

**DAYA PEREDAM RADIKAL BEBAS
EKSTRAK ETANOL BUAH PEPINO PUTIH DAN UNGU
(*Solanum muricatum* Aiton var Putih dan Ungu)
TERHADAP DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*)**

Wicaksono Putro
Fakultas Farmasi
sonny_wlcaksono@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pada penelitian ini dilakukan uji daya peredam radikal bebas dari ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian daya peredam radikal bebas secara kualitatif, menggunakan reaksi warna, ditunjukkan dengan memudarnya warna ungu dari larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Pada pengujian secara kuantitatif dengan spektrofotometri sinar tampak, menggunakan metode DPPH. Absorbansi diamati pada panjang gelombang 520,8 nm pada menit ke-10 untuk kedua macam variabel. Hasilnya didapatkan nilai EC₅₀ ekstrak etanol buah pepino putih adalah 403,91 bpj dan nilai EC₅₀ ekstrak etanol buah pepino ungu adalah 732,25 bpj. Hasil perhitungan statistik dengan *t test* ($\alpha = 0,05$), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara EC₅₀ ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu. Dari perbedaan yang ada dapat diketahui bahwa ekstrak etanol buah pepino putih mempunyai daya peredam radikal bebas lebih besar daripada ekstrak etanol buah pepino ungu.

Kata kunci: Radikal bebas, DPPH, buah pepino, *Solanum muricatum*, ungu, putih.

I. PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya secara cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya (Larson, 1997). Tubuh manusia mampu menghasilkan antioksidan sendiri antara lain enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan *glutation peroksidase* (Kumalaningsih, 2007). Akan tetapi, tubuh tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Sunarni, 2005).

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di

sekitarnya. Radikal bebas merupakan pemicu timbulnya sebagian penyakit seperti jantung koroner, kanker, penuaan, radang sendi, katarak, dan kemunduran saraf (**Winarsi, 2007**).

Salah satu antioksidan eksogen alami adalah buah pepino. Buah pepino di Indonesia semakin lama semakin banyak pembudidayaannya. Masyarakat juga mulai banyak yang mengkonsumsi. Buah ini dapat mencegah penyakit diabetes, jantung, stroke, kanker, dan penyakit kardiovaskular lainnya (**Hakimah, 2010**). Ada dua varietas pepino yang dibudidayakan di Indonesia, yaitu pepino putih dan ungu (**Ide, 2010**). Menurut **Ide (2010)**, setiap 100 g pepino ungu mengandung vitamin C 25,12 mg, betakaroten 26,61 mg, protein 0,65%, lemak 0,01%, serat 0,08%, dan asam 79,33 mg. Selain itu, juga mengandung zat besi, seng, tembaga, mangan, kalsium, dan fosfor. **Kola (2010)** menyebutkan bahwa setiap 100 g pepino putih mengandung vitamin C 31-59 mg dan betakaroten 57-68 mg.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dilakukan penelitian tentang daya peredam radikal bebas dari buah pepino. Dengan adanya dua varietas buah pepino yang dibudidayakan di Indonesia, yaitu buah pepino putih dan ungu, maka penulis ingin mengetahui varietas mana yang memiliki daya peredam radikal bebas yang lebih besar.

II. METODE KERJA

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pepino putih dan ungu (*Solanum muricatum* Aiton var Putih dan Ungu) yang matang. Buah pepino putih dan ungu diambil pada tanggal 29 Juli 2012 di daerah Batu, Malang dan telah dideterminasi di Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT) Fakultas Farmasi Universitas Surabaya. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol p.a (Mallinckrodt), DPPH p.a (Sigma-aldrich), dan aquadem.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan gram, timbangan analitik (OHAUSS), blender (Panasonic), oven (Ecocell/ MMM), pengaduk kinetik (Stirring motor IKA RW 20N), *rotary evaporator* (Rotavapour Heidolp Laborota 400), *waterbath* (Memmert), spektrofotometer UV-Vis (Cintra), *aluminium foil*, alat-alat gelas untuk laboratorium, dan *stopwatch*.

