

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUAH *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, dan *Anethum graveolens* L DENGAN METODE DPPH BESERTA PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTALNYA

ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY OF ETHANOL EXTRACT OF *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, and *Anethum graveolens* L FRUIT BY DPPH METHOD WITH DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC CONTENT

**Rosita Melannisa, Ika Trisharyanti D.K., Andi Suhendi,
Muhammad Da'i*, Arief Ilham Kusuma Atmaja**
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
abulathfi@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan alami dari luar tubuh diperlukan untuk mencegah munculnya penyakit karena terpapar oleh radikal bebas yang berlebihan. Buah *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L dan *Anethum graveolens* L diketahui memiliki kandungan fenolik dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat korelasi antara kandungan fenolik total dengan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antiradikal ditentukan dengan menggunakan metode DPPH kemudian dihitung nilai Inhibitory Concentration (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal DPPH. Kandungan fenol ditetapkan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu dan dihitung sebagai GAE (Gallic Acid Equivalent). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol buah *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L dan *Anethum graveolens* L memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 167,347; 6,074; 139,801; dan 237,984 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan nilai GAE berturut-turut 23,73; 257,34; 21,44; 11,78 mg/g sampel. Nilai koefisien korelasi antara kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan adalah $R^2 = 0,847$, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol buah yang diuji 84,7% merupakan kontribusi dari senyawa fenolik.

Kata kunci: Antioksidan DPPH, *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, *Anethum graveolens* L, Fenolik Total

ABSTRACT

The body need natural antioxidants from outside to prevent it from the disease caused by exposure of excessive free radical. *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, and *Anethum graveolens* L fruits are known to contain phenolic and flavonoids that act as antioxidants. The aims of this study to know the correlation between the phenolic content with antioxidant activity. Radical activity is determined by DPPH method. The content of phenols is determined by using Folin-Ciocalteu reagent and calculated as GAE (Gallic Acid Equivalent). The results show that the ethanol extract *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, and *Anethum graveolens* L fruits has IC_{50} value 167.347; 6.074; 139.801; and 237.984 $\mu\text{g/mL}$ consecutively. While the value of GAE 23.73; 257.34; 21.44; 11.78 mg / g sample consecutively. The correlation coefficient between phenolic content with antioxidant activity is $R^2 = 0.847$, which is indicated that 84.7% of the antioxidant activity of the ethanol extract of the fruit were tested contribute by the phenolic compounds.

Key words: Antioxidant DPPH, *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, *Anethum graveolens* L, Total Phenolic

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan produk normal dari proses metabolisme (Hariyatmi, 2004) atau dapat terbentuk dari luar tubuh (Langseth, 1995). Radikal bebas

berperan penting pada kerusakan jaringan dan proses patologi dalam organisme hidup (Velazquez *et al.*, 2003).

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001 *cit* Amrun *et al.*, 2007).

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan proses reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan (Hariyatmi, 2004).

Antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen, seperti Vitamin E, Vitamin C maupun berbagai jenis sayuran dan buah-buahan diperlukan untuk menetralkan radikal dalam tubuh (Soeksmanto *et al.*, 2007). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa antioksidan alami dihubungkan dengan keberadaan senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid (Zou *et al.*, 2004 *cit* Montoro *et al.*, 2005).

Indonesia adalah negara yang kaya akan sayuran dan buah-buahan, sebagian besar sayuran dan buah-buahan di Indonesia bisa dimanfaatkan sebagai sumber obat alam. Beberapa tanaman antara lain: Jambu biji (*Psidium guajava* Linn), Kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L), Cabe rawit (*Capsicum frutescens* L), Adas (*Anethum graveolens* L). Jambu biji mengandung senyawa fenolik seperti mirisetin dan apigenin (Miean dan Mohamed, 2001 *cit* Thaipong *et al.*, 2006), *ellagic acid*, dan antosianin (Misra dan Seshadri, 1968). Kayu putih mengandung saponin, flavonoida dan tanin, di samping minyak atsiri (Thomas, 1992). Cabe rawit mengandung kapsaisin, kapsantin, karotenoid, alkaloid asiri, resin (Anomin, 2005). Adas mengandung 50-60 persen anetol, lebih kurang 20 persen *fenkon*, *pinen*, *limonen*, *dipenten*, *felandren*, *metilchavikol*, anisaldehyd, asam anisat.

