

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT SAWI LADANG (*Nasturtium Montanum* W.) MENGGUNAKAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-2-pyrcrilhydrazyl)

TEST OF ANTIOXIDAN ACTIVITY OF THE ETHYL ACETATE FRACTION OF FIELD PPAVEY (*Nasturtium Montanum* W.) USING THE DPPH METHOD (1,1-diphenyl-2-2-pyrcrilhydrazyl)

Syauqul Jannah* , Elly Mulyani, Nathasia Aulia Maharani

Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

*Korespondens Penulis E-mail: jannahsyauqul@gmail.com

ABSTRACT

*Antioxidants are substances that inhibit the responses carried out by free extremists. One example of an antioxidant is the mustard plant. The use of field mustard leaves (*Nasturtium montanum* W.) in making ethyl acetic acid fractions and the antioxidant effects are currently not known with certainty. Furthermore, it is important to conduct research on the antioxidant action of the ethyl acetic acid derivative of mustard greens leaves (*Nasturtium Montanum* W.). This research aims to determine the antioxidant properties of the ethyl acetate fraction of field mustard greens (*Nasturtium Montanum* W.) using the DPPH technique. The ethyl acetate fraction was carried out with 4 series of concentrations, namely 40, 60, 80, 100 ppm. 2 mL of each concentration was pipetted and 2 mL of 50 ppm DPPH was added. Then incubate for 30 minutes. Absorbance is estimated using a UV-Vis spectrophotometer at λ 517 nm and is referred to as the IC_{50} (Inhibitory Focus) value which indicates the concentration of antioxidants in a compound that produces half or 50% capture of DPPH. The results of the antioxidant trial of the ethyl acetic acid fraction of field mustard greens (*Nasturtium Montanum* W.) showed the effectiveness of the antioxidant with an IC_{50} value of 98.57 μ g/mL, including strong, 50-100 μ g/mL. Based on this research, chicory leaves (*Nasturtium Montanum* W.) have antioxidant properties*

Keyword : Field Mustard, DPPH, IC_{50} , Antioxidant

ABSTRAK

Antioksidan ialah zat penghambat respons yang dilakukan oleh ekstremis bebas. Salah satu contoh antioksidan adalah tanaman sawi. Pemanfaatan daun sawi ladang (*Nasturtium montanum* W.) dalam pembuatan fraksi asam etil asetat dan efek antioksidan saat ini belum diketahui secara pasti. Selanjutnya, penting untuk melakukan penelitian mengenai aksi antioksidan dari bagian turunan asam etil asetat daun sawi sawah (*Nasturtium montanum* W.). Uji penelitian dilakukan dengan tujuan agar mengetahui khasiat fraksi etil asetat sebagai antioksidan pada sawi ladang (*Nasturtium montanum* W.) dengan menggunakan teknik DPPH. Pada fraksi etil asetat dilakukan dengan 4 rangkaian konsentrasi yaitu 40, 60, 80, 100 ppm. Tiap konsentrasi yang dibuat, dipepet sebanyak 2ml kemudian di tambahkan 2 ml DPPH 50 ppm. Lalu di inkubasi sekitar 30 menit. Absorbansi diperkirakan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 517 nm dan disebut sebagai Nilai IC_{50} untuk menunjukkan konsentrasi antioksidan pada suatu senyawa yang menghasilkan tangkapan setengah atau 50% dari DPPH. Hasil uji coba

antioksidan fraksi asam etil asetat sawi ladang (*Nasturtium montanum* W.) menunjukkan adanya efektivitas Antioksidan dengan Nilai IC₅₀ senilai 98,57 µg/mL, termasuk kuat, 50-100 µg/mL. Berdasarkan penelitian ini, daun sawi putih (*Nasturtium montanum* W.) mempunyai khasiat sebagai antioksidan.

Kata Kunci : sawi ladang, antioksidan, IC₅₀, DPPH

PENDAHULUAN

Tumbuhan adalah sumber daya alam yang banyak memberikan manfaat luar biasa bagi umat manusia, yang dapat dimanfaatkan sebagai makanan, pakaian, dan obat-obatan. Karya inovatif obat dari bahan-bahan alami, khususnya tanaman, merupakan hal yang dapat diubah menjadi peluang bagi para akademisi dan industri obat-obatan. (Akhsanita, 2012).

