

**DAYA PEREDAMAN RADIKAL BEBAS
EKSTRAK METANOL BIJI PEPAYA (*Carica papaya* L.) DENGAN
METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl)**

Erna Valentina

Falkultas Farmasi

ernaValentina7@gmail.com

Abstrak -Telah dilakukan uji daya peredaman radikal bebas ekstrak metanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl) secara spektrofotometri sinar tampak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kapasitas peredaman radikal bebas ekstrak metanol biji buah pepaya. Uji kapasitas peredaman radikal bebas DPPH menggunakan pelarut metanol dan absorbansi diukur dengan spektrofotometer sinar tampak merk Cintra 101 pada panjang gelombang λ 516,514 nm. Parameter yang diukur adalah harga EC_{50} yang menunjukkan konsentrasi senyawa yang dapat mereduksi intensitas warna DPPH menjadi setengahnya. Hasil perhitungan koefisien korelasi (r-hitung) antara konsentrasi vs % peredaman replikasi 1-4 sebesar 0,9946 – 0,9969 dengan nilai r-tabel 0,959 menunjukkan adanya korelasi bermakna antar kadar ekstrak metanol biji buah pepaya dengan peredaman radikal bebas DPPH karena r-hitung > r-tabel. Harga rata-rata EC_{50} ekstrak metanol biji buah pepaya adalah 53,41 bpj. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa ekstrak metanol biji buah pepaya mempunyai daya antioksidan dan daya peredam radikal bebas yang potensial terhadap DPPH.

Kata kunci : biji pepaya (*Carica papaya* L.), 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl (DPPH), metanol, EC_{50}

Abstract -It has been tested using power reduction of free methanol radicals seed extracts of papaya (*Carica papaya* L.) by the method of DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl) are visible spectrophotometry. The purpose of this study was to determine the damping capacity of the methanol extract of free radicals papaya fruit seeds. Damping capacity test using the free radical DPPH methanol and absorbance was measured with a spectrophotometer Cintra of 101 brand visible light at a wavelength λ 516.514 nm. Parameters measured were showing the price EC_{50} concentrations of compounds that can reduce the color intensity of DPPH half. The results of the calculation of the correlation coefficient (r-count) between the concentration of replication vs % damping replication 1-4 is 0.9946 to 0.9969 with r-table 0.959 shows a significant correlation between the levels of methanol extracts of papaya seeds to the reduction of free radical DPPH as r -count> r-table. Average price EC_{50} methanol extracts of papaya seeds is 53.41 ppm. From the research it is known that methanol extracts of papaya seeds have the power

of antioxidants and free radical reducer power potential againsts DPPH.

Keywords: seeds of papaya (*Carica papaya* L.), 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl (DPPH), methanol, EC₅₀.

PENDAHULUAN

Dahulu proses menua dianggap wajar dan tidak mungkin dihindari karena berlangsung secara alami. Namun, seiring dengan kemajuan ilmu dan teknologi di bidang kedokteran, saat ini proses menua telah diketahui bukan hanya sebagai akibat usia yang bertambah atau pengaruh faktor genetik dan lingkungan, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh faktor lain seperti stress, defisiensi vitamin dan mineral, menurunnya system kekebalan tubuh ataupun karena serangan dari radikal bebas (**Dalimrtha dan Soedibyo,1999**). Untuk melindungi kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas diperlukan peredam radikal bebas atau antioksidan. senyawa antioksidan non-enzim berasal dari bahan makanan. Beberapa bahan makanan tersebut dapat berupa buah-buahan, sayuran dan rempah. Dari beberapa jenis tanaman buah tersebut telah diketahui mempunyai zat yang berfungsi sebagai antioksidan seperti vitamin dan metabolit sekunder yang lain. Dalam pemanfaatannya, bagian yang biasa dipakai adalah buahnya. Sedangkan bijinya jarang digunakan dan hanya menjadi limbah. Biji pepaya yang biasa dibuang ternyata mempunyai khasiat melindungi tubuh. Biji pepaya merupakan bagian yang paling tinggi kandungan proteinnya lebih dari 24% dan bisa mudah dicerna, 32 % karbohidrat dan 25% minyak termasuk minyak esens. (**Tietze, 2002**). Dalam minyak yang terdapat dalam biji pepaya terkandung asam lemak oleat yang tinggi yaitu 71,30% dan kandungan tokoferol 74, 71 mg/kg, serta karotenoid 7,05 mg/kg (**Malacrida., et al, 2011**). Dalam penelitian sebelumnya telah diuji kandungan dari ekstrak biji papaya dengan menggunakan metode DPPH dengan beberapa pelarut seperti etanol, petroleum eter, fraksi air, dan asam askorbat. Dan hasil EC₅₀ masing-masing pelarut adalah 64,61 mg/ml, 109,30 mg/ml, 248,63 mg/ml, 1009,50 mg/ml, 1628,33 mg/ml, dan 66,96 mg/ml (**Zhou.,et al, 2011**). Berdasarkan penelitian di atas maka metode yang dipilih pada penelitian skripsi daya peredaman radikal bebas ekstrak

metanol biji pepaya pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pepaya yang telah dikeringkan yang berasal dari buah pepaya masak yang dibeli dari pasar daerah Kutisari pada bulan September 2012, kemudian biji pepaya dideterminasikan pada Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT), Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya.