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap korelasi aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik ekstrak etanol buah *Psidium guajava* Linn, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L dan *Anethum graveolens* L.

BAHAN DAN METODE ANALISIS

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak etanol buah *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L dan *Anethum graveolens* L dari Fakultas Farmasi UMS, DPPH, etanol *p.a.* (*E.Merck*), etanol teknis. (*E.Merck*), alumunium foil, vitamin E (*Sigma Co.*), natrium bikarbonat(*E.Merk*), aquabidestillata.

Uji Aktivitas Antiksidan

Sejumlah larutan sampel ekstrak etanol buah *Psidium guajava* Linn, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L dan *Anethum graveolens* L serta vitamin E dengan volume tertentu, ditempatkan dalam labu takar 5,0 mL. Sampel selanjutnya ditambah dengan 700 μ L DPPH 0,4 mM dan ditambah etanol *p.a* hingga tanda. Campuran tersebut divorteks selama 30 detik dan diinkubasi selama 30 menit.

Absorbansi sampel diukur terhadap blanko yang terdiri dari sejumlah larutan stok sampel dalam etanol pada λ_{max} . Selain itu, dibandingkan dengan kontrol yang terdiri dari 700 μ L DPPH 0,4 mM dalam etanol *p.a*. Dihitung % aktivitas antiradikal. Dibuat kurva regresi linier antara konsentrasi melawan % aktivitas antiradikal. Didapatkan rumus regresi linier dan ditentukan konsentrasi sampel pada aktivitas 50%. Percobaan uji aktivitas antiradikal direplikasi sebanyak tiga kali. Setiap sekali percobaan, pembuatan stok dan pengenceran sampel dibuat pembacaan duplo.

Penentuan Kandungan Fenolik

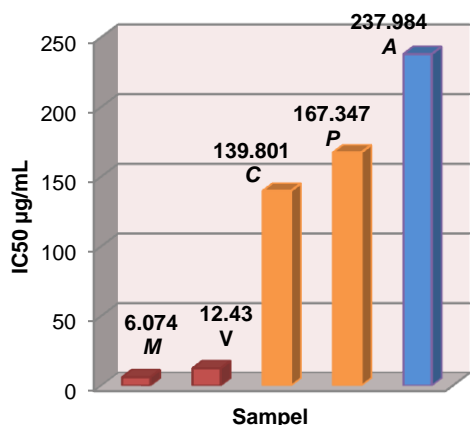
Larutan stok ekstrak *Melaleuca leucadendron* L dibuat menjadi konsentrasi 0,1% sedangkan untuk ekstrak *Psidium guajava* L, *Capsicum Frutescens* L dan *Anethum Graveolens* L dibuat menjadi konsentrasi 0,5% dan diambil 100 μ L stok sampel, kemudian direaksikan seperti pada OT, kemudian didiamkan selama OT dan diamati absorbansinya pada λ_{max} . Penentuan dilakukan dengan replikasi 3 kali dan pembacaan duplo. Nilai yang diperoleh merupakan ekuivalensi miligram asam galat tiap gram ekstrak (*Gallic Acid Equivalent / GAE*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antiradikal ditentukan dari kemampuan sampel uji untuk merubah warna ungu dari DPPH menjadi warna kuning pada panjang gelombang maksimalnya. Pembacaan absorbansi terhadap perubahan warna dilakukan pada waktu tertentu yang memberikan kesempatan yang cukup untuk berlangsungnya reaksi antara DPPH dan senyawa antiradikal atau biasa disebut dengan waktu inkubasi.

Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan waktu inkubasi 30-34 menit, sedangkan panjang gelombang yang digunakan adalah 517,6 nm. Hasil penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak uji dan vitamin E disajikan dalam Gambar 1.



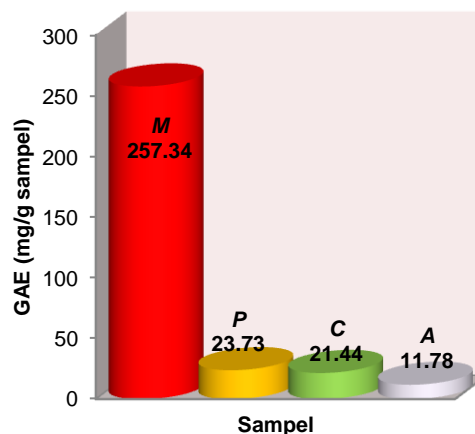
Gambar 1- Perbandingan IC₅₀ (M) *Melaleuca leucadendron* L, (V) Vitamin E, (C) *Capsicum frutescens* L, (P) *Psidium guajava* L dan (A) *Anethum graveolens* L, semakin rendah nilai IC₅₀ maka semakin kuat aktivitas antioksidannya.

Perbedaan aktivitas antioksidan dari ekstrak yang diuji bisa dikarenakan perbedaan kandungan kimia dari tiap ekstrak. Aktivitas antiradikal dari ekstrak etanol buah *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L, dan *Anethum graveolens* L dapat dikarenakan jenis dan kandungan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti fenolik. Untuk mengetahui hubungan antara kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan maka dilakukan uji kandungan fenolik total dalam sampel.

Penentuan Kandungan Fenolik

Penetapan kandungan fenolik total dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Pereaksi tersebut digunakan karena dapat bereaksi dengan semua jenis senyawa fenolik. Penetapan kandungan fenolik total dilakukan pada panjang gelombang maksimal 742,5 nm dan *operating time*-nya 40-55 menit.

Berdasarkan hasil pengujian kandungan fenolik ekstrak uji, menunjukkan bahwa kandungan fenolik ekstrak buah *Melaleuca leucadendron* L (257,34 mg/g sampel) lebih besar dari pada ekstrak buah *Psidium guajava* L (23,73 mg/g sampel), *Capsicum frutescens* L (21,44 mg/g sampel), dan *Anethum graveolens* L (11,78 mg/g sampel) (Gambar 2).

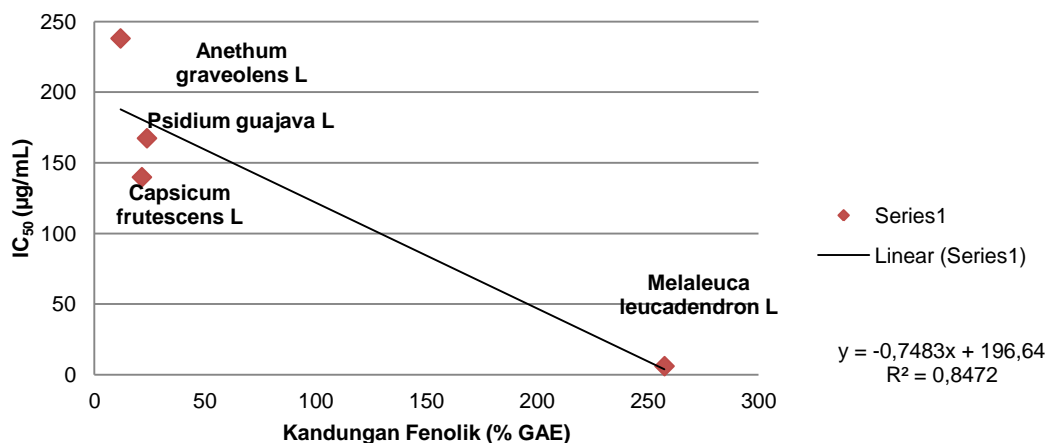


Gambar 2- Kandungan Fenolik total (M) *Melaleuca leucadendron* L, (P) *Psidium guajava* L, (C) *Capsicum frutescens* L dan (A) *Anethum graveolens* L, konsentrasi stok 0,1% untuk M dan 0,5% untuk (P, C dan A).

