

Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhidrazil)

Reny Salim

Akademi Farmasi Prayoga Padang, Jl.Sudirman no 50.Padang

Detail Artikel

Diterima Redaksi : 22 April 2018

Direvisi : 30 Oktober 2018

Diterbitkan : 31 Oktober 2018

Kata Kunci

Antioksidan; infusa; tanaman wungu

Penulis Korespondensi

Reny Salim

renyhandra@yahoo.co.id

ABSTRAK

Tanaman ungu merupakan salah satu jenis tanaman yang berkhasiat sebagai tanaman obat. Masyarakat memanfaatkan tanaman ini sebagai obat wasir, demam, bisul, melancarkan haid, dan lain-lain. Khasiat yang dimiliki oleh daun dari tanaman wungu ini disebabkan oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder. Secara penampilan fisik dan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang daun dari tanaman Wungu ini dapat diyakini adanya senyawa antosianin dari golongan polifenol. Senyawa antosianin dari golongan fenol merupakan senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai zat antioksidan, maka dilakukanlah pengujian aktivitas antioksidan dari infusa daun tanaman Wungu ini. Metoda ekstraksi yang dipilih adalah infusa karena masyarakat pada umumnya mengolah daun ini dengan cara merebus daunnya lalu meminum airnya. Daun Wungu yang dibuat infusa mempunyai konsentrasi 10% lalu diencerkan hingga pada konsentrasi (75, 100, 125, 150, 175) µg/mL. Setiap infusa tersebut diambil 1 mL direaksikan dengan 2 mL larutan DPPH 35 µg/mL dalam tabung reaksi berlapis aluminium selama waktu optimum (30 menit). Setelah waktu optimum tercapai maka dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Hasil pengukuran memberikan data bahwa aktivitas antioksidan berdasarkan IC₅₀ dari infusa daun Wungu berada pada konsentrasi 125,09 µg/mL. Nilai IC₅₀ yang diperoleh infusa dibandingkan dengan nilai inhibisi dari larutan vitamin C yang dibuat dengan variasi konsentrasi (10, 12, 14, 16, 18) µg/mL, didapatkan kesimpulan bahwa aktivitas antioksidan dari infusa daun dari tanaman Wungu tergolong sedang.

PENDAHULUAN

Tanaman ungu merupakan salah satu jenis tanaman yang dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati wasir, bisul, dan luka. Bagian dari tanaman wungu yang paling banyak digunakan adalah bagian daunnya (Maharani, 2016). Manfaat yang dimiliki oleh tanaman ungu ini disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya. Secara fisik penampilan itu dapat dilihat dari warna pada daun yaitu warna ungu. Warna ungu merupakan salah satu jenis warna dari senyawa golongan fenol (antosianin) (Kristanti, 2008). Hal ini diperkuat dengan adanya hasil penelitian tentang kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh daunnya berupa kelompok senyawa turunan fenol (antosianin, leukoantosianin, flavonoid, dan tanin) (Isnawati, 2003). Selain itu daun wungu juga mengandung senyawa metabolit sekunder lain seperti alkaloid non toksik, sitosterol, glikosida, asam format, saponin pektin (Da'i, 2012).

Antosianin merupakan salah satu jenis senyawa turunan fenol yang bertanggung jawab untuk kebanyakan warna merah, biru, dan ungu pada banyak buah dan sayuran sehingga banyak dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Selain sebagai pewarna alami antosianin merupakan sumber antioksidan yang baik dalam menangkal radikal bebas (Kwartiningsih, 2016). Penelitian

sebelumnya terkait dengan sifat antioksidan dari ekstrak etanol daun wungu telah dilakukan dan memberikan hasil adanya korelasi positif dari ekstrak etanol terhadap penghambatan radikal bebas (Da'i, 2012).

