

## Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikril Hidrazil oleh Ekstrak Buah *Psidium guajava* L dan *Averrhoa carambola* L.

ABDUL ROHMAN\*, SUGENG RIYANTO, RIZKA DAHLIYANTI,  
DIMAS BAGUS PRATOMO

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada  
Yogyakarta 55281

Diterima 5 Juni 2008, Disetujui 28 Maret 2009

**Abstract:** Two fruits, Guava (*Psidium guajava* L.) and Carambola (*Averrhoa carambola* L.), which are frequently consumed by Indonesian people, have been evaluated for its activities as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging. The fruits were macerated, evaporated, dissolved in water, partitioned with chloroform and then with aethyl acetate to afford methanolic extract and fractions of chloroform, aethyl acetate, and water respectively. Total phenolic and total flavonoid contents of each extract and fraction were determined by spectrophotometric technique and used to evaluate the correlation between the natural chemical contents and their activities as DPPH radical scavengers. The results showed that extracts and fractions of *P. guajava* L. fruit have more ability to scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical than those of *A. carambola* L. The total phenolic and total flavonoid contents of extracts and fractions of *P. guajava* L. fruit are also higher than those of *A. carambola* L.

**Key words:** *Psidium guajava* L.; *Averrhoa carambola* L.; 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

### PENDAHULUAN

BUAH-BUAHAN, sebagai salah satu bahan makanan, merupakan salah satu sumber antioksidan. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa mengkonsumsi buah-buahan berguna untuk mencegah penyakit yang berhubungan dengan proses penuaan, kanker, penyakit hati, dan lain-lain<sup>(1)</sup>.

Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi antioksidan fenolik alami yang terdapat dalam buah, sayur-mayur dan tanaman mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan, yakni dapat mengurangi risiko terjadinya penyakit jantung koroner<sup>(2)</sup>. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan beberapa vitamin (A,C,E, dan folat), serat, dan kandungan kimia lain seperti polifenol yang mampu menangkap radikal bebas<sup>(3)</sup>.

Radikal bebas dapat menimbulkan penyakit kanker, arteriosklerosis, dan penuaan yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi sehingga diperlukan suatu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit<sup>(4)</sup>.

Uji penangkapan radikal DPPH merupakan

salah satu uji aktivitas biologis secara *in vitro* untuk menentukan potensi suatu zat uji sebagai antioksidan, selain dengan uji yang lain<sup>(5)</sup>. Uji aktivitas antioksidan digunakan dan diterima oleh para peneliti sebagai petunjuk antikanker atau sebagai agen kemopreventif. Berdasarkan hal itu, maka untuk penentuan efek kemopreventif suatu senyawa, ditentukan dengan menguji aktivitas antioksidannya<sup>(6)</sup>.

Buah jambu biji mengandung beberapa zat kimia, antara lain kuersetin, guajaverin, asam galat, leukosianidin, asam elagat<sup>(7)</sup>. Sementara itu, beberapa senyawa aktif telah diidentifikasi dari buah belimbing manis antara lain proantosianidin, (-)-epikatekin, dan vitamin C<sup>(8)</sup>. Belimbing manis juga mengandung asam organik, seperti asam oksalat, asam tartrat, asam sitrat, asam malat, asam suksinat, dan asam fumarat<sup>(9)</sup>. Adanya kandungan zat aktif ini memerlukan suatu kajian aktivitas antioksidan melalui uji penangkapan radikal DPPH.

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa antioksidan alami (termasuk aktivitas penangkapan radikal) sering dihubungkan dengan keberadaan senyawa-senyawa fenolik dan senyawa flavonoid<sup>(10,11)</sup>. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penentuan kandungan fenolik total dan flavonoid total untuk mengetahui seberapa besar kontribusi fenolik total dan flavonoid total terhadap aktivitas

\* Penulis korespondensi  
e-mail: abdul\_kimfar@yahoo.com

penangkapan radikal buah jambu biji dan buah belimbing manis.

Kajian ini bertujuan untuk menguji aktivitas penangkapan radikal ekstrak dari fraksi-fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis, menentukan kandungan fenolik total dan flavonoid totalnya, serta melihat hubungan antara aktivitas penangkapan radikal dengan kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid totalnya.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Buah belimbing manis diambil dari daerah Demak, Jawa Tengah, dan buah jambu biji diperoleh dari daerah Lumajang, Jawa Timur. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), (Sigma. Co), pereaksi Folin-Ciocalteu (E.Merck), natrium karbonat (E.Merck), natrium hidroksida (E.Merck), alumunium klorida (E.Merck), natrium nitrit (E.Merck), vitamin E (Sigma. Co), etanol *p.a* (E. Merck), metanol (E. Merck), kloroform (E. Merck), etil asetat (E. Merck), air dua kali penyulingan (Ikapharmindo), asam galat, kuersetin, dan air suling. Peralatan yang digunakan meliputi *rotary evaporator* (Heidolph VV 2000), neraca elektrik (Metler Toledo), spektrofotometer UV-VIS (Genesis-10), *delivery pipet* (Gilson pipetmen), dan alat gelas yang lazim digunakan di Laboratorium Kimia Analisis.