Korelasi Kandungan Fenolik dengan Aktivitas Antioksidan

Hasil penetapan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol buah *Melaleuca leucadendron* L memiliki aktivitas yang paling besar, kandungan fenolik total dari ekstrak buah *Melaleuca leucadendron* L juga paling tinggi. Sedangkan ekstrak etanol buah *Anethum graveolens* L memiliki aktivitas antioksidan paling rendah, kadar fenolik total ekstrak *Anethum graveolens* L paling kecil jika dibandingkan dengan sampel yang lain. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa semakin tinggi kandungan fenolik maka akan memberikan aktivitas antioksidan yang semakin besar.

Hubungan antara kandungan senyawa fenolik total ekstrak etanol buah *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron*, *Capsicum frutescens* L, dan *Anethum graveolens* L dengan nilai IC₅₀-nya mempunyai koefisien korelasi $R^2 = 0,847$ ($y = -0,478 + 196,6$) (Gambar 3).



Gambar 3- Hubungan antara kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan Ekstrak Etanol Buah *Psidium guajava* L, *Melaleuca leucadendron* L, *Capsicum frutescens* L dan *Anethum graveolens* L.

Hasil ini menunjukkan bahwa 84,7% aktivitas antiradikal ekstrak etanol buah yang diuji merupakan kontribusi dari senyawa fenolik yang terkandung di dalamnya seperti kuersetin, guajavarin, asam galat, leukosianidin, dan asam elagat pada buah *Psidium guajava* L (Sudarsono, 2002), Kapsaisin pada *Capsicum frutescens* L (Anonim, 2005), dihidrokapsaisin, homokapsaisin nor- dihidrokapsaisin dan homodihidro- kapsaisin (German Commission E, 1990 cit Wakhyulianto, 2005).

Aktivitas antioksidan *Melaleuca leucadendron* L berasal dari senyawa, Picetanol atau Astringinin (Tsuruga, et al., 1991 cit Bavaresco et al., 2002), yang diketahui mempunyai aktivitas antioksidan dan penangkap radikal bebas (Fauconneau et al., 1997 cit Bavaresco et al., 2002), flavonoida dan tannin (Thomas, 1992). Berdasarkan penelitian Zhang dan Lin (2009) tannin yang diekstrak dari buah *Syzygium cumini* mempunyai kemampuan dalam menangkap radikal DPPH, hasil ini

menunjukkan bahwa tannin mempunyai kemampuan sebagai pendonor proton dan dapat berperan sebagai penghambat atau panangkap radikal bebas.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah *Melaleuca leucadendron* L memiliki aktivitas antioksidan ($IC_{50} = 6,074 \mu\text{g/mL}$), *Capsicum frutescens* L ($IC_{50} = 139,801 \mu\text{g/mL}$), *Psidium guajava* L ($167,347 \mu\text{g/mL}$), *Anethum graveolens* L ($237,984 \mu\text{g/mL}$). Kandungan fenolik ekstrak buah *Melaleuca leucadendron* L (GAE = 257,34 mg/g sampel), *Psidium guajava* L (23,73 mg/g sampel), *Capsicum frutescens* L (21,44 mg/g sampel), dan *Anethum graveolens* L (11,78 mg/g sampel).

Terdapat korelasi sebesar 84,7% antara kandungan fenolik dengan aktivitas antiradikal, dimana semakin tinggi kandungan fenolik dalam sampel semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya.

