

UJI AKTIVITAS DAYA ANTIOKSIDAN BUAH RAMBUTAN RAPIAH DENGAN METODE DPPH

Tina Dewi Rosahdi¹, Mimin Kusmiyati², Fitri Retna Wijayanti¹

¹Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung

²Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Bandung

²e-mail: tina_drosahdi@yahoo.com

ABSTRAK

Senyawa radikal bebas dapat berinteraksi dengan tubuh dan mengakibatkan berbagai penyakit seperti jantung koroner, penuaan dini dan kanker. Radikal bebas dapat diatasi dengan senyawa antioksidan. Toksisitas yang rendah dari senyawa antioksidan yang berasal dari bahan alam menyebabkan senyawa ini lebih diminati dibandingkan dengan senyawa sintetik. Salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan adalah buah rambutan. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dari ekstrak buah rambutan dengan baku pembanding vitamin C. Dari hasil penelitian ini diperoleh bahwa ekstrak buah rambutan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 33,37% sedangkan daya antioksidan pada vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,0022%. Validasi metode DPPH untuk menguji aktivitas antioksidan dalam buah rambutan menggunakan spektrofotometer UV Visible diperoleh parameter-parameter validasi yang meliputi presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi dan batas kuantisasi. Dari validasi metode ini diperoleh hasil presisi sebesar 1,85 %, hasil akurasi sebesar 96,96%, linearitas dengan (r^2) sebesar 0,999, batas deteksi 0,0049 $\mu\text{g/L}$ dan batas kuantisasi 0,016 $\mu\text{g/L}$.

Kata kunci : Antioksidan, Buah rambutan, DPPH

PENDAHULUAN

Pergeseran pola hidup masyarakat dari pola hidup tradisional menjadi pola hidup yang praktis dan instan, khususnya pada pemilihan makanan, memiliki dampak negatif bagi kesehatan. Makanan cepat saji dengan pemanasan tinggi dan pembakaran merupakan pilihan dominan yang dapat memicu terbentuknya

senyawa radikal bebas (Poumorad *et al*, 2006).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Senyawa radikal bebas timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada

waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi matahari atau radiasi kosmis (Fessenden and Fessenden, 1986).

Radikal bebas dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan akan berinteraksi secara destruktif melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel-sel tertentu yang tersusun atas lemak, protein, karbohidrat, DNA, dan RNA sehingga memicu berbagai penyakit seperti jantung koroner, penuaan dini dan kanker. Oleh sebab itu dibutuhkan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas (Reynertson, 2007).

Antioksidan atau senyawa penangkap radikal bebas merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan

oksidasi yang berlebihan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Prakash, 2001).

Dewasa ini digunakan penambahan antioksidan sintetik seperti butil hidroksi anisol (BHA) dan butil hidroksi toluene (BHT) pada berbagai produk kosmetik, obat, makanan maupun minuman, tetapi antioksidan sintetik memberikan efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia sehingga dilakukan usaha untuk mencari antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan yang dianggap lebih baik dan lebih aman dari antioksidan sintetik, khususnya apabila ditinjau dari segi kesehatan (Osawa *et al*, 1992).

Buah rambutan merupakan salah satu sumber alami yang mengandung antioksidan. Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi daya antioksidan

buah rambutan adalah metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

METODE

ALAT

Instrumen yang digunakan dalam pengujian daya antioksidan dalam buah rambutan ialah Spektrofotometer UV visibel.

BAHAN

Sari buah rambutan, aquades, etanol, DPPH (*1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil*) dan vitamin C dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm.

PROSEDUR KERJA

1) Persiapan sampel

Larutan sampel dibuat dengan konsentrasi 100.000 ppm. Kemudian dari larutan sampel 100.000 ppm dibuat larutan dengan konsentrasi 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm, dan 50.000 ppm dalam aquadest.