Radikal bebas merupakan suatu molekul, atom, atau group atom yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Elektron yang tidak berpasangan ini akan mengganggu molekul-molekul netral dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya membentuk radikal baru. Proses pengambilan pasangan elektron yang dilakukan oleh radikal bebas ini merupakan proses oksidasi (Karim, 2015). Jika reaksi oksidasi ini berlangsung kontiniu di dalam tubuh manusia maka akan memicu munculnya penyakit degeneratif dan penyakit lain seperti kanker, diabetes mellitus tipe 2, osteoporosis, katarak, keriput, penuaan dan jantung koroner (Soedibyo, 1998). Proses oksidasi ini dapat dihambat dengan menggunakan zat atau senyawa yang dapat mengalami proses reduksi. Zat untuk menghambat proses oksidasi dari radikal bebas dinamakan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat digunakan untuk melindungi komponen biologi seperti lipid, protein, vitamin dan DNA dari radikal bebas (Matheos, 2014).

Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh manusia berasal dari proses metabolisme tubuh dan paparan dari lingkungan (polusi udara, asap rokok, radiasi UV, sinar X). Radikal bebas diperlukan tubuh untuk membunuh mikroorganisme penyebab infeksi. Namun terpapar radikal bebas secara terus menerus dapat mengakibatkan kurangnya kemampuan adaptasi sel terhadap lingkungan dan pada akhirnya sel tersebut akan mati/rusak (Judarwanto, 2013).

Tubuh manusia dapat memproduksi antioksidan sendiri meskipun begitu tubuh manusia tetap membutuhkan asupan antioksidan dari luar. Sumber antioksidan itu dapat diperoleh dari sayuran, buah-buahan, biji-bijian, dan kacang-kacangan yang mengandung vitamin C, vitamin E, karotenoid, dan golongan polifenol seperti antosianin (Tapan, 2005).

Sumber antosianin selain dari sayuran dan buah-buahan juga dapat diperoleh dari hasil seduhan bagian tanaman yang memiliki warna merah-ungu, salah satunya daun dari tanaman wungu. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan dari infusa daun tanaman wungu dengan menggunakan Metoda DPPH. Setelah itu, hasil pengujian aktivitas antioksidan infusa tersebut dibandingkan dengan vitamin C. Dalam pengujian ini digunakan metoda DPPH karena tidak membutuhkan banyak reagen, sederhana dan cepat. Hasil pengukuran menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum tidak berdasarkan jenis radikal yang dihambat. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sinar tampak (400-800 nm) (Juniarti, 2009).

METODE PENELITIAN

Alat

Oven (Mommert), timbangan analitik (Denver), ayakan no 40, labu ukur (100 mL, 50 mL, 10 mL), beaker glass (100 ml, 200 ml, 250 ml 300 ml, 500 ml), spatel, bola isap, batang

pengaduk, corong, kain flannel, aluminium foil, water bath (Memmert), pipet ukur (1 mL, 2 mL, 5 mL), tabung reaksi, dan spektrofotometer UV-Vis (T70).

Bahan

Sampel tanaman yang digunakan adalah daun dari tanaman ungu yang diperoleh dari daerah Muara Siberut, Mentawai.

Bahan kimia yang digunakan adalah aquadest, metanol, zat DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*), dan vitamin C (*Sigma-Aldrich*)

Penyiapan Sampel

Pada penelitian ini bahan tanaman yang digunakan adalah daun dari tanaman ungu. Tanaman ungu yang digunakan disortasi basah, dikeringkan, dan diserbukan. Proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 120°C selama 20 menit. Setelah kering, dihaluskan menggunakan blender, diayak, ditimbang, dan disimpan dalam wadah yang bersih dan kering.

Infusa Daun Ungu

Simplisia daun ungu dibuat infusa 10% dengan cara memanaskannya menggunakan penangas air pada suhu 90⁰ C selama 15 menit sambil sekali-kali diaduk. Setelah itu, infusa disaring selagi panas dengan menggunakan kain flannel, diletakkan dalam labu ukur 100 mL.

Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan DPPH

Larutan DPPH yang telah dibuat dengan konsentrasi 35 µg/mL, dimasukkan dalam tabung reaksi yang dibungkus aluminium foil sebanyak 2 mL kemudian didiamkan selama 30 menit. Setelah itu ukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Infusa

Infusa daun ungu 10 %, dibuatkan larutan serinya mulai dari konsentrasi 75 µg/mL, 100 µg/mL, 125 µg/mL, 150 µg/mL dan 175 µg/mL. Tiap-tiap larutan seri sampel, dipipet menggunakan pipet ukur sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilapisi aluminium foil, direaksikan dengan larutan DPPH 35 µg/mL sebanyak 2 mL, kocok homogen dan biarkan selama 30 menit. Setelah itu, ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Salah satu antioksidan sekunder yang dapat ditemukan dalam dalam keadaan murni dan banyak dimanfaatkan oleh manusia adalah vitamin C. Berdasarkan pernyataan itu maka digunakan larutan vitamin C untuk membandingkan kekuatan antioksidan dari infusa daun ungu dengan cara membuat larutan seri vitamin C yang berkonsentrasi 10 µg/mL, 12 µg/mL, 14 µg/mL, 16 µg/mL, dan 18 µg/mL. Tiap-tiap larutan dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilapisi aluminium foil dan direaksikan dengan larutan DPPH 35 µg/mL sebanyak 2 mL, dikocok hingga homogen dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu ukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Analisa Data

Aktivitas antioksidan dari suatu bahan, ditentukan menggunakan persamaan: (Karim, 2015)

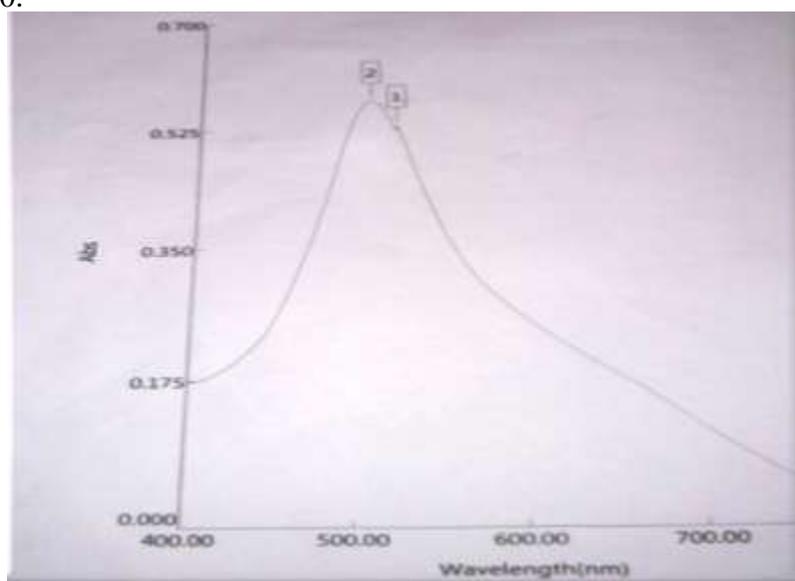
$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Kriteria sebagai antioksidan adalah sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150, dan lemah jika IC_{50} adalah 151-200.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan DPPH

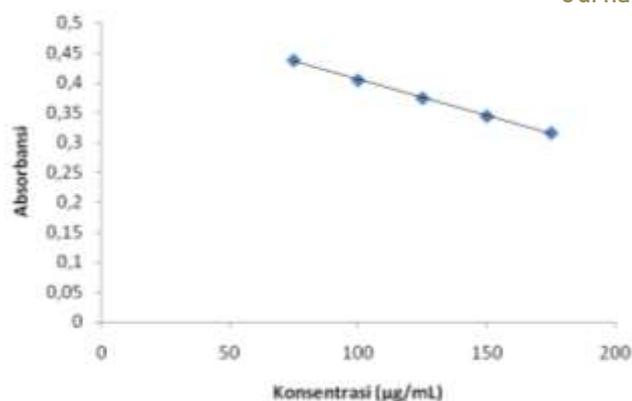
Larutan DPPH yang berkonsentrasi 35 $\mu\text{g/mL}$, setelah 30 menit diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh panjang gelombang maksimumnya adalah 515 nm dan absorbansi 0,750.



