



**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Afrika Selatan
(*Vernonia amygdalina* Del.) dengan Menggunakan Metode DPPH
(1,1- diphenil-2-picryhidrazyl)**

Dwisari Dillasamola^{1*}, Mega Linda W²

¹Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang

²Akademi Farmasi Prayoga Padang

Corresponding author : dwisaridilla@gmail.com

ABSTRAK

Dilakukan penelitian tentang Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Afrika Selatan (*Vernonia amygdalina Del*) dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenil-2-picryhidrazyl). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun Afrika Selatan (*Vernonia amygdalina Del*) dengan pembandingan vitamin C. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak etanol daun Afrika Selatan dengan konsentrasi (1000, 2000, 3000, 4000, 5000) mcg/mL. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun Afrika Selatan (*Vernonia amygdalina Del*) mempunyai aktivitas antioksidan daun Afrika Selatan sangat lemah dengan IC₅₀ 3489,1759 mcg/mL terhadap radikal bebas DPPH.

Kata kunci : Antioksidan, ekstrak etanol daun Afrika Selatan, DPPH.

PENDAHULUAN

Akhir-akhir ini di dalam majalah, surat kabar bahkan menonton iklan di televisi, maupun seminar-seminar ilmiah banyak dibahas mengenai radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas adalah

molekul yang mengandung satu elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Selama metabolisme oksidatif, banyak oksigen yang dikonsumsi akan terkait pada hidrogen selama fosforilasi oksidatif, kemudian membentuk air. Akan tetapi,

diperkirakan bahwa 4-5% oksigen yang dikonsumsi saat bernapas tidak diubah menjadi air, tetapi akan membentuk radikal bebas. Maka, konsumsi akan meningkat selama pelatihan, juga akan terjadi peningkatan produksi radikal bebas dan peroksida lipid, yang kemudian radikal bebas tadi akan menimbulkan respon inflamasi menyebabkan kerusakan otot setelah pelatihan. Tubuh mempunyai sistem pertahanan antioksidan yang tergantung dari asupan vitamin, antioksidan dan mineral dan produksi antioksidan endogen seperti glutathione. Vitamin A (betakaroten), C dan E adalah antioksidan dan vitamin utama. (Clarkson dan Thompson, 2000).

Radikal bebas berperan dalam terjadinya suatu penyakit, karena radikal bebas mempunyai suatu elektron yang tidak berpasangan dipermukaan kulit luarnya sehingga dia berusaha mencari elektron dari jaringan-jaringan yang ada di dalam tubuh yang disusun oleh sel-sel dalam tubuh terdapat senyawa yang disebut antioksidan yang dapat berperan aktif dalam menanggulangi masalah kelebihan radikal bebas. Namun, hal ini tergantung terhadap pola hidup dan pola makan yang benar (Kumalaningsih, 2006).

Antioksidan merupakan senyawa yang

mampu menghambat laju oksidasi. Antioksidan ini memiliki banyak komponen dan merupakan zat alami yang dihasilkan sendiri oleh tubuh atau didapat dari makanan yang kita makan. Antioksidan bekerja dengan cara menghentikan pembentukan radikal bebas, menetralkan serta memperbaiki kerusakan-kerusakan yang terjadi (Dalimartha dan Soedibyo, 1999).

Salah satu tumbuhan obat yang digunakan sebagai obat tradisional yang berkhasiat untuk menangkal radikal bebas yaitu daun Afrika Selatan (*Vernonia amygdalina* D). Daun Afrika Selatan juga mengandung flavonoid yang dapat mencegah berbagai penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif. Efektivitas antioksidan dari flavonoid dilaporkan beberapa kali lebih kuat dibandingkan vitamin C dan E. Dalam fungsinya menetralkan radikal bebas, flavonoid bekerja secara sinergis (saling memperkuat) dengan vitamin C. (Linder, 2006).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya antioksidan pada daun afrika selatan (*Vernonia amygdalina* D.)

BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Yang Digunakan

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun afrika selatan. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah : etanol 96%, methanol, aquadest, larutan DPPH (*1,1 diphenil-2-picrylhydrazyl*). Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoda DPPH (*1,1- diphenil-2-picrylhidrazyl*).