**METODE.** **Penyiapan ekstrak dan fraksi-fraksinya.** Sebanyak masing-masing lebih-kurang 5 kg buah jambu biji dan buah belimbing manis segar dipotong kecil-kecil, diblender, kemudian dimaserasi dengan metanol dalam bejana tertutup selama 3 hari sambil sesekali diaduk, dan selanjutnya disaring dengan penyaring vakum. Sari dikumpulkan dan diendapkan selama 1 hari, kemudian disaring dengan kertas saring, dan filtratnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 90°C hingga diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak selanjutnya dipartisi dengan kloroform, dan dilanjutkan dengan etil asetat untuk menghasilkan fraksi-fraksi kloroform, etil asetat, dan fraksi air buah jambu biji dan atau buah belimbing manis.

**Uji penangkapan radikal DPPH.** Sebanyak 50 µL ekstrak/fraksi dengan berbagai konsentrasi (konsentrasi yang memberikan nilai IC<sub>50</sub>, yakni konsentrasi ekstrak/fraksi yang memberikan persen penangkapan radikal sebanyak 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier) ditambah dengan 1,0 ml DPPH 0,4 mM, dan 3,950 ml etanol. Campuran selanjutnya di-*vorteks* dan dibiarkan selama 30 menit. Larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm terhadap blanko (yang terdiri atas 50 µl ekstrak/fraksi

dan 4,950 ml etanol). Dilakukan juga pengukuran serapan kontrol yang terdiri atas 1,0 ml DPPH dan 4,0 ml etanol. Besarnya aktivitas penangkapan radikal DPPH dihitung dengan rumus:

$$\text{Persen penangkapan radikal DPPH} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \%$$

### Penentuan kandungan fenolik total.

Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode spektrofotometri cahaya tampak sesuai dengan Chun *et al*<sup>(12)</sup>. Ekstrak atau fraksi (dengan konsentrasi tertentu yang masih memberikan serapan secara interpolasi), ditambah dengan 0,4 ml pereaksi Folin-Ciocalteu, dan dibiarkan selama 5-8 menit. Larutan ditambah dengan 4 ml natrium karbonat 7% dan ditambah air dua kali penyulingan sampai batas tanda. Setelah 2 jam, serapannya dibaca pada panjang gelombang 765 nm. Dilakukan juga pembacaan blanko yang terdiri atas air dua kali penyulingan dan pereaksi Folin-Ciocalteu. Konsentrasi fenolik total dinyatakan sebagai mg ekivalen asam galat tiap gram bobot kering ekstrak (mg EAG/g).

### Penentuan kandungan flavonoid total.

Kandungan flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri cahaya tampak sesuai dengan Zou *et al*<sup>(11)</sup>. Ekstrak atau fraksi (dengan konsentrasi tertentu yang masih memberikan serapan secara interpolasi), dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 ml, ditambah 4 ml air suling, dan 0,3 ml larutan natrium nitrit 0,1 %, lalu dibiarkan selama 6 menit. Setelah itu, larutan ditambah dengan 0,3 ml alumunium klorida 10% dan dibiarkan selama 5 menit. Larutan ditambah dengan 4 ml natrium hidroksida 10% dan air suling sampai 10,0 ml, dibiarkan selama 15 menit, kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang 510 nm terhadap blanko. Konsentrasi flavonoid total dinyatakan sebagai mg ekivalen kuersetin tiap gram bobot kering ekstrak (mg EAG/g).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penangkapan radikal DPPH merupakan salah satu metode uji untuk menentukan aktivitas antioksidan<sup>(5)</sup>. Kemampuan suatu senyawa atau sampel uji untuk menangkap radikal DPPH merupakan suatu indikasi bahwa senyawa/sampel uji tersebut beraktivitas antioksidan. Penggunaan DPPH untuk metode penangkapan radikal mempunyai keuntungan, yaitu mudah digunakan, mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi, dan dapat menganalisis sejumlah besar sampel dalam jangka waktu yang singkat<sup>(13)</sup>.

Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH ini adalah nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak/fraksi uji yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebesar 50%<sup>(11)</sup>. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak/fraksi uji dan persen penangkapan radikal. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$ , makin aktif ekstrak/fraksi (senyawa uji) tersebut sebagai penangkap radikal DPPH, dan karenanya kian aktif sebagai antioksidan. Hasil aktivitas penangkapan radikal oleh ekstrak/fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Perbandingan aktivitas penangkapan radikal DPPH oleh ekstrak dan atau fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis.**

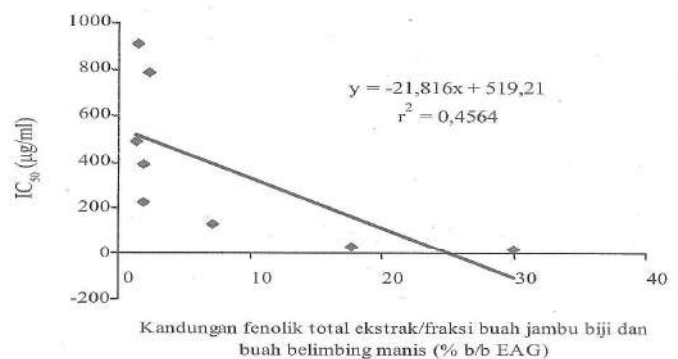
Buah	Ekstrak/Fraksi	Nilai $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Jambu biji	Metanol sebelum dipartisi	215,91
	Kloroform	123,89
	Etil asetat	8,06
	Air	477,21
	Metanol sebelum dipartisi	380,14
Belimbing manis	Kloroform	898,37
	Etil asetat	19,52
	Air	779,62

Aktivitas antioksidan yang berasal dari sumber tanaman seringkali dihubungkan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Senyawa fenolik telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat redoksnya. Senyawa fenolik beraksi sebagai agen pereduksi, pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, dan sebagai pengkelat logam yang potensial<sup>(14)</sup>. Sementara itu, flavonoid dapat beraksi sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas melalui pemberian atom hidrogen pada radikal tersebut<sup>(15)</sup>.

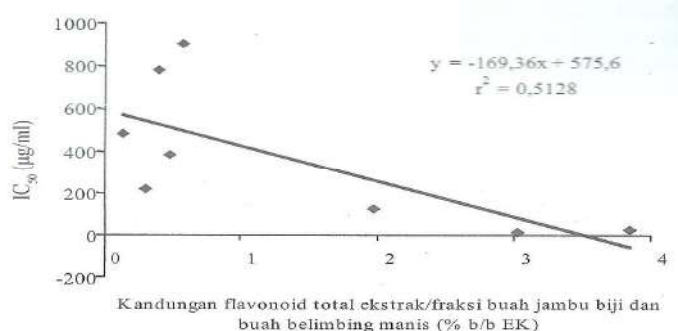
Penentuan kandungan senyawa fenolik total dan flavonoid total bertujuan untuk melihat korelasi antara aktivitas penangkapan radikal ekstrak dan/ fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis dengan kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid totalnya. Kandungan senyawa fenolik total diekspresikan dengan % b/b ekuivalen asam galat (%b/b EAG), sementara kandungan flavonoid total diekspresikan sebagai % b/b ekuivalen kuersetin galat (%b/b EAG) karena belum diketahuinya struktur kimia senyawa fenolik yang ada pada ekstrak etil asetat, kloroform, maupun fraksi-fraksinya<sup>(16,17)</sup>.

Kandungan senyawa fenolik total dan flavonoid total ekstrak dan/atau fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 1 dan Tabel 2 dapat diketahui bahwa, secara umum, jika kandungan senyawa fenolik total maupun flavonoid totalnya besar, aktivitas penangkapan radikal suatu ekstrak/fraksi meningkat ( $IC_{50}$ -nya turun). Hubungan antara kandungan senyawa fenolik total ekstrak atau fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis dengan aktivitas penangkapan radikal ( $IC_{50}$ )-nya disajikan pada Gambar 1, sementara hubungan antara kandungan flavonoid total dengan nilai  $IC_{50}$  disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 1. Hubungan antara kandungan senyawa fenolik total ekstrak/fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis dengan aktivitas penangkapan radikal ( $IC_{50}$ )-nya.**



**Gambar 2. Hubungan antara kandungan flavonoid total ekstrak/fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis dengan aktivitas penangkapan radikal ( $IC_{50}$ )-nya.**

Hubungan antara kandungan senyawa fenolik total ekstrak/fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis dengan nilai  $IC_{50}$ -nya mempunyai

Tabel 2. Kandungan fenolik total dan flavonoid total ekstrak dan/atau fraksi buah jambu biji dan buah belimbing manis.

