

**DAYA PEREDAM RADIKAL BEBAS
EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU MENTE (*Anacardium occidentale* L.)
TERHADAP DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*)**

Riana Rahmawati Djojopranoto

Fakultas Farmasi
hyd_frut1961@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan uji daya peredam radikal bebas dari ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente (*Anacardium occidentale* L.) secara kualitatif dengan reaksi warna dan kuantitatif dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Pengujian daya peredam radikal bebas secara kualitatif ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu dari larutan DPPH. Pengujian secara kuantitatif, menggunakan spektrofotometer sinar tampak yang diamati pada panjang gelombang 520,8 nm pada menit ke-10. Hasilnya didapatkan nilai EC₅₀ untuk ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente masing-masing adalah 16,05 bpj dan 22,86 bpj. Hasil perhitungan statistik dengan *t test* ($\alpha = 0,05$), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara EC₅₀ ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente. Daya peredam radikal bebas ekstrak etanol daun muda jambu mente mempunyai daya peredam radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun tua jambu mente. Hal ini disebabkan karena daun muda memiliki kandungan metabolit sekunder lebih banyak dibanding dengan daun tua, yang diperlukan dalam proses pertumbuhan, perkembangan, dan pembelahan sel-sel daun tersebut.

Kata kunci: Radikal bebas, DPPH, jambu mente, *Anacardium occidentale*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya (Winarsi, 2007). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi stabil, tetapi molekul tubuh yang diambil elektronnya kemudian berubah menjadi radikal bebas. Tubuh memerlukan suatu substansi penting, yaitu antioksidan, yang mampu menangkap radikal bebas sehingga senyawa radikal menjadi stabil dan tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Trilaksani, 2003).

Sebuah penelitian mengatakan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintetik. Karena itu, antioksidan

alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintetik (Paiva, 1999). Salah satu sumber antioksidan alami berasal dari daun jambu mente (*Anacardium occidentale* L.).

Tanaman jambu mente merupakan komoditi ekspor yang banyak manfaatnya, mulai dari akar, batang, daun, dan buahnya. Kegunaan tanaman ini sangat beragam, antara lain buah semu biasanya dimakan dan rasanya manis agak sepat, biji buah yang dikenal dengan nama kacang mente sering digunakan sebagai makanan atau campuran dalam kue atau coklat, daun muda biasa dimakan sebagai lalap (sayur mentah), dan daun tua digunakan untuk obat luka bakar (Hakimah, 2010).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai daya peredam radikal bebas dari daun jambu mente. Daun jambu mente yang diteliti dibedakan menjadi dua bagian, yaitu daun muda dan tua. Kedua jenis daun jambu mente tersebut diekstraksi menggunakan metode pengadukan selama 1 jam dan pendiaman selama 24 jam dengan pelarut etanol 80%. Pengujian daya peredam radikal bebas dilakukan secara kualitatif dengan reaksi warna dan kuantitatif dengan metode DPPH. Kemudian dihitung EC_{50} (*Effective Concentration*), yang merupakan konsentrasi dari ekstrak etanol daun jambu mente yang memberikan peredaman radikal sebanyak 50%. Dari sini dapat diketahui berapa efektivitas daya peredam radikal bebas dalam daun muda dan tua jambu mente.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah pengayak mesh 20, *Moisture Content Balance* (Mettler Toledo), timbangan analitik (OHAUSS), pengaduk kinetik (Stirring motor IKA RW 20N), *rotary evaporator* (Rotavapour Heidolp Laborota 400), *waterbath* (Memmert), spektrofotometer UV-Vis (Cintra), alat-alat gelas laboratorium, *alluminium foil*, dan *stopwatch*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun muda dan tua jambu mente (*Anacardium occidentale* L.) yang berasal dari daerah Taman, Sidoarjo, etanol p.a

(Mallinckrodt), aquadem, dan DPPH (Sigma-Aldrich). Kriteria yang digunakan untuk pengambilan daun muda adalah 3 daun dari pucuk, sedangkan kriteria untuk pengambilan daun tua dimulai pada daun ke-6 dan selebihnya dari pucuk. Bahan penelitian yang akan digunakan telah dideterminasi di Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT) Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.