Selanjutnya dilakukan pembuatan larutan 1,1-*Diphenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) dengan konsentrasi 0,0004 M dengan cara ditimbang sebanyak 0,0788 g DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 500,0 mL dan ditepatkan sampai tanda batas dengan etanol. Sebanyak 1,0 mL larutan sampel (dengan berbagai konsentrasi) dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 mL, ditambahkan DPPH 0,0004 M sebanyak 1,0 mL kemudian ditepatkan sampai tanda batas dengan etanol. Campuran dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorban larutan pada panjang gelombang 519,5 nm. Besarnya daya antioksidan dapat dihitung dengan rumus :

$$= \frac{\text{absorban DPPH awal} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban DPPH awal}} \times 100\%$$

Dari data antioksidan dibuat persamaan garis yang menandakan hubungan antara konsentrasi dengan daya

antioksidan (%) untuk menentukan daya antioksidan secara kuantitatif (IC_{50}).

Untuk menentukan daya antioksidan terhadap vitamin C, dibuat larutan vitamin C 5 ppm dalam pelarut yang memiliki pH 3,01. Selanjutnya dilakukan prosedur yang sama dengan sampel.

Kemudian dilakukan penentuan persamaan garis hubungan daya antioksidan vitamin C dengan konsentrasi vitamin C dan penentuan nilai IC_{50} . Selanjutnya nilai IC_{50} sampel dibandingkan terhadap vitamin C.

Absorban DPPH awal diukur dengan pengerjaan seperti sampel, namun dengan tidak menambahkan sampel.

Validasi Analisis

Presisi dan Akurasi

Sampel simulasi buah rambutan diukur sebanyak 7 kali pengulangan. Dari hasil Pengukuran sampel dilakukan

pengolahan data melalui perhitungan statistik sehingga didapatkan d% untuk memperoleh akurasi dan cv % untuk memperoleh presisi. Perhitungan :

$$\text{Presisi (cv \%)} = \frac{SD}{X} \times 100 \%$$

$$\text{Akurasi (d \%)} = \frac{X-TV}{TV} \times 100 \%$$

Linearitas

Untuk menentukan linearitas, dibuat standar dengan 7 konsentrasi yang berbeda. Hasil pengukuran dibuat kurva yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi dan absorban, kemudian dilakukan uji regresi linier sederhana dan uji korelasi untuk menghitung koefisien linearnya.

Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Absorban batas deteksi dihitung dari 3 kali simpangan baku kurva kalibrasi dibagi slope persamaan garis linier. Konsentrasi batas deteksi :

$$LOD = 3 \times SD$$

Batas deteksi dihitung dari 10 kali simpangan baku kurva kalibrasi dibagi

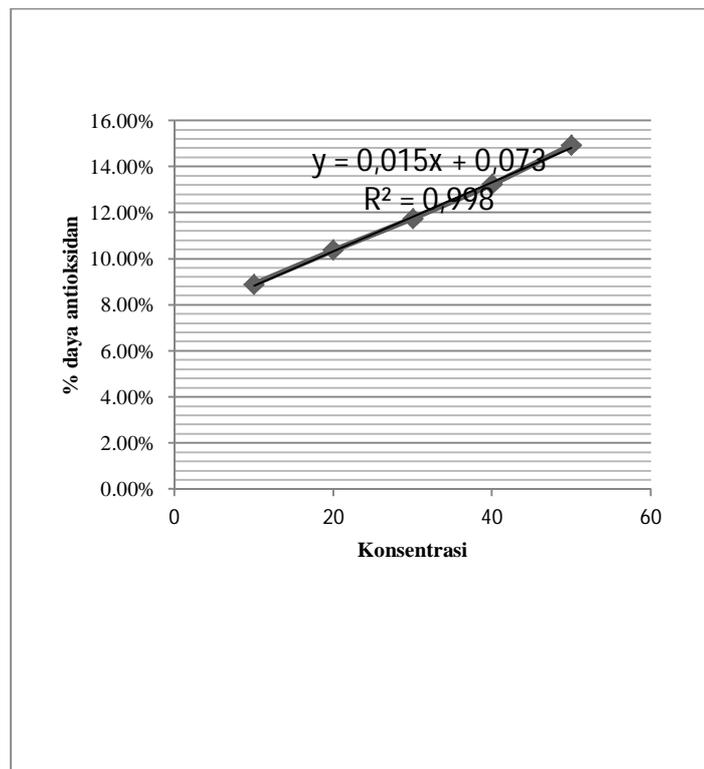
slope persamaan garis linear. Konsentrasi batas kuantisasi :

