

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Alpukat Menggunakan Metode DPPH

Zaiyar¹, Alfin Surya², Anggun Syazulfa³

¹Program Studi Teknik Sipil Sekolah Tinggi Teknologi Pekanbaru

²Program Studi D-3 Analisis Kesehatan Universitas Abdurrab Pekanbaru

³Jalan. Soekarno hatta No.11 A Pekanbaru

Response Email : alfin.surya@univrab.ac.id

Abstract

Free radicals are molecules that lose electrons in their outer orbitals so that the number of electrons becomes odd and unstable. Free radicals can damage various macromolecule cells including proteins, carbohydrates, fats. Antioxidants are compounds that can donate one or more electrons to free radicals. Avocado leaves contain high bioactive components that can be used as a source of natural antioxidants. Avocado leaves that have been dried, mashed and then shifted with methanol. The extracts were tested by phytochemical screening, including flavonoid, phenolic, tannin and antioxidant activity using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. This method is based on the reduction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) against free radicals which causes a change from purple to yellow 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). From the research, the IC₅₀ values in avocado leaves were 118.8056 µg / mL and 7,276 µg / mL on ascorbic acid as a positive control. From the IC₅₀ value obtained, it is known that the methanol extract of avocado leaves has strong antioxidant activity to fight free radicals.

Key words : Antioxidant, Radical, extract avocado, DPPH

Abstrak

Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan elektron pada orbital terluarnya sehingga jumlah elektronnya menjadi ganjil dan tidak stabil. Radikal bebas dapat merusak berbagai sel makromolekul termasuk protein, karbohidrat, lemak. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas Daun alpukat mengandung komponen bioaktif tinggi yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Daun alpukat yang telah dikeringkan, dihaluskan kemudian dimeserasi dengan metanol. Ekstrak diuji dengan penampisan fitokimia antara lain uji Flavonoid, Fenolik, Tanin dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Metode ini didasarkan reduksi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) terhadap radikal bebas yang menyebabkan terjadinya perubahan dari warna ungu menjadi warna kuning 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Dari penelitian didapatkan nilai IC₅₀ pada daun alpukat 118.8056 µg/mL dan 7,276 µg/mL pada asam askorbat sebagai kontrol positif. Dari nilai IC₅₀ yang didapat diketahui bahwa ekstrak metanol daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat untuk melawan radikal bebas.

Kata kunci : Antioksidan, Radikal bebas, Ekstrak daun alpukat, DPPH

Received: 23 October 2020, **Accepted :** Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.2225>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

1. Introduction

Tanaman alpukat berasal dari Amerika Tengah dan Selatan. Di Indonesia tanaman alpukat merupakan keragaman hayati yang selalu ada disekitar kita, baik itu yang tumbuh secara liar maupun yang sengaja dibudidayakan. Tanaman alpukat keberadaannya tidak asing lagi bagi masyarakat (Semangun, 2018). Daun alpukat merupakan salah satu sumber antioksidan. Daun alpukat dapat membantu dalam mencegah atau memperlambat kemajuan berbagai stress oksidatif, ekstrak daun alpukat juga dapat digunakan sebagai antibakteri, antihipertensi, dan antidiabetes (Widarta dan Amata, 2016).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda atau memperkecil laju reaksi oksidasi pada bahan-bahan yang mudah teroksidasi dan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Anwar, 2014). Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut. Anti aging yang diakibatkan oleh radikal bebas di dalam tubuh yang merusak asam lemak tak jenuh pada membran sel (Winarsi, 2007). Salah satu metode pengukuran radikal bebas oleh senyawa antioksidan adalah dengan menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) merupakan suatu metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen. Metode ini didasarkan reduksi *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) terhadap senyawa penghambat radikal bebas yang menyebabkan terjadinya perubahan dari warna ungu menjadi warna kuning *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) awal yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi inhibisi IC_{50} yang diperoleh (Masrifah dkk., 2017). Menurut penelitian Mufida dkk., (2018), ekstrak daun alpukat mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid. Konsentrasi ekstrak daun alpukat yang relatif paling efektif untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah mancit adalah pada konsentrasi 10% (b/v) dengan $\alpha = 0,05$.

2. The Methods

Sampel dalam penelitian ini adalah daun alpukat didapatkan dari pohon disekitar lingkungan perumahan yang berada di jalan Riau. Bahan larutan kimia berupa Akuades, larutan Metanol, HCl pekat, $FeCl_3$ 1%, logam magnesium, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dan metanol grade HPLC. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah microplate reader berthold model LB-941.

Pembuatan ekstrak biji buah alpukat

Siapkan daun alpukat yang telah dicuci dan dipotong menjadi potongan yang tipis. Daun alpukat tersebut dikeringkan menggunakan suhu ruangan. Daun alpukat yang sudah kering dihaluskan dan ditimbang sebanyak

10 gram, kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca gelap, lalu tambahkan pelarut metanol sampai sampel terendam dan tutup rapat, biarkan selama 72 jam. Setelah 72 jam larutan disaring menggunakan kertas saring, filtratnya dimasukkan ke dalam botol vial dan diuapkan dengan cara dikering anginkan pada suhu ruangan hingga kering dan didapatkan ekstrak kental daun alpukat dengan pelarut metanol.