Penyiapan Bahan

Buah pepino putih yang akan diteliti dan telah diidentifikasi, dibersihkan dari kotoran yang melekat, dikupas kulitnya, dan dibuang bijinya. Buah ditimbang sebanyak 400 gram, dipotong-potong lalu dimasukkan ke dalam blender, diblender sampai halus tanpa penambahan air. Dilakukan hal yang sama dengan buah pepino ungu.

Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Pepino Putih dan Ungu

Bubur pepino putih dan ungu ditimbang sebanyak 400 gram. Setelah itu diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% dengan pengadukan selama 1 jam, kemudian didiamkan selama 24 jam agar terjadi kesetimbangan. Ekstrak disaring sehingga mendapatkan filtrat I dan ampas. Filtrat I ditampung dan ampasnya kembali ditambah dengan etanol 80% sampai ampas terendam ± 2 cm dibawah cairan penyari, dihomogenkan dan diekstraksi kembali dengan pengadukan selama 1 jam dan didiamkan selama 24 jam, disaring dan filtratnya ditampung. Langkah tersebut diulang sampai diperoleh filtrat III. Filtrat I, II, III dicampur dalam satu wadah dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sampai $\frac{1}{3}$ bagian volume kemudian pemekatan dilanjutkan di atas *waterbath* pada suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak kental.

Uji Kualitatif Daya Peredam Radikal Bebas dengan Reaksi Warna

Larutan DPPH 0,004% sebanyak 4,0 ml dalam tabung reaksi bersih dan kering, ditambah 2,0 ml larutan uji, dikocok sampai homogen. Dilakukan terhadap larutan uji dari konsentrasi kecil ke konsentrasi besar. Sebagai pembanding

digunakan larutan DPPH 0,004% sebanyak 4,0 ml ditambah 2,0 ml etanol 70%. Diamati perubahan warna yang terjadi.

Uji Kuantitatif Daya Peredam Radikal Bebas dengan Metode DPPH

Dicari λ_{\max} dari larutan DPPH. Didapatkan λ_{\max} 520,8 nm. Setelah itu dicari waktu reaksi dari larutan uji terhadap DPPH, didapatkan penurunan absorbansi yang kecil setelah menit ke-10. Sehingga untuk pengujian selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang 520,8 dan waktu 10 menit

DPPH Larutan DPPH 0,004% sebanyak 4,0 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, ditambah 2,0 ml larutan uji pada tiap-tiap konsentrasi. Konsentrasi ekstrak etanol buah pepino putih adalah 150, 240, 300, 450, dan 600 bpj sedangkan untuk ekstrak etanol buah pepino ungu adalah 450, 600, 750, 900, dan 1200 bpj. Kemudian didiamkan selama 10 menit dan diamati absorbansinya pada λ_{\max} 520,8 nm. Sebagai pembanding digunakan 4,0 ml larutan DPPH 0,004% ditambah 2,0 ml etanol 70%.

Berdasarkan data absorbansi yang diperoleh, dihitung % daya peredam radikal bebas dengan menggunakan rumus:

Dari harga % peredaman berbagai konsentrasi, dibuat kurva konsentrasi vs % peredaman dan persamaan regresinya kemudian dihitung harga EC_{50} , yaitu konsentrasi yang meredam 50% dari jumlah radikal bebas (**Windono et al., 2001**).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