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{SD}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan sampel buah rambutan rapih untuk menangkap radikal DPPH merupakan suatu indikasi bahwa sampel uji tersebut beraktivitas

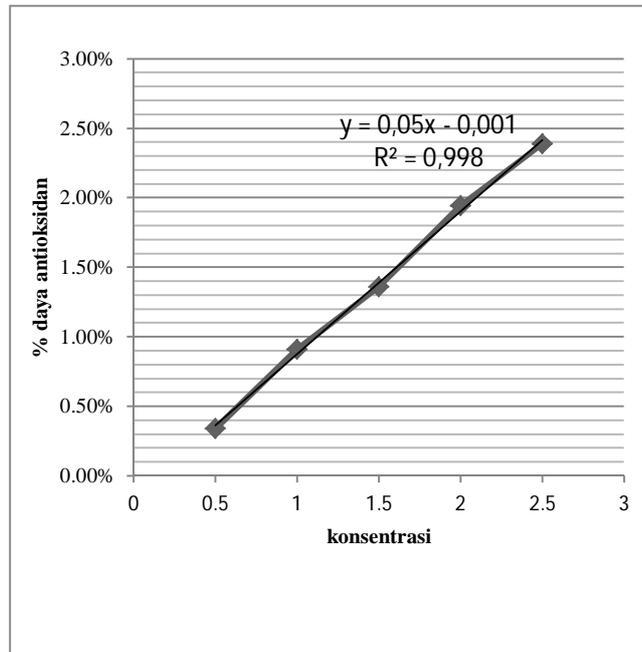
antioksidan. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH ini adalah nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi ekstrak/fraksi uji yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak/fraksi uji dan persen penangkapan radikal.



Gambar 1. Hubungan Konsentrasi Ekstrak Buah Rambutan Rapih Dengan Persen Daya Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan atau menggunakan metode DPPH penghambatan terhadap radikal bebas menunjukkan bahwa ekstrak buah

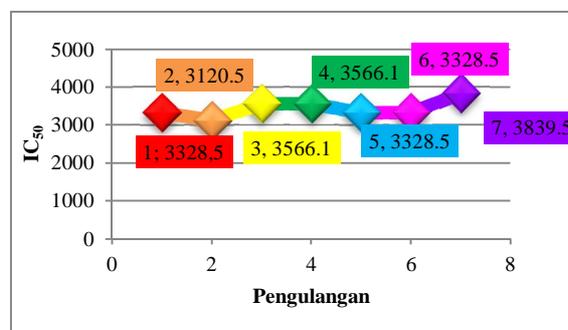
rambutan raphia memiliki aktivitas (senyawa pembanding) dapat dilihat antioksidan. Hasil pengujian ekstrak pada Gambar 1 dan 2. buah rambutan raphia dan Vitamin C



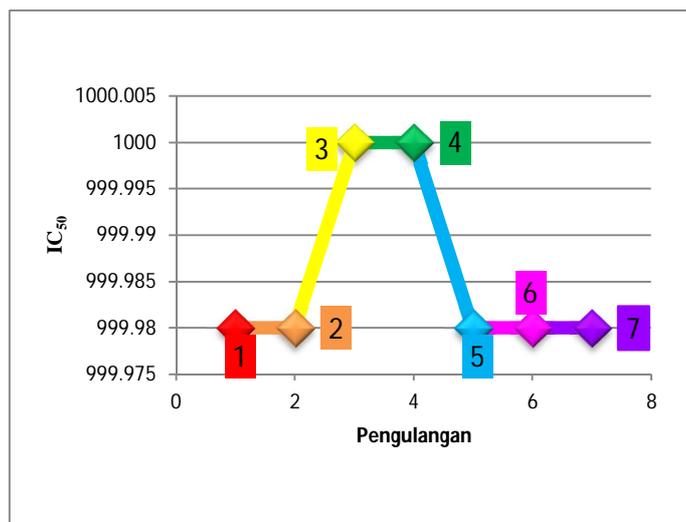
Gambar 2. Hubungan Konsentrasi Vitamin C Dengan Persen Daya Antioksidan

Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut dapat ditentukan nilai IC_{50} ekstrak buah rambutan raphia dan standar vitamin C.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan ekstrak buah rambutan raphia memiliki nilai IC_{50} antara 3000 – 4000 ppm.