Serbuk biji pepaya 250 gram kemudian ditumbuk dan diayak dengan mesh 40. Sesudah itu diekstraksi dengan pelarut metanol dengan cara maserasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai 1/3 volume. Hasilnya dituang ke dalam cawan dipekatkan di atas *water bath* pada suhu tidak lebih dari 60°C sambil diaduk-aduk hingga didapat ekstrak kental, sampai bobot konstan. Lalu dibuat larutan uji 1000 bpj kemudian dibuat pengenceran 40 bpj, 60 bpj, 80 bpj, 100 bpj, dan 120 bpj kemudian diuji daya peredam radikal bebas secara kualitatif dengan penambahan larutan DPPH untuk mengetahui adanya reaksi warna yaitu perubahan warna yang terjadi. Secara kuantitatif dengan menentukan panjang gelombang dari DPPH terlebih dahulu diamati absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm – 700 nm. Penentuan lama reaksi juga dilakukan yaitu dengan cara uji dengan konsentrasi tertentu Diamati Absorbansi-nya pada λ_{maks} DPPH dengan interval waktu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 menit. Sebagai pembanding digunakan 3,0 ml larutan DPPH 0,004% ditambah 1,5 ml metanol p.a.

Ekstrak pekat dibuat larutan uji 500 bpj kemudian dibuat pengenceran 20 bpj, 40 bpj, 60 bpj, 80 bpj, 100 bpj, 120 bpj lalu ditambahkan larutan DPPH dan diamati absorbansinya menggunakan spektrofotometri Cintra 101. Dari data absorbansi yang didapat dihitung nilai %peredaman oleh larutan uji, lalu dibuat perhitungan korelasi dan persamaan garis regresinya serta dibuat kurva antara konsentrasi vs %peredaman. Dari data tersebut kita dapat menghitung Efektive Concentration 50 (EC 50) dari ekstrak biji

papaya. Berdasarkan hasil perhitungan regresi antara konsentrasi larutan uji (x) dan %peredaman (y) dapat diperoleh persamaan $y = a + bx$ dan dapat diketahui nilai r hitung yang akan menunjukkan ada atau tidaknya korelasi antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman. Bila hasil perhitungan r menunjukkan hasil yang lebih besar dari nilai r table pada $\alpha = 0,05$ berarti terdapat korelasi antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman (**Hadi, 2000**).

HASIL DAN PEMBAHASAN

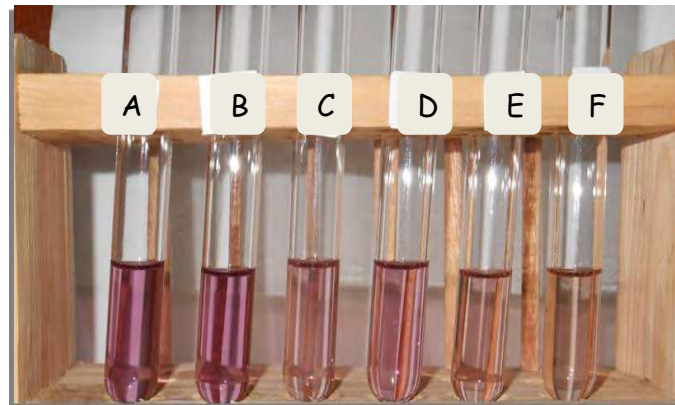
Untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan dari biji pepaya maka dilakukan uji aktivitas peredaman radikal bebas dengan metode DPPH secara kualitatif dan kuantitatif.

Metode DPPH dipilih dengan pertimbangan bahwa metode ini lebih sederhana untuk menetapkan besarnya daya peredam radikal bebas, tidak memerlukan instrument yang rumit dan bahan yang terlalu banyak jika dibandingkan dengan metode – metode yang lain, selain itu DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang relatif stabil(**Larson, 1997**).