Prosedur Kerja

Penyiapan Bahan Penelitian

Daun muda dan tua jambu mente dibersihkan dari kotoran yang melekat, dicuci, dan ditiriskan. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tanpa pengaruh sinar matahari secara langsung) dan dihaluskan hingga menjadi serbuk, diayak dengan menggunakan ayakan mesh 20 hingga diperoleh serbuk halus.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak ± 150 gram serbuk daun kering diekstraksi dengan pelarut etanol 80%. Dilakukan pengadukan selama 1 jam dalam keadaan tertutup dan didiamkan selama 24 jam agar terjadi kesetimbangan. Ekstrak disaring sehingga didapatkan filtrat I dan ampas. Ampas kembali diekstraksi dengan cara yang sama hingga didapatkan filtrat III. Filtrat I, II, III dicampur dalam satu wadah dan selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sampai $\frac{1}{3}$ bagian volume lalu pemekatan dilanjutkan di atas *waterbath* pada suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak kental daun jambu mente.

Uji Kualitatif Daya Peredam Radikal Bebas dengan Reaksi Warna

Larutan DPPH 0,004% sebanyak 3,0 ml dalam tabung reaksi bersih dan kering, ditambah 1,5 ml larutan uji, dikocok sampai homogen. Dilakukan terhadap larutan uji dari konsentrasi kecil ke besar. Sebagai pembanding digunakan larutan DPPH 0,004% sebanyak 3,0 ml ditambah 1,5 ml etanol 80%. Diamati perubahan warna yang terjadi.

Uji Kuantitatif Daya Peredam Radikal Bebas dengan Metode DPPH

Pertama, dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum dengan mengamati absorbansi larutan DPPH 0,004% pada panjang gelombang 400-700 nm. Absorbansi terbesar yang terjadi merupakan panjang gelombang maksimum

dari DPPH. Kedua, dilakukan penentuan waktu reaksi peredaman radikal bebas DPPH. Diamati absorbansinya pada λ_{\max} DPPH dengan interval waktu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 menit. Ketiga, dilakukan pengujian daya peredam radikal bebas secara spektrofotometri sinar tampak.

Larutan DPPH 0,004% sebanyak 3,0 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, ditambah 1,5 ml larutan uji pada tiap-tiap konsentrasi. Konsentrasi ekstrak etanol daun muda jambu mente adalah 6,75, 10,8, 13,5, 21,6, dan 27 bpj, sedangkan konsentrasi ekstrak etanol daun tua jambu mente adalah 6,75, 13,5, 21,6, 27, dan 40,5 bpj. Kemudian didiamkan selama 10 menit dan diamati absorbansinya pada λ_{\max} 520,8 nm. Sebagai pembanding digunakan 3,0 ml larutan DPPH 0,004% ditambah 1,5 ml etanol 80%.

Berdasarkan data absorbansi yang diperoleh, dapat dihitung %peredaman dengan menggunakan rumus:

Dari harga %peredaman berbagai konsentrasi dibuat kurva konsentrasi vs %peredaman, persamaan regresi, dan dihitung EC_{50} yaitu konsentrasi yang meredam 50% dari jumlah radikal bebas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

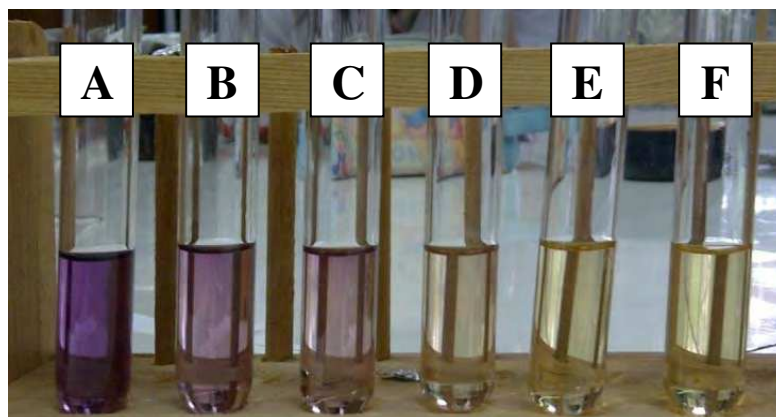
Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji daya peredam radikal bebas dari ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente dengan menggunakan metode DPPH. Parameter yang diamati adalah EC_{50} dari ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente. Semakin kecil nilai EC_{50} berarti semakin kuat daya peredam radikal bebasnya, dan sebaliknya (**Rohman dan Riyanto, 2005**).