Gambar 3. Grafik Nilai IC_{50} Pada Sampel Buah Rambutan Raphia



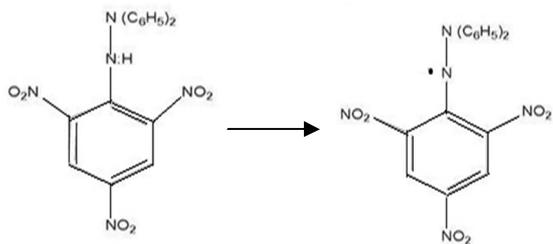
Gambar 4. Grafik Nilai IC₅₀ Pada Standar Vitamin C

Berdasarkan ke-2 grafik di atas dapat diketahui bahwa **buah rambutan rapih** memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kecil dibanding vitamin C, hal ini dapat dilihat jumlah daya antioksidan pada vitamin C memiliki nilai IC₅₀ antara 999,98 - 1000 ppm, sedangkan pada sampel rambutan yang dianalisis memiliki nilai IC₅₀ 3000 – 4000 ppm.

Pada struktur radikal DPPH terjadi delokalisasi elektron sehingga membuat larutan DPPH berwarna ungu. Ketika larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan

elektron, proses delokalisasi elektron akan terhenti dan membuat DPPH menjadi bentuk tereduksi. Bentuk tereduksi membuat DPPH kehilangan warna ungu. Hal tersebut yang menjadi dasar pengukuran berdasarkan metode DPPH karena intensitas warna ungu berbanding lurus dengan konsentrasi DPPH. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh adanya penangkapan satu elektron oleh senyawa radikal DPPH dari zat antioksidan yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi.

Tahap Inisiasi :



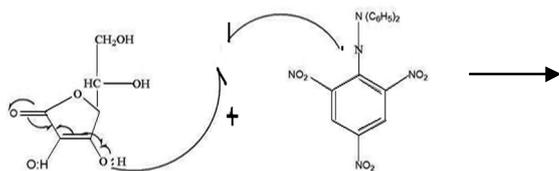
+ H⁺

DPPH Hidrazin

DPPH Hidrazil

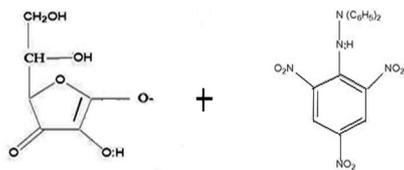
(bentuk tereduksi)

Tahap Propagasi :



Asam askorbat

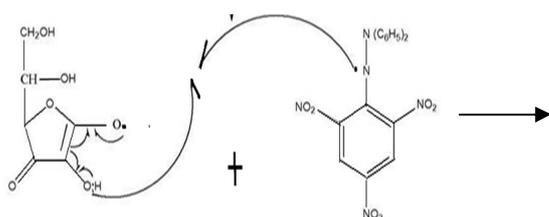
DPP Hidrazil



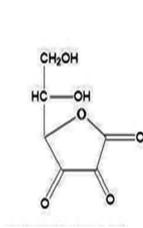
Asam askorbat

DPP Hidrazin

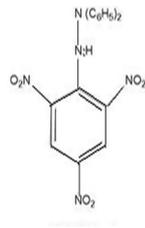
Tahap Terminasi :