Tanaman sawi yang kaya akan flavonoid dan antioksidan merupakan tanaman yang efektif memerangi kanker prostat, usus besar, payudara, dan ovarium dengan cara mencegah pertumbuhan sel penyakit dan menyebabkan sitotoksitas pada sel kanker. Vitamin C dan A juga banyak terdapat pada daun sawi segar. (Walanda *et al.*, 2016).

Radikal bebas dapat mempunyai sumber internal sebagai bagian dari proses metabolisme tubuh. Di sisi lain, Radikal Bebas dihasilkan yang diakibatkan karena paparan berbagai elemen lingkungan seperti radiasi,

polusi, pestisida yang digunakan pada makanan, dan perilaku merokok. Banyak penyakit, seperti kanker, katarak, penyakit jantung, dan penuaan dini, dikaitkan dengan radikal bebas. Antioksidan diperlukan untuk mengikat atau menangkap radikal bebas agar terhindar dari penyakit tertentu. (Najihudin *et al.*, 2017).

Zat yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa kimia pemberi elektron, yang mengurangi aktivitas radikal dengan memberikan satu elektron ke molekul lain yang bersifat radikal. Antioksidan dapat menstabilkan ketidakstabilan radikal bebas dengan cara mengisi kekurangan elektron pada senyawa radikal bebas (Hani & Milanda, 2021).

Penelitian ini bertujuan mengetahui apakah sawi ladang berperan penting dalam antioksidan dengan menggunakan fraksi etil asetat dari sawi ladang. Oleh karena itu, "Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Sawi Ladang (*Nasturtium montanum* W.) Menggunakan Metode DPPH"

Syauqul Jannah*, Elly Mulyani, Nathasia Aulia Maharani
Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu
*Korespondens Penulis E-mail: jannahsyauqul@gmail.com

adalah judul yang diberikan pada penelitian ini.

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan waktu Penelitian

Dilaksanakannya penelitian ini pada bulan Januari hingga Juni 2023 di lokasi Laboratorium kimia dan fitokimia Perguruan Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Seperangkat alat fraksinasi, seperangkat alat *rotary* (Biobase), batang pengaduk, timbangan analitik (Shimadzu), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), gelas ukur, mikropipet, spatel, kuvet, alat ukur labu, tabung reaksi, arloji, rak tabung reaksi, dan gelas kimia.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sawi ladang (*Nasturtium montanum* W.), Aquadest, etanol asetat, n-heksana, etanol pa, dan larutan DPPH (1,1-Difenil-2-Pyrcridrazil).

C. Cara Pengambilan dan Pengelolaan pada sampel

Daun sawi ladang (*Nasturtium Montanum* W.) merupakan bahan utama untuk dilaksanakannya uji aktivitas antioksidan; materinya dikumpulkan di wilayah Bengkulu Utara. Seluruh bagian tumbuhan sawi ladang digunakan; kecuali

akar dan tanaman yang baru dipanen tidak termasuk. Setelah dibersihkan secara menyeluruh, sampel yang diperoleh disortir kering. Untuk pembuatan serbuk simplisia, simplisia dibersihkan lalu diangin-anginkan hingga kering. Dengan menjemurnya di udara terbuka atau tanpa memanaskannya di bawah sinar matahari, pengeringan akan menurunkan kadar airnya. Untuk memilih sampel kering yang bebas dari serpihan dan kerusakan, dilakukan penyortiran kering. Selanjutnya sawi dicincang untuk memaksimalkan luas permukaan dan luas kontak antar sawi (Maulidina, 2015).

D. Ekstraksi

Setelah menimbang sawi ladang, masukkan ke dalam botol besar dan isi dengan etanol 96% hingga penuh. Kemudian dimaserasi selama tiga sampai lima hari dalam botol gelap dengan pengocokan berkala, ekstrak disaring hingga menghasilkan ekstrak cair. *Rotary evaporator* digunakan untuk menguapkan ekstrak yang diperoleh. (Sulaiman dan Suriani, 2016).