Metode DPPH dipilih untuk penentuan daya peredam radikal bebas pada penelitian ini, didasarkan pada beberapa keunggulannya, diantaranya mudah, sederhana, cepat, reproduibel, baik untuk sampel dengan polaritas tertentu, sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel (**Koleva et al., 2002**). DPPH juga merupakan radikal bebas yang relatif stabil bila dibandingkan dengan radikal

bebas yang lain serta mudah didapat dipasaran dalam keadaan siap untuk dilarutkan dan mudah direaksikan dengan larutan uji (**Larson, 1997**).

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode ekstraksi pengadukan dan perendaman yang merupakan metode ekstraksi sampai terjadi kesetimbangan. Metode ini dipilih karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Dengan adanya mesin pengaduk yang berputar terus menerus selama 1 jam dan dilakukan pada suhu kamar, proses ekstraksi dapat dipersingkat. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Hasil penyarian dengan cara perendaman perlu dibiarkan selama waktu tertentu (24 jam) untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari (**Depkes RI, 1986**). Hasil ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente masing-masing adalah 41,43 g dan 41,10 g.

Daya peredam radikal bebas pada penelitian ini diuji secara kualitatif dengan menggunakan reaksi warna dalam tabung reaksi. Berdasarkan uji kualitatif pada gambar 1 dan 2, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente dapat meredam radikal bebas. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya pemudaran warna ungu dari larutan DPPH, karena *diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) mempunyai satu atom N yang elektronnya tidak berpasangan dan apabila bereaksi dengan senyawa yang dapat meredam radikal bebas maka akan terjadi pengikatan satu elektron dengan atom yang dapat mendonorkan elektronnya (atom H) membentuk *diphenylpicrylhydrazyl* yang stabil (DPPH-H) (**Molyneux, 2004**). Reduksi DPPH menjadi DPPH-H menyebabkan perubahan warna pada reagen DPPH, dari ungu memudar menjadi kuning.



Gambar 1 Hasil Uji Kualitatif Daya Peredam Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Muda Jambu Mente Terhadap DPPH Secara Reaksi Warna

Keterangan gambar:

A = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml etanol 80% menunjukkan warna ungu

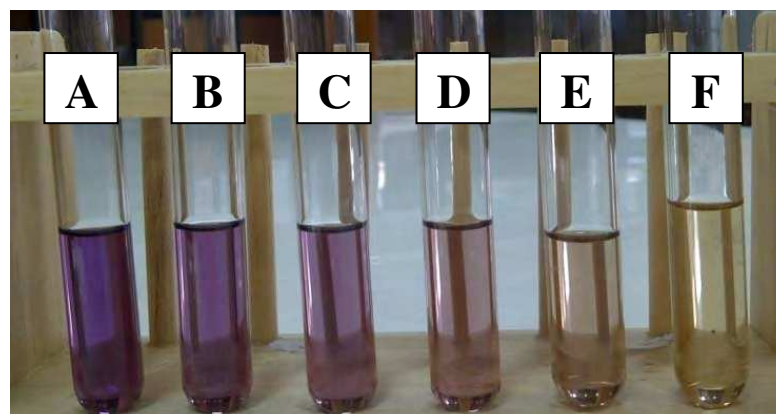
B = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 6,75 bpj

C = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 10,8 bpj

D = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 13,5 bpj

E = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 21,6 bpj

F = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 27 bpj



Gambar 2 Hasil Uji Kualitatif Daya Peredam Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Tua Jambu Mente Terhadap DPPH Secara Reaksi Warna

Keterangan gambar:

A = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml etanol 80% menunjukkan warna ungu

B = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 6,75 bpj

C = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 13,5 bpj

D = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 21,6 bpj

E = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 27 bpj

F = 3,0 ml larutan DPPH 0,004% + 1,5 ml larutan uji konsentrasi 40,5 bpj

Setelah uji kualitatif, dilakukan pengukuran daya peredam radikal bebas ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente terhadap larutan DPPH dengan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 520,8 nm dan waktu reaksi

selama 10 menit. Uji dilakukan pada ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente dengan replikasi sebanyak 4x. Setelah pengujian, diperoleh %peredam radikal bebas DPPH dari ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente. Kemudian dari konsentrasi vs %peredam radikal bebas diperoleh persamaan regresi linier. Dari persamaan regresi linier yang didapatkan, dapat dicari nilai EC_{50} dari ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente.

