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC;2009.
7. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Journal Nature* 1958;181(4617): 1199-1200