

Uji Aktivitas Antioksidan pada Daun Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)

*Test of Antioxidant Activity in Blue Lotus (*Nymphaea stellata* Wild) Leaves with DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)*

Rakhmadani Gadis Aprilianti¹⁾, Beta Herilla Sekti^{1)*}, Bella Pratika Sari¹⁾

¹⁾Program Studi DIII Farmasi ITSK RS. dr. Soepraoen, Sukun, Malang, Jawa Timur, Indonesia

*e-mail: betaherilla@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat laju oksidasi molekul lainnya atau dapat menetralkan radikal bebas, antioksidan dapat berupa bentuk sintesis maupun alami. Antioksidan alami dapat melindungi tubuh manusia dari kerusakan oksigen aktif yang dapat menghambat penyakit degeneratif dan menghambat produksi lemak dan makanan. Antioksidan alami bisa didapatkan dari tumbuhan, salah satunya adalah tanaman teratai biru (*Nymphaea stellata* Wild). Untuk memastikan adanya kandungan Antioksidan pada tanaman ini, maka dilakukan pengujian aktivitas Antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH digunakan untuk mengetahui adanya aktifitas penangkapan radikal bebas ekstrak etanol daun teratai biru (*Nymphaea stellata* Wild). Dalam penelitian ini kontrol (+) digunakan Asam Askorbat. Nilai IC₅₀ yang didapatkan untuk pengujian kandungan Antioksidan daun teratai biru adalah 78,405 ppm ± 24,607 dan dinyatakan kuat. Sedangkan Asam Askorbat 2,238 ppm dinyatakan sangat kuat.

Kata kunci: Antioksidan, Radikal Bebas, DPPH

ABSTRACT

*Antioxidants are compounds that can inhibit the rate of oxidation of other molecules or can neutralize free radicals, antioxidants can be in the form of synthetic or natural. Natural antioxidants can protect the human body from the damage of active oxygen which can inhibit degenerative diseases and inhibit the production of fat and food. Natural antioxidants can be obtained from plants, one of which is the blue lotus plant (*Nymphaea stellata* Wild). To ensure the presence of antioxidants in this plant, the antioxidant activity was tested using the DPPH method. The DPPH method was used to determine the free radical scavenging activity of the ethanol extract of blue lotus leaf (*Nymphaea stellata* Wild). In this study the control (+) used Ascorbic Acid. The IC₅₀ value obtained for testing the antioxidant content of blue lotus leaf is 78.405 ppm ± 24.607 and is declared strong. Meanwhile, 2,238 ppm of ascorbic acid was stated to be very strong.*

Keywords: Antioxidant, Free radicals, DPPH

PENDAHULUAN

Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) merupakan genus *Nymphaea* dalam keluarga *Nymphaeaceae*. Tanaman ini nyaris seluruh bagian tumbuhannya memiliki dampak secara farmakologis. Dampak farmakologis yang dimiliki tumbuhan ini antara lain bisa

menyembuhkan penyakit jantung, muntah darah dan disentri. Akarnya bisa digunakan pula selaku obat mimisan. Daun tanaman ini bisa digunakan selaku Antidiabetes, Antikolesterol, serta Antioksidan. Pada bunganya ditemui sitotoksik terhadap karsinoma servik dan bijinya berperan sebagai Antidiare serta Prebiotik (Ismuhajarah G, 2016).

Antioksidan merupakan donor elektron ataupun agen pereduksi dengan menghindari pembentukan radikal bebas dimana senyawa tersebut bisa menonaktifkan pertumbuhan reaksi oksidasi. Definisi lain dari Antioksidan merupakan senyawa yang saat dioksidasi bersama dengan substrat konsentrasi rendah bisa menunda ataupun membatasi oksidasi senyawa (Kuncahyo, 2007). Mekanisme kerja antioksidan dibedakan jadi 2 jenis, ialah antioksidan preventif serta antioksidan pemutusan rantai dimana guna penangkalan antioksidan sendiri merupakan untuk membatasi pembuatan spesies oksigen reaktif (ROS) semacam enzim katalase, peroksidase, superoksida dismutase serta transferin. Antioksidan chain-scission merupakan senyawa yang menangkap radikal bebas oksigen dan kemudian memutus rantai reaksi radikal bebas, seperti asam askorbat, tokoferol, asam urat, bilirubin, serta polifenol. (Ou, 2002). Radikal bebas merupakan atom ataupun molekul yang mempunyai electron baik satu maupun lebih yang tidak berpasangan, tidak normal serta berusia pendek serta sangat reaktif terhadap penyerapan elektron dari molekul lain di dalam tubuh. (Pawarta, 2016).

Daun Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) yang umumnya hanya digunakan selaku tanaman hias belum banyak diteliti sehingga menarik peneliti untuk melakukan riset terhadap ekstrak daun Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) untuk melakukan analisis aktivitas Antioksidan pada daun Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) dengan menggunakan metode DPPH.