E. Fraksinasi

Sepuluh gram ekstrak kental daun sawi ladang (*Nasturtium Montanum* W.) ditimbang,

Syauqul Jannah*, Elly Mulyani, Nathasia Aulia Maharani
Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu
*Korespondens Penulis E-mail: jannahsyauqul@gmail.com

kemudian dilarutkan dalam 100 mililiter aquadest, kemudian ditambahkan 100 mililiter non-polar (n-heksana) dalam corong pisah. Kocok rata dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi yang diambil dari lapisan atas yaitu lapisan etanol-n-heksan dan lapisan bawah yaitu lapisan etanol-air. Lapisan etanol-air kemudian harus dicampur dengan 100 ml etil asetat, pelarut semi-polar. Setelah berada di corong pisah, cairan dicampur dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan etil asetat di bagian atas dan air-etanol di bagian bawah. Setelah itu, digunakan penangas air untuk menguapkan ketiga bagian tersebut hingga diperoleh ekstrak kental. (Noviyanty & Aisyah, 2019)

F. Penetapan Panjang Gelombang

Untuk penentuan aktivitas antioksidan, Sebanyak 3,9 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml (0,1 mm) etanol. (Herlina *et al*, 2022). Larutan fraksinasi etil asetat ditimbang sebanyak 50 mg lalu dilarutkan dalam 50 mL etanol sampai tanda batas tercapai, hingga menghasilkan larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran lagi dengan membuat 4 seri

konsentrasi larutan 40ppm, 60ppm, 80ppm, 100ppm (Jannah, 2022).

Campuran 2 mL DPPH 50 ppm dan 2 mL etanol p.a. untuk membuat larutan blanko. Setelah campuran menjadi homogen, diinkubasi ditempat gelap selama tiga puluh menit.. Selanjutnya pada panjang gelombang 517 nm ditentukan nilai serapannya menggunakan spektrofotometri UV-VIS. (Jannah, 2022).

G. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH

Dengan menggunakan mikropipet, 2 mL setiap konsentrasi larutan uji dipipet ke dalam tabung reaksi, dilanjutkan dengan penambahan 2 mL larutan DPPH. Setelah campuran menjadi homogen, diinkubasi ditempat gelap selama tiga puluh menit.. Kemudian di ukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Jannah, 2022).

Persentase penghambatan penyerapan DPPH dapat digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan sampel berdasarkan derajat penghambatan penyerapan radikal DPPH dengan menggunakan rumus :

Syauquul Jannah*, Elly Mulyani, Nathasia Aulia Maharani
Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu
*Korespondens Penulis E-mail: jannahsyauquul@gmail.com

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Konsentrasi ekstrak yang mampu menurunkan aktivitas suatu radikal sebesar 50% ditunjukkan dengan nilai IC₅₀. Rumus persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi fraksi antioksidan yang dinyatakan sebagai sumbu y dari serangkaian pengukuran berulang digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ untuk setiap konsentrasi sampel. (Molyneux, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut hasil yang diperoleh dari laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan AL-Fatah Bengkulu pada saat pembuatan ekstrak etanol 96% Sawi Ladang (*Nasturtium montanum* W.).

Tabel 1. Proses atau Hasil Pembuatan Ekstrak Sawi Ladang

Sampel	Simplisia Kering	Ekstrak Kental
Sawi Ladang (<i>Nasturtium Montanum</i>)	140 gr	29 gr

Nilai rendemen ekstrak Sawi Ladang (*Nasturtium Montanum* W.) yang telah ditentukan, diketahui bahwa pada penelitian ini rendemennya sebesar 20,7% dari 29 gram berat ekstrak.

Tabel 2. Hasil Fraksi Etil Asetat Sawi Ladang

Sampel yang digunakan	Berat fraksinasi etil asetat	Pelarut etil asetat	Berat ekstrak kental	rendemen
Fraksinasi etil asetat sawi ladang	10 gr	100 ml	1,07 gr	10,7 %

Ekstrak etanol Sawi Ladang (*Nasturtium montanum* W.) kemudian dipisahkan menggunakan dua pelarut (n-heksana, etil asetat, dan air) yang mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Dengan demikian, akan terjadi pemisahan kelompok dengan polaritas rendah terhadap pelarut n-heksana, polaritas sedang terhadap

pelarut etil asetat, dan polaritas tinggi terhadap air. Senyawa antioksidan dapat diperoleh dengan lebih mudah karena pelarut n-heksana akan memisahkan molekul non-polar.

Pengukuran panjang gelombang maksimum

Blanko yang digunakan untuk pengukuran panjang gelombang hanya berisi 2 mililiter DPPH.