DPPH akan berwarna ungu apabila dilarutkan dalam pelarut yang dapat melarutkannya (etanol, metanol, campuran etanol / metanol dengan air), apabila bereaksi dengan senyawa peredam radikal bebas maka akan terjadi pemudaran warna ungu. Perubahan warna ini diukur menggunakan spektrofotometer yang ditunjukkan dengan pembacaan nilai absorbansi (**Joyeux et al.,1995**).

Bobot bahan serbuk biji pepaya seberat 250,0 gram diekstraksi secara maserasi didapat hasil ekstrak metanol biji pepaya seberat 16,4917 gram

Hasil pengamatan adanya aktivitas peredaman radikal bebas terhadap DPPH ekstrak methanol biji buah papaya secara maserasi pada uji perubahan warna larutan *1,1 Diphenyl-2- Picryl Hidrazil* (DPPH)



Gambar 1 Uji kualitatif untuk menunjukkan adanya aktivitas peredaman DPPH pada ekstrak metanol biji pepaya

Keterangan gambar :

- A. 1,5 ml metanol + 3 ml larutan DPPH 0,004%
- B. 1,5 ml larutan ekstrak metanol biji pepaya 20 bpj + 3,0 ml larutan DPPH
- C. 1,5 ml larutan ekstrak metanol biji pepaya 40 bpj + 3,0 ml larutan DPPH
- D. 1,5 ml larutan ekstrak metanol biji pepaya 60 bpj + 3,0 ml larutan DPPH
- E. 1,5 ml larutan ekstrak metanol biji pepaya 80 bpj + 3,0 ml larutan DPPH
- F. 1,5 ml larutan ekstrak metanol biji pepaya 100 bpj + 3,0 ml larutan DPPH

Diamati perubahan warna yang terjadi dan dibandingkan dengan pembanding. Semakin besar konsentrasi larutan uji, maka makin besar aktivitas peredam radikal bebas. Daya meredam radikal bebas ditunjukkan dengan kemampuannya memudahkan warna ungu dari larutan senyawa radikal bebas DPPH menjadi kuning.

Panjang gelombang maksimum untuk uji kapasitas peredaman radikal bebas DPPH yang didapat pada pengukuran antara 400 – 700 nm adalah 516,541 nm.

Hasil pengamatan waktu reaksi pengujian daya antioksidan ekstrak metanol biji pepaya dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka pengamatan selanjutnya dilakukan dengan waktu reaksi 10 menit.

waktu	Absorbansi
5 menit	0,5102
10 menit	0,5064
15 menit	0,5042
20 menit	0,5023
25 menit	0,5004
30 menit	0,4996

Tabel 1 waktu pengamatan daya peredaman radikal bebas DPPH untuk ekstrak metanol biji buah pepaya

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa adanya peningkatan waktu pengamatan, absorbansi dari larutan DPPH akan semakin menurun. Oleh karena itu pada akhirnya ditetapkan waktu reaksi yang digunakan adalah pada menit ke-10, dengan pertimbangan selisih nilai pada absorbansi yang besar terlihat pada waktu menit ke-10, sedangkan nilai absorbansi selanjutnya, yaitu dari menit ke- 15 sampai 30 menunjukkan nilai absorbansi yang lebih kecil dibandingkan menit ke- 10. Dianggap setelah menit ke-10, karena pada waktu itu reaksi antara larutan uji dengan DPPH relative sempurna. Berdasarkan hasil tersebut, maka untuk selanjutnya setiap pembacaan absorbansi dari larutan uji yang dicampur dengan larutan DPPH 0,004% dalam metanol dilakukan pada menit ke-10.

Selanjutnya dilakukan uji peredam radikal bebas terhadap larutan DPPH. Setiap pengukuran dilakukan pengukuran absorbansi larutan pembanding yang dibuat 1,5 ml larutan metanol dan 3,0 ml larutan DPPH 0,004%. Pengukuran absorbansi masing – masing pengenceran larutan uji dilakukan dengan 1,5 ml larutan uji ditambah 3,0 ml larutan DPPH 0,004%, dikocok homogen dan didiamkan selama 10 menit agar larutan DPPH dapat bereaksi dengan sempurna dengan larutan uji kemudian diamati absorbansinya dan dihitung besarnya % peredaman.

Hasil pembacaan absorbansi pengujian daya antioksidan ekstrak metanol biji pepaya.