METODE

Peneliti memakai metode penelitian eksperimental laboratorium dimana populasinya adalah tanaman Teratai Biru dengan sampel yang diambil merupakan ekstrak etanol daun Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) dengan mempersiapkan 5 konsentrasi ialah 200, 400, 600, 800 ppm, serta yang terakhir merupakan 1000 ppm. Metode pengambilan sampel pada riset ini memakai metode purposive sampling yang memiliki kriteria daun segar. Riset ini diawali dengan pembuatan ekstrak memakai metode soxhletasi, dan dicoba uji kualitatif untuk mencari tahu kandungan yang dimiliki oleh daun Teratai Biru. Berikutnya, penyiapan larutan uji ekstrak etanol dengan cara menimbang ekstrak etanol daun teratai biru sebanyak 500mg masukkan dalam labu 50 ml serta tambahkan etanol 70% sedikit demi sedikit sampai tanda batas, didapatkan larutan dengan konsentrasi 10.000 ppm. Konsentrasi tersebut dibagi jadi 5 konsentrasi yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 pm, 800 ppm, 1000 ppm. Setelah itu, menyiapkan larutan DPPH serta larutan pembanding yaitu asam ascorbat, menentukan panjang gelombang, mengukur absorbansi, dan pada tahap terakhir adalah melakukan analisis data. Didalam analisis data terdapat perhitungan persen (%) perendaman yang dilakukan dengan rumus sebagai berikut: (Pawarta, 2016).

$$\% \text{Perendaman} = \left(1 - \frac{\text{Abs. sampel}}{\text{Abs. DPPH}}\right) \times 100\%$$

Daya antioksidan perendaman radikal bebas DPPH dinyatakan dengan % peredaman ekstrak etanol daun Teratai Biru (*Nymphaea stellata* Wild) serta asam askorbat, lalu dianalisis dan dihitung nilai IC₅₀ keduanya menggunakan analisis regresi linier untuk mengetahui aktivitas antioksidannya (Azlim Almey, 2010).

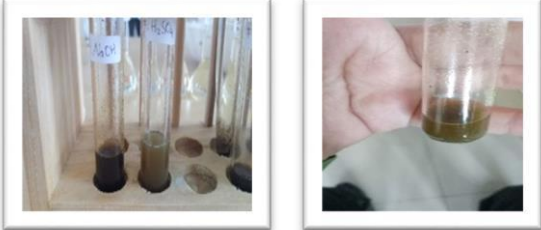




$$y = ax + b$$

Keterangan dari rumus di atas adalah: y merupakan % aktivitas antioksidan, x merupakan konsentrasi larutan uji, a merupakan tetapan slope dan b merupakan tetapan intersep. Hasil analisis regresi linear berupa nilai x, yang selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus IC₅₀ = antilog X serta ditentukan tingkat kekuatan antioksidannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari dua ratus gram serbuk simplisia Daun Teratai yang disokhletasi dengan 1 L pelarut didapatkan ekstrak kental dengan berat 8,19 g dengan persen rendemen 4,09%. Uji Kualitatif dilakukan dengan menguji adanya kandungan Flavonoid, Tanin, Polifenol, Alkaloid, dan Saponin. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrinning Fitokimia

No.	Senyawa	Gambar
1.	Flavonoid	
2.	Tanin	
3.	Saponin	
4.	Polifenol	
5.	Alkaloid	

Ekstrak etanol daun teratai menampilkan perubahan warna biru, berarti positif memiliki kandungan flavonoid. Adapula kandungan tanin dengan pergantian warna jadi biru kehitaman, kemudian kandungan polifenol ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru ataupun hijau kehitaman. Pada kandungan alkaloid ditunjukkan dengan terjadinya endapan, dan kandungan saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil selama 10 menit.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, prinsip metode tersebut dengan lenyapnya warna ungu akibat adanya reduksi DPPH oleh antioksidan tersebut. Intensitas warna ungu yang hilang yang akan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm dengan absorbansi blanko sebesar 0,027. Panjang gelombang pada penelitian ini sesuai dengan jangkauan panjang gelombang maksimum pada pengukuran dengan metode DPPH antara 515 nm sampai dengan 520 nm (Molyneux, 2004). Pengujian dalam penelitian ini terhadap 5 seri konsentrasi yaitu 200 ppm hingga 1000 ppm dengan kelipatan dua untuk direaksikan dengan radikal bebas DPPH dengan waktu perendaman pada masing-masing konsentrasi selama 30 menit.