Gambar 1. Spektrum Serapan DPPH 35 $\mu\text{g/mL}$

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Infusa

Larutan infusa daun ungu yang telah direaksikan selama 30 menit diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Data hasil pengukuran dapat dilihat pada gambar kurva di bawah ini



Gambar 2. Absorbansi dari DPPH

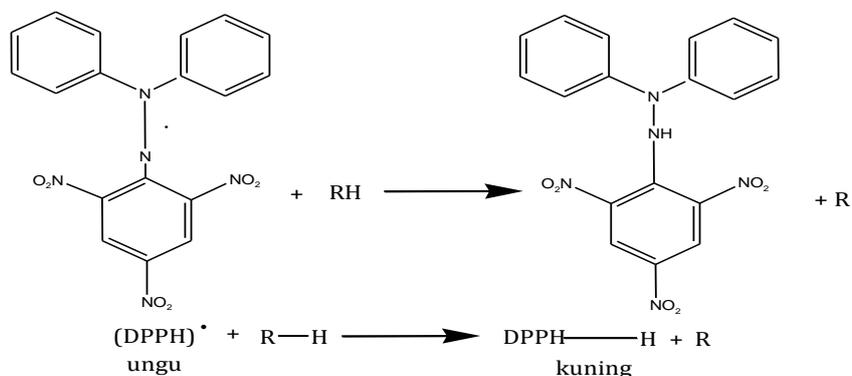
Semakin kecil nilai konsentrasi semakin besar absorbansi. Pernyataan ini sesuai dengan hukum Lambert Beer yang menyatakan bahwa konsentrasi suatu sampel berbanding lurus dengan absorbansi. Pernyataan ini juga dapat dilihat dari perubahan warna DPPH akibat pereaksian dengan infusa.



DPPH (75 100 125 150 175)µg/mL

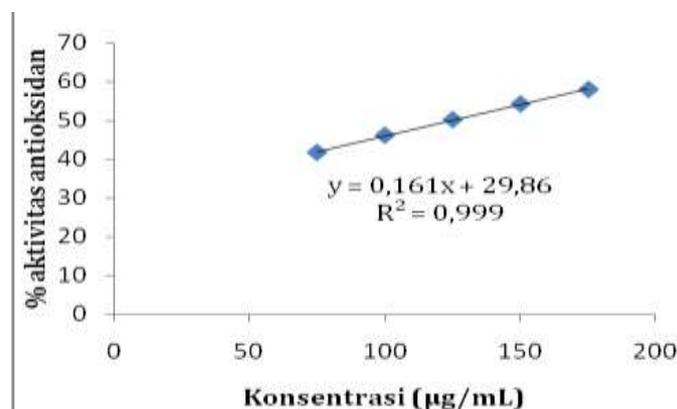
Gambar 3. Perubahan Warna DPPH

Perubahan warna DPPH dalam bentuk pemudaran itu terjadi karena radikal DPPH distabilkan oleh antioksidan dengan cara melepaskan atom hidrogen untuk membentuk DPPH-H stabil sesuai dengan persamaan reaksi di bawah ini:



Gambar 4. Reaksi Penghambatan Radikal DPPH (Inggrid, 2008)

Nilai absorbansi infusa daun ungu yang diperoleh digunakan untuk mengetahui kekuatan antioksidan infusa daun ungu. Aktivitas antioksidan infusa daun ungu dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