DAFTAR PUSTAKA

Amrun., M.H, Umiyah., Evi U.U., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, *Berk. Penel. Hayati*, Vol 13, Hal 45, Bagian Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi Universitas Jember, Jember.

Anonim, 2005, *Antioksidan dan Radikal Bebas*, (online), <http://www.chem-is-try.org/?sect=artikel&ext=81>, diakses tanggal 11 Mei 2006.

Bavaresco, L., Fregoni, M., Trevisan, M., Mattivi, F., Vrhovsek, U and Falchetti, R, 2002, The Occurrence of The Stilben Picetannol in Grapes, *Vitis* 41, (3), 133.

Fauconneau, B., Waffo-Teguo, R., Huguet, F., Barrier, L., Decendit, A., Merillon, J.M, 1997, Comparative Study of Radical Scavenger and Antioxidant Properties of Phenolic Compound from *Vitis vinevera* Cell Cultures using *In vitro* Test, *Life Sci*, 61, 2103-2110.

German Commission E, 1990, http://www.wrc.Net/wrcnet_content/herbalresources/materiamedica/Cayenne.htm

- Hariyatmi, 2004, Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia, *MIPA* Vol. 14, No. 1, Januari 2004, Jurusan Pendidikan Biologi FKIP UMS, Surakarta.
- Langseth, L., 1995, *Oxidants, Antioxidans, and Disease Prevention*, International Life Sciences Institutes (ILSI) Europe, Belgium.
- Miean, K.H., Mohamed, S., 2001, Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 3106-311.
- Misra, K., Seshadri, T.R., 1968, Chemical Components of the Fruit of *Psidium Guajava*. *Phytochemistry* 7, 641-645.
- Montoro P, Braca A, Pizza C, Tommasi N.D, 2005, Structure Antioxidant Activity Relationship of Flavonoid Isolated from Different Plant Species. *J Food Chemistry*, 92, 349-55.
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, *Heart of Giant Recourse*, Vol 19, No.2.
- Soeksmanto, A., Yatri, H., Partomuan, S., 2007, Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae), *Biodiversitas*, Volume 8 Nomor 2, Hal 92-93.
- Sudarsono., Gunawan, D., Wahyuono, S., Argodonatus, I., dan Purnomo, 2002, *Tanaman Obat II : Hasil Penelitian, sifat-sifat, dan penggunaan, 156-160*, Pusat Studi Obat Tradisional UGM, Yogyakarta.
- Thaipong, Kriengsak., Boonprakob, Unaroj., Crosby Kevin., Cisneroz-Zevallos, Luis., Byrne, Hawkins, D., 2006, Comparison of ABTS, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guajava fruit extracts, *Journal of Food and Analysis*, 19 (2006) 669-675.
- Thomas, A.N.S., 1992, *Tanaman Obat Tradisional*, Kanisius, Yogyakarta, 56-58.
- Tsugura, T., Chun, Y.T, Ebizuka, Y., Sankawa, U, 1991, Biologically Active Constituent of *Melaleuca luecadendron* L: Inhibitor of Induced Histamin Release from Rat Mast Cell, *Chem Pharm Bull*, 39, 3276-3278.
- Velazquez, E., Tournie, HA., Buschiazzo Mordujovich de, P., Saavedra, G., Schinella, GR, 2003, Antioxidant Activity of Paraguayan Plant Extract, *Fitoterapia*, 74, 91-97.
- Zhang, L.L., and Lin, Y.M, 2009, Antioxidant Tannin from *Syzygium cumini* Fruit, *African Journal of Biotechnology*, Vol 8, (10), 2301-2309.
- Zou Y., Lu Y., Wei D., 2004, Antioxidant Activity of Flavonoid Rich Extrac of *Hypericum perforatum* L In Vitro, *J Agric Food Chem* 52: 5032-9.