Syauqul Jannah*, Elly Mulyani, Nathasia Aulia Maharani
 Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu
 *Korespondens Penulis E-mail: jannahsyauqul@gmail.com

Pengujian ini mengukur panjang gelombang 517 nm, dan panjang gelombang yang diperoleh yaitu 517,6 nm dengan nilai serapan 0,9753 sesuai dengan penelitian Herlina (2022) yang berarti panjang gelombang sudah sesuai dengan literatur. Panjang

gelombang yang sudah diperoleh akan digunakan untuk menguji sampel. Perbandingan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan 4 seri konsentrasi yaitu 40, 60, 80, 100 ppm (Jannah, 2022).

Aktivitas Antioksidan dengan menggunakan DPPH

Tabel 3. Hasil Uji aktivitas antioksidan

Sampel	Perlakuan	Seri Konsentrasi	Absorbansi
Fraksi Etil Asetat	1	40	0,668
	2	60	0,657
	3	80	0,631
	4	100	0,621

Data hasil pengujian aktivitas antioksidan dari 4 seri konsentrasi larutan pada panjang gelombang 517 nm menunjukkan bahwa setiap konsentrasi mengalami perubahan absorbansi dimana Nilai serapan menurun dengan meningkatnya konsentrasi larutan uji, yang menunjukkan bahwa antioksidan sawi ladang (*Nasturtium Montanum W.*) telah mengurangi DPPH radikal bebas. (Cahyaningsih, 2019).

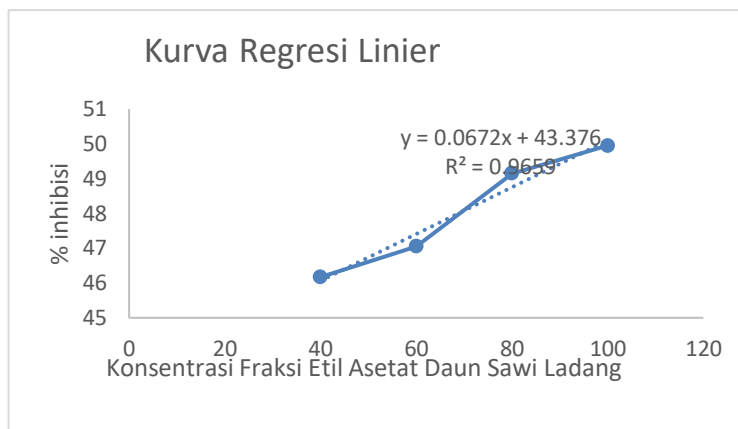
Data hasil absorbansi yang didapat dari 4 seri setiap sampel, selanjutnya akan dilakukan perhitungan persentase peredam dengan menggunakan rumus perhitungan % inhibisi. Hasil perhitungan persentase masing masing konsentrasi sampel fraksi

etil asetat daun sawi ladang (*Nasturtium Montanum W.*).

Berdasarkan hasil perhitungan, nilai persen peredam menunjukkan bahwa kapasitas fraksi etil asetat sawi (*Nasturtium Montanum W.*) dalam menurunkan radikal bebas meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi.

Untuk menghasilkan persamaan regresi linier, $y = bx + a$, dimana x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah persentase aktivitas antioksidan, perhitungan IC₅₀ dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel uji dengan persentase peredam (% penghambatan). (Ikhlas, 2013). Hasil ditunjukkan pada Gambar 1.

Syauqul Jannah*, Elly Mulyani, Nathasia Aulia Maharani
 Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu
 *Korespondens Penulis E-mail: jannahsyauqul@gmail.com



Gambar 1. Kurva Regresi Linier Fraksi Etil Asetat

Nilai IC_{50} sebesar 98,57 $\mu\text{g/mL}$ berdasarkan persamaan regresi linier pada Gambar yang merepresentasikan hubungan antara konsentrasi temuan fraksinasi dengan persentase penghambatan.

Aktivitas antioksidan hadir dalam lima jenis: sangat kuat, kuat, sedang, lemah, dan sangat lemah (Molyneux, 2004). Jika nilai IC_{50} suatu antioksidan kurang dari 50 ppm, maka antioksidan tersebut dianggap sangat kuat; jika antara 50 dan 100 ppm dianggap kuat; jika antara 100 dan 150 ppm dianggap sedang; jika antara 150 dan 200 ppm dianggap lemah. Suatu antioksidan masuk dalam kategori sangat lemah jika nilai IC_{50} -nya lebih dari 200 ppm. (Ikhlas, 2013).