Intensitas warna ungu yang berkurang dari larutan DPPH dikala direaksikan menampilkan bahwa ekstrak etanol daun Teratai Biru memiliki kemampuan antioksidan. Berkurangnya intensitas warna ungu menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa ekstrak etanol daun Teratai Biru sehingga membentuk senyawa 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil berwarna kuning. Konsentrasi yang semakin besar maka akan menghasilkan warna kuning yang semakin kuat dan secara kuantitatif pengurangan intensitas warna ungu dari larutan DPPH dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut, apabila dalam pengujian semakin besar konsentrasi larutan uji maka absorbansi yang dihasilkan akan semakin kecil dimana hal ini menunjukkan kemampuan larutan uji dalam merendam radikal DPPH semakin besar (Rahmatia, 2018). Hasil pengujian aktifitas antioksidan ekstrak etanol daun Teratai Biru dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Teratai Biru terhadap DPPH

No	Konsentrasi (ppm)	Persen Perendaman (%)			Rata-rata persen perendaman (%) ± SD	Persamaan regresi linear
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	200	22,222	22,222	22,222	22,222±0	y = 37,211x – 63,32 r = 0,9986
2	400	33,333	33,333	33,333	34,567±2,138	
3	600	44,445	40,740	40,740	41,975±2,138	
4	800	55,556	44,445	44,445	48,148±6,414	
5	1000	59,259	48,148	48,148	51,851±6,419	

Dari data tersebut diperoleh persamaan regresi linear $y = 37,211x - 63,32$ dengan koefisien korelasi 0,9986. Pada persamaan regresi linear nilai R pada tabel diatas untuk mengetahui arah hubungan antara dua variabel dan besarnya koefisien korelasi antar dua variabel yaitu nol sampai dengan satu. Apabila terdapat dua variabel memiliki nilai r sama dengan nol, berarti antara dua buah variabel tersebut tidak ada hubungan. Sedangkan, apabila dua variabel memiliki nilai r sama dengan kurang lebih satu maka dua variabel tersebut memiliki hubungan yang sempurna (Rahmatia, 2018). Berdasarkan hal tersebut nilai r pada persamaan diatas, dimana nilai r positif diketahui bahwa hubungan antara 2 variabel memiliki hubungan yang sempurna yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun Teratai Biru maka semakin besar pula perendamannya. Parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan hasil 50 persen aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal DPPH adalah nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Nilai IC₅₀ didapatkan dari persamaan regresi linear yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan persen perendamannya. semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidan.

Tabel 3. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Teratai Biru

Nilai IC ₅₀			Rata-rata IC ₅₀ ± SD
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
106,414 ppm	68,548 ppm	60,255 ppm	78,405 ppm ± 24,607

Data nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun Teratai Biru adalah 78,405 ppm ± 24,607. Nilai tersebut menyatakan bahwa ekstrak etanol daun teratai biru memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena nilai IC₅₀ nya berada diantara 50 sampai dengan 100 ppm.

Tabel 4. Perhitungan nilai IC₅₀ Asam Askorbat

No.	Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (x)	Persen perendaman (%)
1.	2	0,301	3,703
2.	4	0,602	14,814
3.	6	0,778	22,222
4.	8	0,903	29,629
5.	10	1,000	33,333

Persamaan garis lurus $y=ax+b$ dapat diperoleh dengan analisis antara log konsentrasi (x) dan persen perendaman (y), serta harga IC₅₀ diperoleh dari persamaan garis lurus tersebut dimana $y= 5$ (persen perendaman 50%). Data pada tabel 4 menghasilkan nilai IC₅₀ asam ascorbat sebesar 2,238 ppm yang dinyatakan dengan sangat kuat karena nilainya kurang dari 50 ppm.

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan berdasarkan tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Teratai Biru memiliki aktivitas antioksidan kuat terhadap DPPH (1,1- Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) yang menunjukkan nilai IC₅₀ 78,405 ppm ± 24,607 dan Asam Askorbat juga memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai 2,238 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Azlim Almey, A., 2010. Total Phenolic Content And Primary Antioxidant Activity Of Methanolic And Ethanolic Extracts Of Aromatic Plants' Leaves. *International Food Research Journal*, Volume 17, Pp. 1077-1084.
- Kuncahyo, I. S., 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi*, Volume 4, P. 14.
- Ismuhajarah G (2016) 'Perbandingan Morfologi Dan Biologi Bunga Pada Dua Spesies Teratai (Nymphaea) Di Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan', in *Perbandingan Morfologi Dan Biologi Bunga Pada Dua Spesies Teratai (Nymphaea) Di Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan*. Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah, pp. 896-900.
- Molyneux, P., 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl- Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 26(2), Pp. 211-219.
- Ou, B. Huang., 2002. Analysis Of Antioxidant Activities Of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) And Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). *A Comparative Study, J. Agric. Food Chem*, Volume 50, Pp. 3122-3128.
- Pawarta,., 2016. *Antioksidan*. Bali: Universitas Udayana.
- Rahmatia, A. R., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Drymoglossum Piloselloides [L.] Presl.) Dengan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). Volume 1, Pp. 1-69.