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan mikroplate reader two fold delution dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) pada panjang gelombang 520 nm pada ekstrak biji buah alpukat. Sampel sebanyak 2 mg dalam 2 mL metanol dengan konsentrasi 1000 ppm. Mikroplate terdiri dari baris A-H masing-masing berjumlah 12 sumur. Baris A dimasukkan sampel sebanyak 100 µL. Sebanyak 50 µL metanol dimasukkan pada masing-masing sumur pada baris B-H. Baris A dipipet sebanyak 50 µL dan dimasukkan ke baris B, baris B dipipet 50 µL dan dimasukkan ke baris C, dan dilakukan hal yang sama sampai baris F, baris F dipipet 50 µL lalu dibuang, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm. Baris A sampai G ditambahkan 80 µL DPPH dengan konsentrasi 40 ppm. Kemudian diinkubasi selama 30 menit ditutup dengan aluminium foil. Aktivitas penangkapan radikal bebas diukur sebagai penurunan absorbansi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) sebagai pembanding yaitu vitamin C dengan konsentrasi 50 ppm. Nilai % inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus :

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = absorbansi sampel

x = konsentrasi sampel

Analisa data menggunakan persentase (%) inhibisi analisis probit dengan membuat kurva hubungan antara persen hambatan dengan konsentrasi sampel dan selanjutnya dihitung nilai IC₅₀ . Nilai % inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ hambatan} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

3. Result And Discussion

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun alpukat menggunakan metode DPPH dengan *microplate reader berthold* model LB-941 pada panjang gelombang 520 nm menghasilkan nilai IC₅₀ seperti yang terlihat pada tabel 1 berikut dengan grafik inhibisi tergambar di grafik 1 dengan pembanding positif asam askorbat terlihat pada tabel 2 :

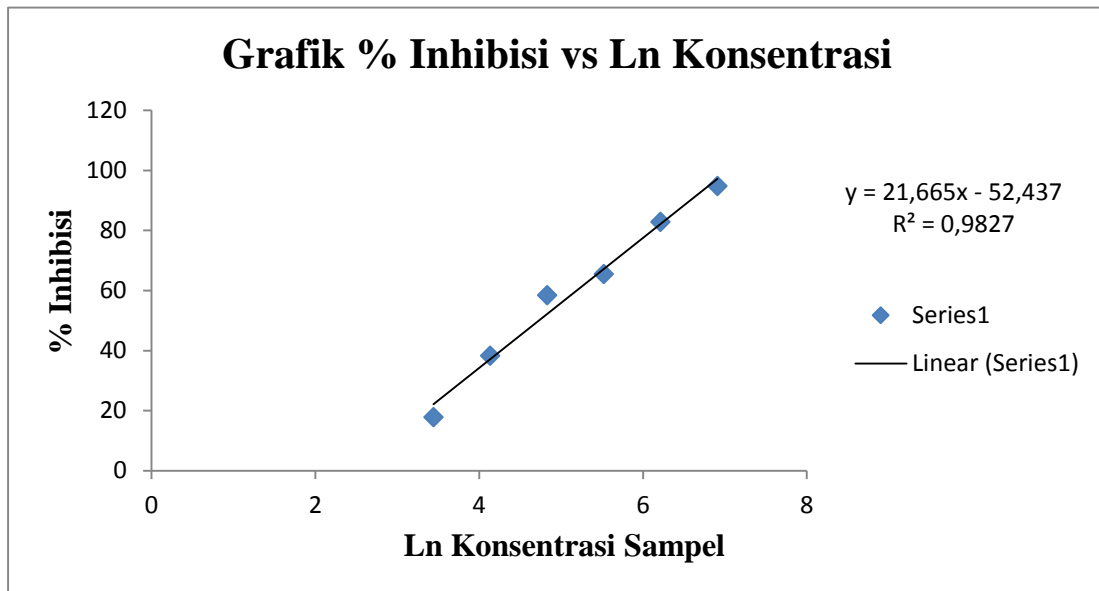
Received: 23 October 2020, **Accepted :** Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.2225>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Tabel 1. Ekstrak daun alpukat menggunakan pelarut metanol sebagai sampel

Konsentrasi metanol ($\mu\text{g/mL}$)	Ln Konsentrasi (X)	% Hambatan (Y)
1000	6,908	94,833
500	6,215	82,904
250	5,521	65,560
125	4,828	58,549
62,5	4,135	38,376
31,25	3,442	17,833



Grafik 1. Hubungan % hambatan dengan konsentrasi sampel

Perhitungan IC_{50} dengan fraksi metanol.