Tabel 2 Hasil Pembacaan Absorbansi dan Perhitungan % Peredaman Ekstrak Metanol Biji Buah Pepaya terhadap larutan DPPH

replikasi	Bobot ekstrak (mg)	Konsentrasi (bpj)	A larutan uji	A pembanding	% peredaman
1	25,3	20,24	0,5212	0,8175	36,25
		40,48	0,4664		42,95
		60,72	0,3901		52,28
		80,96	0,3004		63,25
		101,2	0,2083		74,52
		121,44	0,1711		79,06
2	25	20	0,5481	0,8294	33,92
		40	0,4395		47,01
		60	0,3962		52,23
		80	0,3172		61,75
		100	0,2441		70,57
		120	0,1597		80,74
3	25,3	20,24	0,5651	0,8679	34,88
		40,48	0,4983		42,57
		60,72	0,3727		57,06
		80,96	0,3219		62,90
		101,2	0,2518		70,99
		121,44	0,1649		80,99
4	25,7	20,56	0,5765	0,8727	33,94
		41,12	0,4971		43,04
		61,68	0,4129		52,68
		82,24	0,3298		62,20
		102,8	0,2168		75,16
		123,36	0,1688		80,66

Hasil EC₅₀ replikasi 1-4 masing- masing sebesar 52,99 bpj, 52,84 bpj, 52,71 bpj, dan 55,11 bpj. Kemudian dirata-rata sehingga didapatkan harga EC₅₀.

Tabel 3 Persamaan Regresi Linier dan Nilai EC₅₀ Ekstrak Metanol Buah Pepaya

Replikasi	Persamaan Regresi Linier	r- hitung	EC ₅₀ (bpj)
1	y=26,0750 + 0,4514x	0,9946	52,99
2	y= 26,2744 + 0,4490x	0,9959	52,84
3	y= 26,0700+0,4540x	0,9945	52,71
4	y= 24,0031+ 0,4717x	0,9969	55,11
Rata – rata			53,41
SD			1,137
KV			2,13%

Dari hasil data regresi linieritas untuk fraksi metanol biji pepaya menunjukkan adanya korelasi yang baik antara kadar dengan % peredaman radikal bebas DPPH. Dimana hasil uji koefisien korelasi (r) untuk ekstrak metanol pepaya adalah 0,9945-0,9969 dan lebih besar dari r- tabel yaitu 0,959 pada $\alpha = 0,01$.

Tabel 4 Hasil Perhitungan Koefisien Korelasi (r-hitung) antara Konsentrasi vs % Peredaman dibandingkan dengan Nilai r (r-tabel)

Replikasi	r- hitung	r-tabel
1	0,9946	0,959
2	0,9959	
3	0,9945	
4	0,9969	

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengujian daya peredam radikal bebas dari biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Biji pepaya (*Carica papaya* L.) yang dibeli dari pasar Kutisari, Surabaya, Jawa Timur mempunyai daya antioksidan terhadap DPPH
2. Nilai rata-rata EC_{50} daya peredam radikal bebas ekstrak metanol biji buah pepaya adalah sebesar 53,41 bpj

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disarankan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji daya peredam radikal bebas pada bagian-bagian lain dari tanaman buah pepaya, seperti: batang, akar, bunga, dan daun.
2. Perlu dilakukan penelitian dan pengembangan lebih lanjut mengenai peredam radikal bebas pada biji buah pepaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan metode pembentukan Khelat, metode β -carotene bleaching, metode CR, metode ORAC (*oxygen Radical Absorbance Capacity*), metode NO (*Nitric oxide*), metode ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*), metode FTC (*Ferric Thiocyanate*), metode CUPRAC, metode

Fosfomolibdat, metode FRAP (*Ferric Reduction Power*) dan metode TBA (*Tiobarbiturat*).

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha S dn Soediby, 1999, *Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplement*, Cetakan ke-2, Penerbit Trubus Agriwidya, Jakarta, hal. 249-251, 432, 439.
- Malacrida CR, Kimura M, dan Jorge N, 2011, *Characterization of a High Oleic Oil Extracted from Papaya (Carica papaya L.) seeds*, *Departement of Food Engineering and Technology, Sao Paulo State University – UNESP, Brazil*. 929 – 934.
(email:cmalacrida@terra.com.br diakses pada 31 Januari 2013)
- Tietze, Herald W, 2002, *Papaya as Medicine a Safe and Cheap Form of Food Therapy*, PT. Prestasi Pustaka Raya, Jakarta, hal. 55.
- Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Luo Y, dan Dai H, 2011, *Antioxidant Activity of Papaya Seed Extracts*, China. 6180 – 6190
(www.mdpi.com/journal/molecules diakses pada 30 Januari 2013)
- Larson RA, 1997, *Naturally Occuring Antioxidants*, Lewis Publisher, boca Raton, New York,p. 25,28,75,76.
- Joyeux M, Lobstein A, Anton R, dan Mortier F, 1995, *Comparative Antilipoperoxidant, Antinecrotic, and Scavenging Properties of Terpenes and Biflavones from Ginkgo and some Flavonoids*, *Planta Medica*, 61, 126 - 129