2.2.Prosedur Penelitian

2.2.1. Pengujian Aktivitas Antioksidan Daun Afrika Selatan

Untuk mengetahui kadar antioksidan pada daun afrika selatan, dilakukan serangkaian analisis. Analisis kualitatif berupa penentuan aktivitas antioksidan, data yang digunakan untuk analisis adalah nilai absorbansi yang didapat dari 50 mg ekstrak daun Afrika Selatan

a. Pembuatan Reagen Larutan DPPH

(*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*)

35 mcg/mL. (Mousquera, 2007)

Ditimbang DPPH sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan methanol didalam labu ukur 50 mL sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 1000 mcg/mL. Dari larutan diatas dibuat larutan dengan konsentrasi 35 mcg/mL dengan cara dipipet 3,5 mL larutan 1000 mcg/mL kemudian masukkan kedalam labu ukur 50 mL tambahkan methanol sampai tanda batas. Larutan

DPPH disimpan dalam wadah yang terlindung dari cahaya matahari (Mousquere,2009).

b. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH (Marinda, 2012)

Ukur serapan larutan DPPH 35 ppm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 200 nm hingga 800 nm serta ditentukan panjang gelombang optimumnya (Bendra,2012).

c. Penentuan Aktivitas Antioksidan Sampel

a) Pembuatan Larutan Induk

Timbang ekstrak tanaman 50 mg kemudian larutkan dengan 50 mL etanol 96% pada labu ukur 50 mL sampai tanda batas,hingga didapat konsentrasi 1000 mcg/mL sebagai larutan induk.

b) Pembuatan Larutan Uji Dengan Konsentrasi (1; 5; 10;25;50;100) mcg/mL.

Pipet larutan induk sampel (0,005;0,025;0,05;0,125;dan 0,5) mL kedalam labu ukur 10 mL kemudian tambahkan methanol hingga tanda batas sehingga

diperoleh konsentrasi maksimum (1;5;10;25;50;100) mcg/mL selanjutnya pipet 2 mL masing-masing konsentrasi sampel dan larutan DPPH 35 mcg/mL kedalam tabung reaksi dihomogenkan kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan tempat gelap selama 30 menit, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Penentuan IC50 dihitung masing-masing konsentrasi menggunakan persamaan regresi antara persentase aktivitas radikal bebas DPPH pada ekstrak terhadap 5 konsentrasi diatas.

c) Perhitungan Aktivitas Antioksidan
 Persentase antioksidan terhadap radikal bebas dapat dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100$$

%

Keterangan :

Absorban Kontrol : Serapan larutan radikal bebas 35 mcg/ml pada panjang gelombang

Absorban Sampel : Serapan larutan sampel ditambahkan larutan DPPH 35 mcg/mL dikurang dengan serapan sampel tanpa DPPH pada panjang gelombang maksimum.

d. Pembuatan Blanko Positif Vitamin C (Marinda,2012)

a) Pembuatan Larutan Induk Vitamin C.

Timbang 50 mg vitamin C kemudian larutkan dengan methanol pada labu ukur 50 mL sampai tanda batas,sehingga didapat konsentrasi 1000 mcg/mL sebagai larutan induk.

b) Pembuatan Larutan Uji Vitamin C

Pipet larutan induk masing-masing (0,25; 0,5; 1; 1,25; 1,5; 2 dan 2,5) mL ke dalam labu ukur 25 mL kemudian tambahkan methanol hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 10; 20; 40; 50; 60; 80 dan 100 mcg/mL.

Kemudian dipipet 3 mL dari masing-masing konsentrasi ekstrak yang diperoleh menggunakan pipet mikro, selanjutnya tambahkan 1 mL larutan DPPH 35 mcg/mL kemudian campurkan dihomogenkan dan diiklubasi pada suhu kamar dan tempat gelap selama 30 menit, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Vitamin C :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

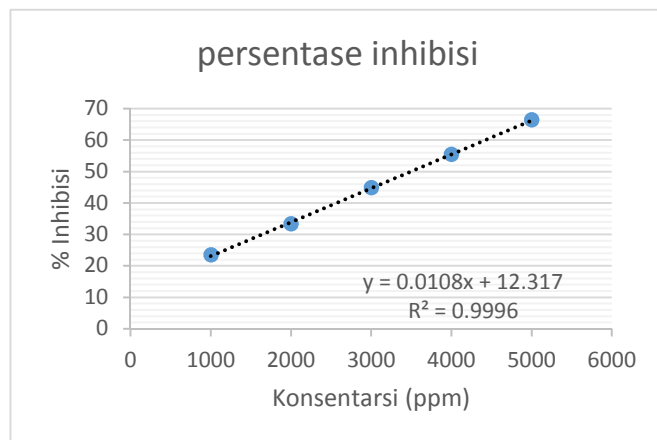
HASIL

Dari hasil pengukuran dengan spektroskopi UV-Vis pada panjang gelombang maksimum didapatkan nilai absorbansi dari masing-masing konsentrasi yang ditunjukkan dalam Tabel I berikut ini.

konsentrasi sampel (ppm)	absorban		persentase inhibisi
	DPPH 35ppm	sampel	
1000	0.669	0.512	23.46786248
2000	0.669	0.446	33.33333333
3000	0.669	0.369	44.84304933
4000	0.669	0.298	55.45590433
5000	0.669	0.225	66.367713