Asam askorbat



DPP Hidrazin



Asam Dehidroaskorbat

DPP Hidrazin

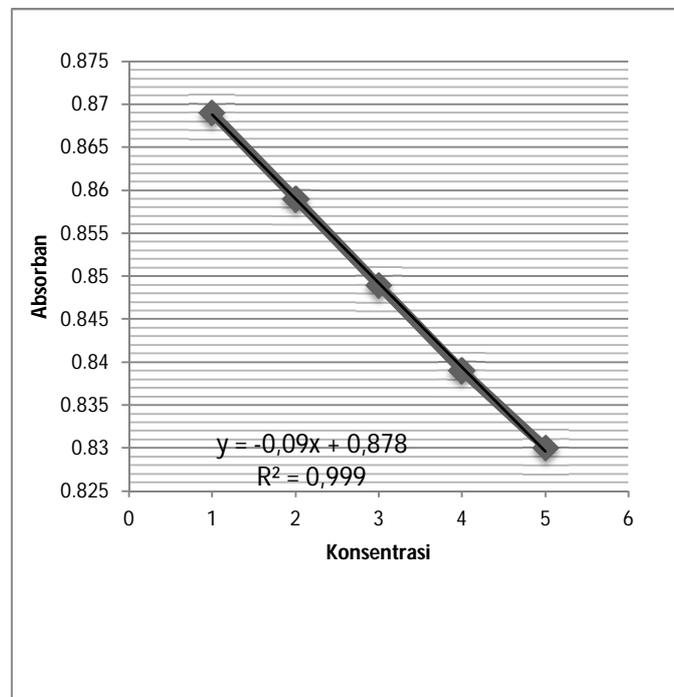
(Bentuk reduksi)

Gambar 5. Mekanisme Reaksi Yang Terjadi Antara Vitamin C Dengan DPPH

Persamaan Kurva Baku

Kurva baku adalah kurva yang menggambarkan hubungan antara kadar

dan serapan yang diperoleh dari hasil analisis regresi dan kadar terhadap serapan cahaya oleh atom.



Gambar 6. Kurva Kalibrasi Standar Vitamin C

Validasi dan Metode Analisis

Validasi metode dilakukan sesuai dengan SNI 19-17025-2008 dengan parameter pengujian sesuai dengan kategori untuk penentuan kuantitatif komponen utama atau bahan aktif yaitu

presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi dan batas kuantisasi.

Presisi dan Akurasi

Uji akurasi dan presisi dilakukan dengan pemeriksaan larutan baku secara berulang-ulang sebanyak 7 kali.

Tabel 1. Data Uji Validasi Pada Presisi Pada Standar Vitamin C

Kriteria Uji:

Presisi: Jika $CV \leq 2\%$ maka presisi dinyatakan baik.

Jika $CV \geq 2\%$ maka presisi dinyatakan tidak baik

Dari Tabel 1 terlihat bahwa nilai CV dari pengujian ini memiliki presisi yang baik yaitu simpangan baku $\leq 2\%$ dan koreksi volume $\leq 10\%$ yang memiliki rentang nilai pada simpangan baku

0,2% sampai dengan 0,4% sedangkan untuk koreksi volume rentang nilainya adalah 0,16% sampai dengan 0,56%.

	Konsentrasi Standar Vitamin C				
	0,5 ppm	1,0 ppm	1,5 ppm	2,0 ppm	2,5 ppm
Rata-rata	0,8647	0,857	0,8423	0,836	0,8287
SD	0,0033	0,0018	0,0023	0,0011	0,0013
% CV	0,38%	0,19%	0,27%	0,13%	0,16%

Akurasi

Akurasi dilihat dari besarnya % Recovery, kisaran rata-rata hasil uji perolehan kembali yang diizinkan untuk

kadar analit dalam sampel yang diperiksa adalah 92%-102% (Harmita, 2004).