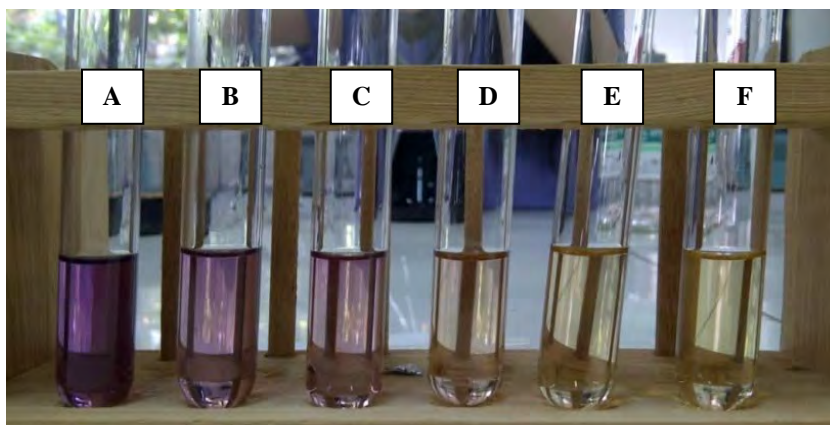
Sampel daging buah pepino putih dan ungu matang yang digunakan dalam penelitian ini tidak dikeringkan terlebih dahulu karena diduga terdapat beberapa senyawa aktif yang tidak tahan terhadap suhu pengeringan dan cahaya, seperti vitamin C. Pepino putih dan ungu masing-masing diblender dengan tujuan untuk mendapatkan luas permukaan yang besar sehingga memudahkan kontak antara pelarut dan sampel pada saat maserasi. Keduanya menghasilkan bubur buah berwarna kuning kecoklatan.

Proses ekstraksi kemudian dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Etanol dipilih karena biasa digunakan untuk mengekstraksi senyawa-

senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan (**Hirasawa, 1999**). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel dan memperbaiki stabilitas bahan terlarut. Selain itu, alasan penggunaan etanol karena antioksidan yang hendak diekstrak diharapkan dapat diaplikasikan pada produk makanan, minuman, dan obat-obatan sehingga aman untuk dikonsumsi sedangkan apabila menggunakan metanol, bersifat toksik (**Voight, 1995**).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah pengadukan selama 1 jam dan pendiaman selama 24 jam. Metode ini termasuk ekstraksi dengan prinsip pencapaian konsentrasi kesetimbangan (**Sidik dan Mudahar, 2000**). Proses ini dilakukan hingga 3 kali dengan tujuan agar zat-zat yang terkandung dalam pepino dapat terekstrak maksimal ke dalam pelarut yang digunakan. Keuntungan penggunaan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta tidak menggunakan panas yang dapat merusak bahan yang terkandung (**Depkes RI, 1986**). Hasil ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu adalah 21,48 g dan 20,56 g.

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel (**Hanani, 2005**). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang relatif stabil jika disimpan dalam kondisi yang baik (**Larson, 1997**).



Gambar 1 Daya Peredam Radikal Bebas Buah Pepino Putih Secara Reaksi Warna

Keterangan gambar 1:

A = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml etanol p.a menunjukkan warna ungu.

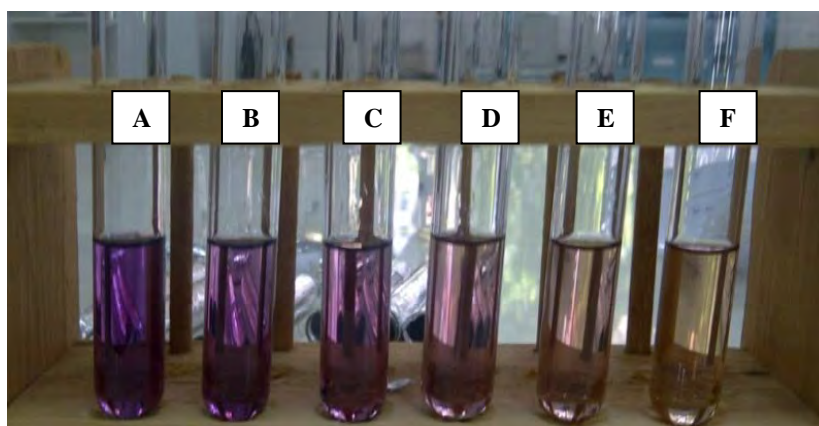
B = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 150 bpj.

C = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 240 bpj.

D = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 300 bpj.

E = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 450 bpj.

F = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 600 bpj.



Gambar 2 Daya Peredam Radikal Bebas Buah Pepino Ungu Secara Reaksi warna

Keterangan gambar 2:

A = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml etanol p.a menunjukkan warna ungu.

B = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 450 bpj.

C = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 600 bpj.

D = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 750 bpj.

E = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 900 bpj.

F = 4,0 ml larutan DPPH 0,004% + 2,0 ml larutan uji konsentrasi 1200 bpj.

Dari reaksi warna gambar 1 dan 2 dapat dilihat bahwa warna larutan di tabung B, C, D, E, dan F, warna ungu semakin pudar jika dibandingkan dengan tabung A yang merupakan pembanding. Hal ini membuktikan bahwa secara kualitatif ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu memiliki daya peredam radikal bebas terhadap DPPH.

Daya meredam disebabkan karena 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 *diphenylpicrylhydrazine* yang stabil (Molyneux, 2004).

Pada uji kuantitatif pembacaan absorbansi dari larutan uji ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu yang dicampur dengan larutan DPPH 0,004% dilakukan pada menit ke-10 dan pada panjang gelombang 520,8 nm. Nilai *Effective Concentration* (EC_{50}) adalah konsentrasi dari larutan uji yang mampu meredam 50% DPPH. Semakin kecil nilai EC_{50} , konsentrasi larutan uji yang diperlukan untuk meredam radikal bebas semakin sedikit, sehingga daya peredam

radikal bebasnya semakin besar. Dari tabel 1 dapat diketahui bahwa ekstrak etanol buah pepino putih mempunyai daya peredam radikal bebas yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol buah pepino ungu.

Tabel 1 Nilai EC₅₀ Antara Konsentrasi vs % Peredaman Ekstrak Etanol Buah Pepino Putih dan Ungu Terhadap Larutan DPPH

Replikasi	Pepino Putih	Pepino Ungu
	EC ₅₀ (bpj)	EC ₅₀ (bpj)
I	404,68	715,89
II	399,93	726,07
III	405,47	733,54
IV	401,58	737,13
SD	2,60	9,39
Rentang	400,31- 405,51	718,77- 737,55
baru	403,91	732,25
KV	0,64%	1,28%

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu mempunyai daya peredam radikal bebas terhadap DPPH yang ditetapkan secara reaksi warna dan spektrofotometri sinar tampak.
2. Rata-rata EC₅₀ dari ekstrak etanol buah pepino putih dan ungu masing-masing adalah 403,91 bpj dan 732,25 bpj. Daya peredam radikal bebas dari ekstrak etanol buah pepino putih lebih besar dibandingkan ekstrak etanol buah pepino ungu.

V. DAFTAR PUSTAKA

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, 151-153.

- Hanani E, Munim A, Sekarini R, 2005, *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons callispongia Sp dari Kepulauan Seribu*, *Majalah Ilmu Kefarmasian* **2** (3):127-133.
- Hirasawa M, *et al.*, 1999, *The Kinds of Antibacterial Substances from Lentinus adobes Singshitake an Edible Mushroom*, *International Journal of Antibacterial Agents* **11**:1561-157.
- Ide P, 2010, *Health secret of Pepino*, PT Elex Media Komputindo, Jakarta, 52-53, 70-76, 93-95.
- Kola O, 2010, *Physical and Chemical Characteristics of The Ripe Pepino (Solanum muricatum) Fruit Grown in Turkey*, *Journal of Food, Agriculture, and Environment* **8** (2):168-171.
- Kumalaningsih S, 2007, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas*, Cetakan ke-2, Trubus Agrisarana, Surabaya, 3-14.
- Larson RA, 1997, *Naturally occuring Antioxidant*, Lewis Publisher, Boca Raton, New York, 25-28, 75-76, 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.
- Sidik, Mudahar H, 2000, *Ekstraksi Tumbuhan Obat, Metoda dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Mutu Produksinya*, Makalah disajikan dalam Prosiding Seminar PERHIPBA Pemanfaatan Bahan Obat Alami III, Jakarta.
- Voigt R, 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Edisi 5, Terjemahan oleh Noerene S, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 30-40, 551-585.
- Winarsi H, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas:Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*, Kanisius, Yogyakarta, 11-23, 77-82.