Perhitungan IC_{50}

Konsentrasi efektif sampel uji fraksi etil asetat yang mampu mencegah oksidasi 50% total DPPH ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Oleh karena itu, angka 50 akan disubstitusikan untuk nilai y , dan hasilnya adalah nilai x , yang merupakan nilai IC_{50} . (Ikhlas, 2013).

Banyaknya metabolit sekunder pada sampel daun sawi ladang dan kemampuan senyawa mendonorkan elektron ke DPPH menjadi hasil nilai IC_{50} bagian etil asetat sawi ladang, dimana semakin besar konsentrasi sampel maka aktivitas antioksidan yang di dapat akan semakin meningkat dan mengakibatkan penurunan nilai absorbansi dan nilai IC_{50} (Ikhlas, 2013).

Tabel 4. Hasil Nilai IC_{50} Fraksi Etil Asetat Sawi Ladang

Sampel	Persamaan garis	Nilai y	Nilai IC_{50}
Fraksi etil asetat sawi ladang	0,0672 + 43,376	50	98,57 $\mu\text{g/mL}$

Dari sampel uji fraksi etil asetat sawi ladang (*Nasturtium Montanum* W.) variasi berat zat aktif menunjukkan nilai IC₅₀ lebih dari 50 µg/ml. Salah satu golongan metabolit sekunder yang mungkin mempengaruhi fungsi antioksidan adalah flavonoid. Telah dibuktikan bahwa flavonoid, yang merupakan antioksidan eksogen yang mengandung gugus fenolik, dapat membantu mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan baik melalui jalur langsung maupun tidak langsung. Melalui donor langsung ion hidrogen, flavonoid berfungsi sebagai penstabil dan penangkal langsung radikal bebas reaktif, sehingga bertindak sebagai antioksidan. (Fathurrachman, 2014).

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat daun sawi lapangan (*Nasturtium Montanum* W.) menunjukkan aktivitas antioksidan, menurut penelitian yang telah dilakukan. Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat daun sawi ladang (*Nasturtium Montanum* W.) dengan metode DPPH secara Spektrofotometri didapat nilai IC₅₀ yaitu 98,57 µg/ml, dan mempunyai potensi antioksidan tergolong kuat

(50-100 µg/ml).

DAFTAR PUSTAKA

- Akhsanita, M.(2012). Uji sitotoksik ekstrak, fraksi dan sub-fraksi daun jati (*tectonagrandis* Linn. F.) dengan metode brine shrimp lethality bioassay. Universitas Andalas, 1-52.
- Cahyaningsih, E., Sandi, P. E., Santoso, P. .2019. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan metode spektrofotometri Uv-Vis *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 5(1): 51-57.
- Fathurrachman, D. A. 2014. Pengaruh konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata* L.) dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. *Skripsi*. UIN syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Hani, R. C., & Milanda, T. 2021. Review: Manfaat Antioksidan pada Tanaman Buah di Indonesia. *Farmaka*. 14(1): 184-190.
- Herlina, 2022. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Pada Minuman Infused Water Dari Jeruk Nipis, Jeruk Lemon Dan Jeruk Kalamansi Dengan Metode DPPH.
- Ikhlas, N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum Americanum* L.) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta,

- Jakarta.
- Jannah, S. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Variasi Perlakuan Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*. 9(1): 154–162.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2):211-219.
- Maulidina, Rere. Ayu, Dyah Melinda. Ibrahim, Arsyk. 2015. Aktivitas Ekstrak Herba Sawi Langit (*Vernonia cinerea* L.) Sebagai Antiinflamasi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Prosiding Nasional Kefarmasian*. Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Najihudin, A., Chaerunisaa, A., & Subarnas, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula* L.) Dengan Metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 4(2): 70.
- Nopiyanti, V., & Aisiyah, SA. 2019. Uji Penentuan Nilai SPF (Sun Protection Factor) Fraksi Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Sebagai Zat Aktif Tabir Surya. *Journal of Pharmacy*. 9(1): 19-26.
- Walanda, P.W., Suryanto, E., & Abidjulu, J. 2016. Pengaruh Ekstrak Kasar Yang Mengandung Enzim Peroksidasi Dari Sawi Hijau (*Brassica juncea*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat*, 5(3).
- Sulaiman dan Suraini. 2016. Uji Efek Hipnotik ekstrak etanol sawi langit (*Vernonia Cinerea* L.) Terhadap mencit. *The National Journal of Pharmacy*. 13(2).