Buah	Ekstrak/Fraksi	Kandungan senyawa fenolik total*	Kandungan flavonoid total
		( $\bar{X} \pm SD; n 3$ )	( $\bar{X} \pm SD; n 3$ )
Jambu biji	Metanol sebelum dipartisi	1,13 $\pm$ 0,09	0,22 $\pm$ 0,01
	Kloroform	6,36 $\pm$ 0,74	1,88 $\pm$ 0,18
	Etil asetat	29,07 $\pm$ 0,55	2,94 $\pm$ 0,19
	Air	0,53 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,01
Belimbing manis	Metanol sebelum dipartisi	1,14 $\pm$ 0,04	0,40 $\pm$ 0,01
	Kloroform	0,75 $\pm$ 0,06	0,49 $\pm$ 0,01
	Etil asetat	16,83 $\pm$ 0,31	3,76 $\pm$ 0,05
	Air	1,53 $\pm$ 0,05	0,31 $\pm$ 0,02

\* dihitung sebagai % b/b ekuivalen asam galat (% b/b EAG)

koefisien korelasi  $r^2 = 0,4564$ , ( $y = -21,816x + 519,21$ ) (Gambar 1). Hasil ini menunjukkan bahwa 45,64% aktivitas penangkapan radikal ekstrak/fraksi buah yang diuji merupakan hasil kontribusi dari senyawa fenolik, dan 54,36% yang lain berasal dari senyawa selain senyawa fenolik. Sementara itu, dari hubungan antara flavonoid total ekstrak/fraksi kedua buah tersebut dengan nilai  $IC_{50}$ -nya diperoleh nilai koefisien determinasi  $r^2 = 0,5128$  (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa flavonoid berkontribusi sebesar 51,28 % terhadap aktivitas penangkapan radikal DPPH<sup>(17)</sup>.

### SIMPULAN

Ekstrak/fraksi buah jambu biji mempunyai aktivitas penangkap radikal yang baik dibandingkan dengan ekstrak/fraksi buah belimbing manis. Buah jambu biji lebih kaya akan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid, karenanya buah jambu biji dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami untuk tubuh kita.

### DAFTAR PUSTAKA

- Shui GH, Leong LP. Analysis of polyphenolics antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *J Chromatograph A*. 2004. 1022:67-75.
- Ghiselli A, Nardini M, Baldi A, Scaccini C. Antioxidant activity of different phenolics fractions separated from an Italian Red Wine. *J Agric Food Chem*. 1998.(46):361-7.
- Gill MI, Tomas FAB, Pierce BH, Kader AA. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of Nectarine, Peach, and Plum cultivars from California. *J Agric Food Chem*. 2002.(50):4976-82.
- Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K, Taniguchi H. Antioxidants properties of ferulic acid and its related compounds. *J Agric Food Chem*. 2002. (50):2161-8.
- Pokorni J, Yanishlieva N, Gordon M. Antioxidant in food; Practical applications. New York: CRC Press; 2001.
- Tsai TH, Tsai PJ, Ho SC. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. *J Food Sci*. 2005.70 (1):C93-7.
- Sударsono, Gunawan D, Wahyuono S, Argodonatus I, Untoro P. Tanaman obat II: Hasil penelitian, sifat-sifat, dan penggunaannya. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM; 2002. hal. 156-60.
- Leong LP, Su I G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *J Food Chem*. 2002.(76):69-75.
- Morton J. Carambola: Fruit of warm climates. Miami, Florida, USA. 1987.125-28.
- Montoro P, Braca A, Pizzi C, Tommasi ND. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids isolated from different plant species. *J Food Chem*. 2005. (92):349-55.
- Zou Y, Lu Y, Wei D. Antioxidant activity of flavonoid rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro. *J Agric Food Chem*. 2004.(52):5032-9.
- Chun OK, Kim DO, Lee CY. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh Plums. *J Agric Food Chem*. 2003.(51):8067-72.
- Kim DK, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem*. 2002.(50): 3713-7.
- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem*. 1999.(47):3954-62.
- Amic D, Amic DD, Beslo D, Trinajstić. Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Croatia Chem.Acta*. 2003.76(1):55-61.

16. Mongkolsilp M, Pongbupakit I, Sae-Lee N, Sithithaworn W. Radical scavenging activity and total phenolic content of medicinal plants used in primary health care, SWU. *J Pharm Sci.* 2004. (9): 32-5.
17. Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco JM. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *J. Food Chem.* 2003. (83): 547-50.