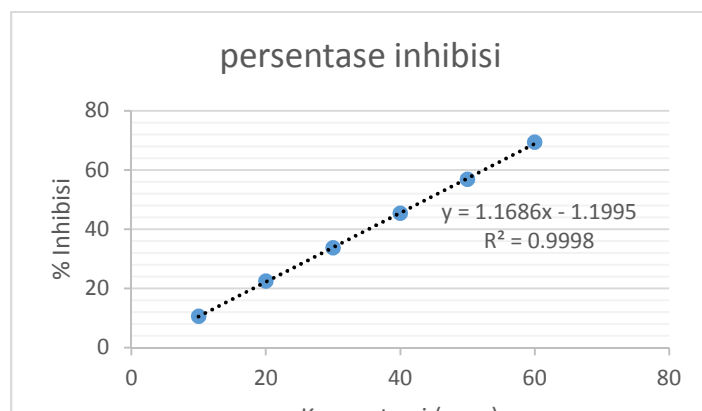
Berdasarkan penentuan absorbansi larutan standar tersebut dapat digambarkan kurva

kalibrasi antara konsentrasi dengan absorpsi larutan DPPH yang dapat ditunjukkan pada Gambar 1 dibawah ini :



Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan harga absorbansi DPPH kontrol dan absorbansi sampel yang ditunjukkan pada tabel II berikut ini

konsentrasi sampel (ppm)	Absorban		persentase inhibisi
	DPPH 35 ppm	sampel	
10	0.767	0.686	10.56062581
20	0.767	0.595	22.42503259
30	0.767	0.509	33.63754889
40	0.767	0.419	45.37157757
50	0.767	0.331	56.84485007
60	0.767	0.235	69.36114733



Adanya aktivitas antioksidan pada sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang direaksikan dengan daun afrika selatan. Larutan yang semula berwarna ungu berubah warna menjadi kuning pucat. Hal tersebut terjadi karena semua radikal bebas DPPH menjadi berpasangan ketika terjadinya reaksi antara larutan DPPH dengan zat antioksidan dalam sampel yang dapat mendonorkan atom hidrogen, sehingga warna ungu pada larutan DPPH menjadi pudar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D. 2015. *Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun manggis (Garcinia mangostana L.) dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl)*. Karya Tulis Ilmiah Akademi Farmasi Prayoga Padang. Padang.
- Ansel, H.C., 1989. *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi*. Edisi 4. UI Press. Jakarta.
- Anonim. 1979. *Farmakopem Indonesia Edisi III*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Atangwho, I. J. 2009. *Biochemical impact of combined administration of extracts of Vernonia amygdalina and Azadirachta indica on stz diabetic rat models*, Ph.D. thesis, University of Calabar, Calabar.
- Clarkson, P.M., Thomson, H.S. 2000. *Antioxidants: What role do they play in physical activity and health*, *Am J Clin Nutr.* 729 (Suppl): 637-346.
- Dalimartha dan Soedibyo, M. 1999. *Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*. 1-8. Trubus Agriwidya. Semarang.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta; Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fajarwati, N. 2013. *Uji Aktivitas pada Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl)*. Skripsi UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Ibrahim, T A, A. Lola, F. O. Adetuyi and B. Jude-Ojei. 2004. "Assessment of the antibacterial activity of Vernonia amygdalina and Occimum gratissimum leaves on selected food borne pathogens". *Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*. 8(11):1212-1218.
- Ingggrid, H.M. dan Herry, S. 2014. *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*. Skripsi. Universitas Khatolik Parahyangan. Jakarta.
- Irmawati. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Garcinadaedalanthera Pierre Dengan Metode Dpph (1,1 Diphenil Pikrihidrazil) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Paling Aktif*. Skripsi. Universitas Indonesia Jakarta.
- Izevbigie EB, Bryant JL, Walker A 2004. A novel natural inhibitor of extracellular signal-regulated kinases and human breast cancer cell growth. *Exp Biol Med* 229: 163-169.
- Kumalaningsih. 2006. *Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas*. 3-22. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Linder, MC. 2006. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian Secara Klinis*. Penerjemah; Aminuddin Parakkasi, UI Press. Jakarta.
- Marinda, W.S. 2012. *Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Gel Liposom Yang Mengandung Fraksinasi Ekstrak Metanol*

Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) Sebagai Antioksidan. Skripsi. Depok : Universitas Indonesia.

Ofori, D.A., Anjarwalla, P.C.P., Jamnadass, Stevenson and Smith, P. 2013. *Pesticidal Plant leaflet Vernonia amygdalina Del.* the University of Greenwich.

Raharjo, S., 2015, *Uji Multikolinieritas dengan Melihat Nilai Tolerance dan VIF*, <http://www.konsistenti.com/2013/07/uji-multikolinieritas-denganmelihat.html?m=1>, tanggal akses: 10 Juni 2016.