Persamaan regresi linier :

$$Y = 21,665X$$

$$50 = 21,665 \text{ Ln } X + (-52,437)$$

$$\text{Ln } X = 4,7282$$

$$X = 113,0947$$

$$IC_{50} = 113,0947 \mu\text{g/mL}$$

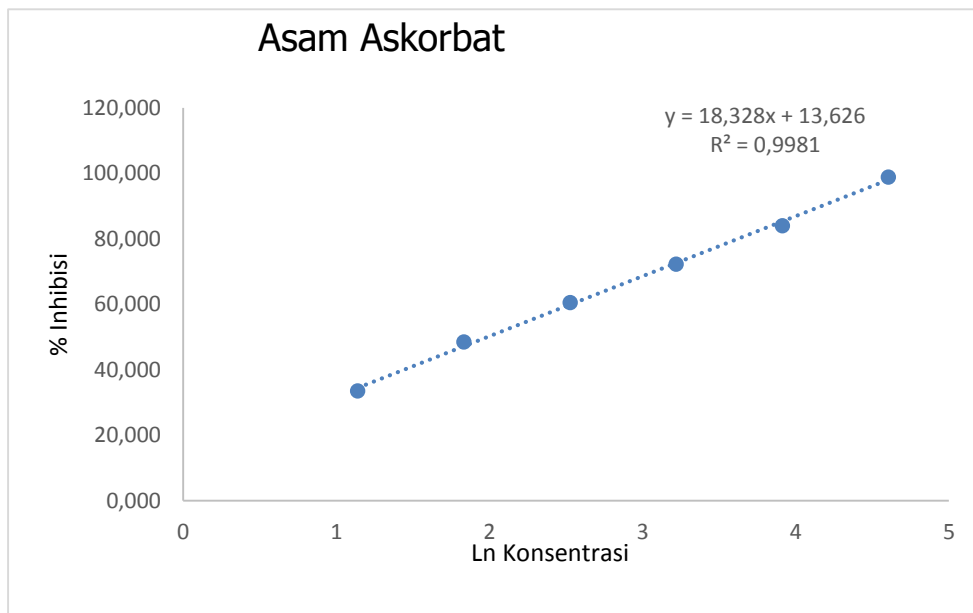
Received: 23 October 2020, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.2225>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Tabel 2. Asam Askorbat Sebagai Kontrol positif

Konsentrasi metanol ($\mu\text{g/mL}$)	Ln konsentrasi (X)	% Hambatan (Y)
100	4,605	98,811
50	3,912	84,016
25	3,219	72,259
12,5	2,526	60,502
6,25	1,833	48,481
3,125	1,138	33,554



Grafik 2. Hubungan % hambatan dengan konsentrasi asam askorbat

Perhitungan IC_{50} Asam Askorbat

Persamaan regresi linier :

$$Y = 18,328X + 13,626$$

$$50 = 18,328X + 13,626$$

$$\text{Ln}X = 1,984$$

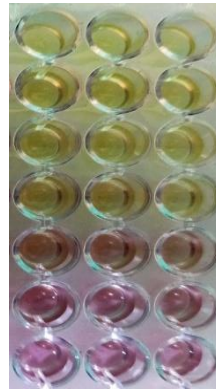
$$X = 7,276$$

$$IC_{50} = 7,276 \mu\text{g/mL}$$

Received: 23 October 2020, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.2225>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)



Gambar 3. Ekstrak Metanol Daun Alpukat

Pengujian antioksidan dengan menggunakan metode penangkal radikal bebas *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal bebas, metode ini terbukti akurat dan praktis. Uji *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) berperan sebagai radikal bebas yang mengandung senyawa nitrogen yang tidak stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Masrifah dkk, 2017).

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya katagori sangat kuat, nilai IC_{50} berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, nilai IC_{50} berada diantara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai IC_{50} berada diantara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya katagori lemah, sedangkan apabila nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah (Bahriul, 2014). Pada kontrol positif asam askorbat didapatkan nilai IC_{50} sebesar 7,276 ($\mu\text{g/mL}$) ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena senyawa murni. Pada uji sampel ekstrak daun alpukat didapat 118,8056 ($\mu\text{g/mL}$) menunjukkan sampel ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas antioksidan yang baik.

4. Conclusion

Hasil analisis pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol kulit petai menggunakan metode DPPH didapatkan nilai IC_{50} sebesar 118,8056 ($\mu\text{g/mL}$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit petai memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Acknowledgement

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Sekolah Tinggi Teknologi Pekanbaru dan teman-teman yang sudah memberikan bantuannya dalam menyelesaikan artikel ini.

References

- Anwar, E. 2012. *Eksipen dalam Sediaan Farmasi Karakterisasi dan Aplikasi*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Masrifah, Rahma, N. dan Abram, H, P. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Daun dan Kulit Labu Air (*Lagennaria siceruui* (Molina) Standl). *Jurnal Akad.Kim*. Volume 6 (2) : Halaman 96-106.
- Mufida., Rahman, N, dan Supriadi. 2018. Efek Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Miller*) dalam Menurunkan Kadar Kolesterol Darah Pada Mancit (*Mus musculus*). *Jurnal Akademik Kimia*, Volume 7, No. 1, 2018: Halaman 11-18.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura Di Indonesia*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Widarta, R, W., dan Amata W. 2016. Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Agritech*, Volume 37, No. 2, Mei 2017: Halaman 148-157.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisus. Yogyakarta.