Rata-rata EC_{50} , yang dapat dilihat pada tabel 1 dan 2, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun muda jambu mente mempunyai daya peredam radikal bebas yang lebih besar dibanding ekstrak etanol daun tua jambu mente. Hal ini disebabkan karena kandungan metabolit sekunder pada daun dapat berbeda-beda karena perbedaan umur dan bagian tanaman (**Achakzai et al., 2009**). Daun muda umumnya memiliki kandungan metabolit sekunder dan enzim yang tinggi karena diperlukan dalam proses pertumbuhan, perkembangan, dan pembelahan sel-sel daun tersebut. Pada perkembangannya konsentrasi metabolit sekunder tanaman akan berangsur menurun seiring penurunan aktivitas perkembangan daun tersebut (**Prayitno, 2011**).

Tabel 1 Hasil %Peredaman Radikal Bebas dan Nilai EC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Muda Jambu Mente Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Konsentrasi (bpj)	%Peredaman	EC₅₀ (bpj)	Rata-Rata EC₅₀ (bpj)
I	6,6	19,32	16,38	16,05 SD = 0,57 KV = 3,55%
	10,56	33,40		
	13,2	40,64		
	21,12	62,38		
	26,4	81,96		
II	6,85	21,96	16,15	
	10,96	29,06		
	13,7	42,44		
	21,92	68,42		
	27,4	88,44		
III	6,9	22,01	15,61	
	11,04	37,88		
	13,8	42,96		
	22,08	69,14		
	27,6	88,58		
IV	6,9	21,61	15,11	
	11,04	39,88		
	13,8	44,06		
	22,08	74,34		
	27,6	89,16		

Tabel 2 Hasil %Peredaman Radikal Bebas dan Nilai EC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Tua Jambu Mente Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Konsentrasi (bpj)	%Peredaman	EC ₅₀ (bpj)	Rata-Rata EC ₅₀ (bpj)
I	6,8	14,91	23,03	22,86 SD = 0,19 KV = 0,83%
	13,6	27,13		
	21,76	50,11		
	27,2	60,83		
	40,8	86,34		
II	6,5	12,99	22,78	
	13	26,63		
	20,8	47,68		
	26	59,12		
	39	84,41		
III	6,85	15,01	22,78	
	13,7	28,83		
	21,92	50,62		
	27,4	62,73		
	41,4	87,26		
IV	6,4	11,92	23,17	
	12,8	27,08		
	20,48	46,10		
	25,6	55,26		
	38,4	82,76		

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente mempunyai daya peredam radikal bebas terhadap DPPH yang ditetapkan secara reaksi warna dan spektrofotometri sinar tampak
2. Rata-rata EC₅₀ dari ekstrak etanol daun muda dan tua jambu mente masing-masing adalah 16,05 bpj dan 22,86 bpj. Daya peredam radikal bebas dari ekstrak etanol daun muda jambu mente lebih besar dibandingkan ekstrak etanol daun tua jambu mente.

DAFTAR PUSTAKA

- Achakzai AKK, Achakzai P, Masood A, Kayan SA, Tareen RB, 2009, *Response of Plant Parts and Age on The Distribution of Secondary Metabolites on Plants Found in Quetta*, Pak J. Bot. **41** (5):2129-2135.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenik*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 1-31.
- Hakimah IA, 2010, *Delapan Puluh Satu Macam Buah Berkhasiat Istimewa*, Syura Media Utama, Yogyakarta, 69-70.
- Koleva I, van Beek T, Linnssen JPH, *et al.*, 2002, *Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: Acomparative Study on Three Testing Methods*, Phytochem. Anal. **13**:494-500.
- Larson RA, 1997, *Naturally Occuring Antioxidants*, Lewis Publisher, New York, USA, 106-107.
- Molyneux P, 2004, *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, J. Sci. Technol. **26** (2):211-219.
- Paiva AR, Robert MR, 1999, *β -Carotene and Carotenoids As Antioxidants*, Journal of the American College of Nutrition **18** (5):426-433.
- Prayitno E, Nuryandani E, 2011, *Optimalisasi Ekstraksi DNA Jarak Pagar (Jatropha curcas) Melalui Pemilihan Daun yang Sesuai*, Bioteknologi 8 (1):24-31.
- Rohman A, Riyanto S, 2005, *Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) Secara In Vitro*, Majalah Farmasi Indonesia **16** (3):139.
- Trilaksani W, 2003, *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*, Institute Pertanian Bogor, Bogor, 1-12.
- Winarsi H, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta, 11-23, 77-82.