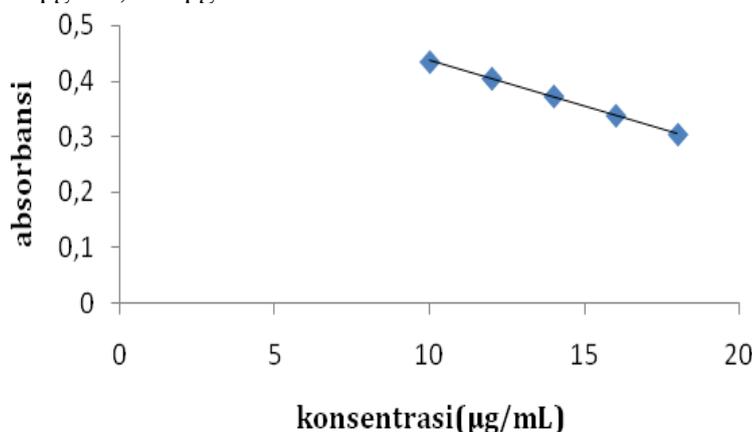


Gambar 5. Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu

Hasil yang didapat dari perhitungan tersebut adalah pada 75 µg/mL aktivitas antioksidan sebesar 41,73%, 100 µg/mL aktivitas antioksidan sebesar 46,13%, 125 µg/mL aktivitas antioksidan sebesar 50,13%, 150 µg/mL aktivitas antioksidan sebesar 54,13%, dan yang terakhir 175 µg/mL aktivitas antioksidan sebesar 57,87%. Ini berarti semakin besar konsentrasi semakin besar persen aktivitas antioksidan sehingga semakin banyak partikel-partikel zat aktif dari infusa tersebut bekerja untuk mengoksidasi partikel DPPH.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C

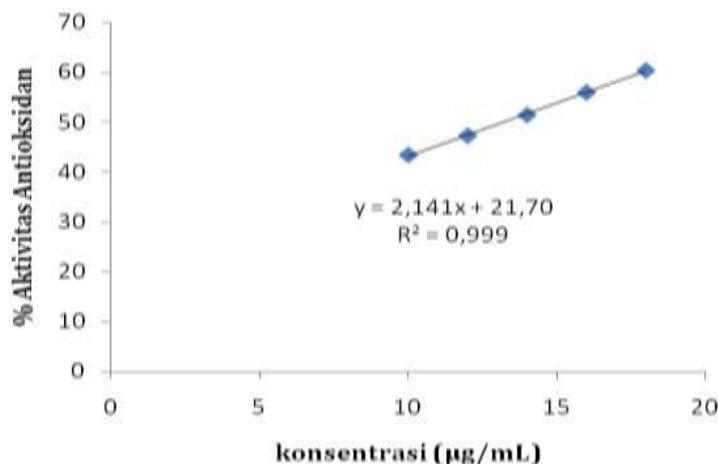
Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder yang mudah diperoleh dalam keadaan murni dan banyak terdapat di alam. Selain itu, vitamin C juga merupakan zat antioksidan alami yang direkomendasikan oleh BPOM untuk dapat dikonsumsi oleh masyarakat umum. Oleh karena itu, pada penelitian ini vitamin C digunakan sebagai larutan perbandingan. Konsentrasi vitamin C sebagai larutan perbandingan adalah 10 µg/mL, 12 µg/mL, 14 µg/mL, 16 µg/mL, 18 µg/mL. Berikut ini adalah kurva nilai absorbansi dari vitamin C:



Gambar 6. Nilai Absorbansi dari Vitamin C

Hasil pengukuran absorbansi vitamin C memperlihatkan hubungan yang linier yaitu semakin kecil nilai konsentrasi semakin besar absorbansi. Ini berarti semakin sedikit partikel antioksidan yang dapat digunakan untuk meredam sifat radikal dari DPPH

Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan dari vitamin C. Berikut ini adalah gambar aktivitas antioksidan vitamin C.



Gambar 7. Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Gambar di atas memperlihatkan bahwa semakin kecil konsentrasi maka persen aktivitas antioksidan semakin kecil. Hasil yang diperoleh pada konsentrasi 10 µg/mL aktivitas antioksidan adalah 43,36%, 12 µg/mL aktivitas antioksidan adalah 47,26%, 14 µg/mL aktivitas antioksidan adalah 51,43%, 16 µg/mL aktivitas antioksidan adalah 55,99%, dan yang terakhir 18 µg/mL aktivitas antioksidan adalah 60,42%. Nilai aktivitas antioksidan yang semakin besar pada konsentrasi yang besar memberi makna bahwa semakin banyak partikel-partikel vitamin C yang bekerja untuk mengoksidasi partikel DPPH.