Tabel 2. Data % *Recovery* Standar Pada Konsentrasi 0.5 ppm, 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm, 2,5 ppm

Xs	Ys	Xp (ppm)	Yp	Konsentrasi Sampel	% recovery
0,5 ppm	0,873	0,5	0,869	1,0	100
1,0 ppm	0,868	1,1	0,859	2,1	100
1,5 ppm	0,864	1,6	0,851	3,0	93,33
2,0 ppm	0,859	2,1	0,842	4,0	95,00
2,5 ppm	0,855	2,6	0,833	5,0	96,00

Keterangan :

Xs : Konsentrasi Seharusnya

Ys : Absorban Seharusnya

Xp : Konsentrasi Pengukuran

Yp : Absorban Pengukuran

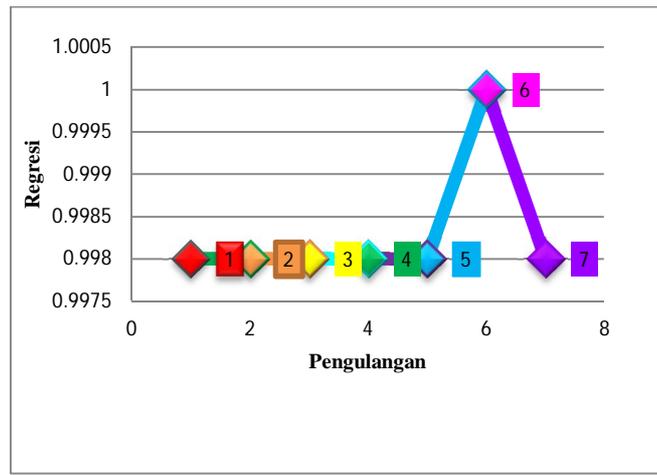
Dari Tabel 2 diperoleh %*Recovery* rata-rata adalah 92-94%. Dari hasil yang diperoleh tersebut maka dapat disimpulkan bahwa akurasi dan

presisi metode analisis yang dilakukan cukup tinggi karena memenuhi syarat %*Recovery* yaitu sebesar 92%-102% (Ermer, *et. al.*, 2005).

Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang

baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Hasil absorbansi untuk uji linearitas terdapat dalam grafik di bawah ini.



Gambar 7. Grafik Linearitas Hubungan Pengulangan Dengan Regresi Standar Vitamin C

Keterangan :

Pengulangan ke	Warna	Regresi (R ²)
1	Merah	0,998
2	Orange	0,998
3	Kuning	0,998
4	Hijau	0,998
5	Biru	0,998

6	Merah muda	1
7	ungu	0,998

Dari Gambar 7, pada pengulangan ke-1 sampai ke-7 didapatkan nilai r antara 0,998 - 1 sedangkan syarat dari suatu metode uji mempunyai linearitas yang baik jika nilai r lebih besar dari 0,98. Hal ini membuktikan bahwa metode uji antioksidan metode DPPH dengan Spektrofotometer UV-Visible mempunyai linearitas yang baik.

Batas deteksi dan Batas kuantisasi

Definisi batas deteksi menurut Harmita (2004) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko.

$$\text{LOD} = 3 \text{ SD}$$

$$= 3 \times 0,0016$$

$$= 0,0049$$

$$\text{LOQ} = 10 \text{ SD}$$

$$= 10 \times 0,0016$$

$$= 0,016$$

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa buah rambutan rapiah memiliki aktivitas antioksidan, dengan daya antioksidan sebesar 3000-4000 rpm. Metode DPPH yang digunakan untuk menguji daya antioksidan telah memenuhi kriteria validasi metode analisis.

DAFTAR PUSTAKA

Ermer, J.H. and Miller, McB. (2005).
Method Validation in Pharmaceutical Analysis, A Guide Best Practice
Weinheim: WILEY-VCH Verlag
GmbH & Co. KgaA.

- Fessenden, R. J. And J. Fessenden. 1986. *Kimia Organik. Jilid I. Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No.3, Desember 2004, Hal 117 – 135.
- Osawa, T., H. Katsuzaki, Y. Hagiwara, and T. Shibamoto. 1992. A novel antioxidant isolated from young green barley leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 1135.
- Poumorad, F., S. J. Hosseinimehr, and N. Shahabimajd.. 2006. Antioxidant activity phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 11,1142-1145.
- Prakash, A., 2001, “ *Antioxidant Activity* “: Medallion Laboratories : Analytical Progres Vol 19 No : 2. 1 – 4.
- Reynertson, K. A. 2007. *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents From Edible Myrtaceae Fruit*. [Dissertation]. The City University of New York, New York.
-