Perhitungan IC_{50}

IC_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menyatakan kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal dari DPPH sebesar 50%. Ini berarti semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004). Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat jika IC_{50} bernilai 50-100, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150, dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200. (Karim, 2015)

Berdasarkan hukum Lambert-Beer, dibuatlah kurva regresi hubungan aktivitas antioksidan dengan konsentrasi infusa daun ungu dan kurva regresi hubungan aktivitas antioksidan dengan konsentrasi vitamin C. Hasil dari masing-masing kurva regresi adalah untuk infusa daun ungu yaitu $y = 0,161x + 29,85$ dan untuk vitamin C persamaan kurva regresi adalah $y = 2,141x + 21,70$. Nilai R^2 dari persamaan ini menyatakan bahwa terdapat korelasi/hubungan antara konsentrasi sampel dengan % aktivitas antioksidan yang diamati dengan derajat keeratan baik pada kurva regresi infusa maupun vitamin C, yaitu sebesar 0,999. Ini berarti 99% aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh konsentrasi bahan sedangkan sekitar 1% dipengaruhi oleh faktor lain (Karim, 2015).

Hasil perhitungan nilai IC_{50} untuk infusa daun ungu adalah sebesar 125,09 µg/mL dan untuk vitamin C adalah sebesar 13,22 µg/mL. Nilai IC_{50} vitamin C 9,5 kali lebih besar

dibandingkan infusa daun ungu. Secara spesifik berdasarkan nilai IC_{50} , infusa daun ungu memiliki sifat antioksidan lebih kuat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan infusa daun kelor yang dilakukan oleh Yuliani pada tahun 2015 sehingga daun ungu dapat dijadikan sebagai salah satu sumber antioksidan alami yang dapat menghambat radikal bebas.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa infusa daun wungu memiliki aktivitas antioksidan sedang dilihat dari nilai IC_{50} yaitu berada pada konsentrasi 125,09 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih penulis berikan kepada Laboran Kopertis Wilayah X, rekan dosen dan mahasiswa yang membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Da'i, M., dkk., Uji Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun *Elephantopus scaber* L., *Ocimum basilicum* L. *forma citratum* Back., *Graptophyllum pictum* Griff, dan *Gynura procumbens* Merr. Dengan Metode DPPH (1,1- Difenil-2- Pikril Hidrazil) Serta Penetapan Kadar Fenolik Totalnya. *PHARMACON*. 13: 41-46, (2012).
- Ingrid, M. dan Herry, S., *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*, <http://journal.unpar.ac.id>, 05/08/2017
- Isnawati, A., Soediro, I., Pemeriksaan Senyawa-Senyawa Turunan Fenol Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* (L) Griff), *Media Litbang Kesehatan*. XIII: 1-6, (2003)
- Judarwanto, W., 10 Jenis Radikal Bebas Ancam Manusia, <http://lifestyle.kompas.com>, 30/07/2017.
- Juniarti, dkk. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.), *Makara, Sains*, 13:50-54
- Karim, K., dkk., Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia birta* L.), *J. Akad.Kim.*, 4: 56-63, (2015)
- Kristanti, A.N., dkk, *Fitokimia*, Surabaya: Airlangga University Press, (2008)
- Kwartiningsih, E., dkk., Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*), *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*, (2016)
- Maharani, L., 11 Manfaat Daun Ungu untuk Mengobati Penyakit Berat dan Ringan, <http://www.kinisehat.com>, 30/07/2017
- Matheos, H., dkk., Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba*). *Jurnal Ilmiah Farmasi -UNSRAT*. 3: 235-246, (2014)
- Molyneux, P., The Use of the Stable Free Radicals *Diphenylpicrylhydrazyl*(DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science Technology*, 26: 211-219, (2004)
- Soedibyo, M., *Alam Sumber Kesehatan Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta : Balai Pustaka, (1998)

- Tapan, E. 2005. *Kanker, Antioksidan dan Terapi Komplementer*. Jakarta: Gramedia.
- Yuliani, N.N. dan Dienina, D.P., Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) dengan Metode *1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). *Jurnal Info Kesehatan*, 14(2):1060-1082, (2015)