

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAGING BUAH ASAM PAYA (*Eleiodoxa conferta* Burret) DENGAN METODE DPPH DAN TIOSIANAT

Sari Afriani^{1*}, Nora Idiawati¹, Lia Destiarti¹, Lucy Arianie¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak

*email: afr_2104@yahoo.com

ABSTRAK

Asam paya merupakan sejenis palma dari famili *Arecaceae* yang memiliki rasa buah yang sangat asam. Secara tradisional, konsumsi daging buah asam paya dikenal dapat mengatasi sariawan yang mengandung senyawa antioksidan yang dapat menjaga kekebalan tubuh. Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan maserasi daging buah asam paya menggunakan pelarut metanol dilanjutkan partisi dengan menggunakan kloroform dan *n*-heksana. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa pada daging buah asam paya. Selain itu uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan metode tiosianat pada masing-masing fraksi. Uji fitokimia ekstrak kasar metanol buah asam paya mengandung flavonoid, fenol dan saponin, sedangkan fraksi metanol mengandung flavonoid dan saponin. Pada fraksi kloroform dan *n*-heksana tidak mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, dan saponin. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol buah asam paya memiliki IC_{50} sebesar 26,828 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan kuat yaitu dengan IC_{50} sebesar 12,334 $\mu\text{g/mL}$, tetapi tidak lebih baik dari asam askorbat (kontrol positif) yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 10,208 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat, fraksi metanol memiliki daya hambat terhadap peroksida lebih baik daripada ekstrak kasar metanol buah asam paya karena memiliki nilai aktivitas antioksidan lebih tinggi yaitu sebesar 85,105% sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak kasar metanol buah asam paya sebesar 75,225% dan asam askorbat sebesar 90,975%. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan tiosianat menunjukkan nilai tertinggi pada fraksi metanol. Aktivitas antioksidan fraksi metanol buah asam paya diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dan saponin.

Kata Kunci : antioksidan, DPPH, metode tiosianat, asam paya (*Eleiodoxa conferta* Burret)

PENDAHULUAN

Sumber daya alam hayati mempunyai sumber-sumber senyawa kimia yang tidak terbatas jenis maupun jumlahnya. Sumber daya alam hayati Indonesia yang melimpah belum dimanfaatkan dan dibudidayakan secara optimal. Menurut Lenny (2006), keanekaragaman hayati mampu menghasilkan keanekaragaman senyawa kimia (*chemodiversity*) untuk kebutuhan hidup manusia maupun organisme lain seperti untuk obat-obatan, insektisida, kosmetik dan sebagai bahan dasar sintesa senyawa organik yang lebih bermanfaat. Keanekaragaman senyawa kimia pada sumber daya alam hayati memiliki banyak nilai positif, misalnya kandungan senyawa vitamin C pada buah jeruk bermanfaat sebagai antioksidan yang mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker (Silalahi, 2006).

Antioksidan dapat mencegah teroksidasinya sel tubuh oleh oksigen aktif seperti hidrogen peroksida dan radikal hidroksil

serta radikal bebas lainnya, sehingga tubuh dapat terhindar dari penyakit-penyakit degeneratif dan penuaan dini. Beberapa contoh antioksidan yang terdapat dalam tanaman adalah β -karoten, likopen, vitamin C, vitamin E, flavonoid, ginkgo, kurkuminoid serta senyawa-senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan tinggi (Ervin, 2008). Senyawa hasil isolasi atau senyawa semi sintetik yang diperoleh dari tumbuhan digunakan sebagai obat atau bahan baku obat.

Banyak tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan yang mampu dimanfaatkan untuk kesejahteraan masyarakat, contohnya adalah buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* Burret). Asam paya secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat sariawan dan digunakan masyarakat sebagai pemberi rasa asam dalam masakan. Namun sampai saat ini belum ditemukan referensi atau hasil penelitian tentang aktivitas buah asam paya sebagai antioksidan. Dengan demikian itu perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari buah asam paya

dengan melakukan ekstraksi senyawa antioksidan dari buah tersebut.

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam mengkaji kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dari buah asam paya yaitu dengan cara ekstraksi komponen aktif dari buah tersebut dan dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam buah asam paya tersebut. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH untuk mengetahui reaktivitas golongan senyawa yang diuji dengan suatu radikal bebas dan metode tiosianat untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam menghambat terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif pada ekstrak kasar metanol buah asam paya dan pada masing-masing fraksi.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji golongan senyawa dan aktivitas antioksidan pada ekstrak buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) dengan metode DPPH dan metode tiosianat.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain peralatan gelas kimia, bulb, plat tetes, kaca arloji, neraca analitik, kertas saring, pipet mikro, tabung Eppendorf, inkubator, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain buah asam paya, akuades, metanol teknis, etanol, kloroform, *n*-heksana, logam Mg, HCl pekat, FeCl₃, H₂SO₄, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, DPPH, FeSO₄, NH₄SCN, minyak wijen, dan vitamin C (Asam askorbat).

Cara Kerja

Preparasi sampel

Sebanyak 3 kg buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) dibersihkan dengan air, di kupas kulit buahnya, di buang bijinya dan daging buah dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender (tanpa penambahan pelarut) sampai menjadi bubuk buah.

Ekstraksi sampel (Suryati, dkk, 2009)

Sebanyak 500 g bubuk buah asam paya dimaserasi dengan 500 mL metanol teknis selama 3x24 jam dan dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental metanol buah asam

paya. Kemudian ekstrak kental metanol buah asam paya ditambahkan masing-masing 50 mL kloroform dan 50 mL *n*-heksana, lalu di kocok kuat dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan, kemudian kedua lapisan tersebut dipisahkan (dipartisi berulang). Dilakukan uji fitokimia pada ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana.

Uji Fitokimia (Uji Spesifik Senyawa Metabolit Sekunder) (Depkes, 1995)

Uji alkaloid

- Uji Mayer

Ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer. Senyawa alkaloid akan menimbulkan endapan putih.

- Uji Wagner

Ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, fraksi kloroform, dan fraksi *n*-heksana ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner. Senyawa alkaloid akan menimbulkan endapan coklat.

Uji flavonoid

Beberapa tetes fraksi metanol, fraksi kloroform, fraksi *n*-heksana dan ekstrak kasar metanol buah asam paya ditempatkan pada tabung reaksi, ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan 2 mL etanol teknis kemudian dikocok. Terbentuknya warna jingga sampai merah, menunjukkan adanya flavonoid.

Uji fenolik

Beberapa tetes fraksi metanol, fraksi kloroform, fraksi *n*-heksana dan ekstrak kasar metanol buah asam paya ditempatkan pada plat tetes, ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl₃ 1%, uji positif fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau sampai biru kehitaman.

Uji saponin

Beberapa tetes fraksi metanol, fraksi kloroform, fraksi *n*-heksana dan ekstrak kasar metanol buah asam paya ditempatkan dalam tabung reaksi, ditambahkan akuades kemudian dikocok. Apabila terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit, memberikan uji positif adanya saponin.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Oloyede *et al.*, 2010 dalam Vivi, 2012)

Sebanyak 1 mL larutan sampel dalam metanol dengan konsentrasi 100 µg/mL dicampurkan dengan 3 mL larutan DPPH 40

ppm. Larutan tersebut dikocok homogen dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansinya diukur pada λ_{maks} 518 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Blanko etanol dan kontrol negatif yang digunakan adalah 3 mL pereaksi DPPH 40 ppm ditambahkan 1 mL etanol kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Kekuatan inhibisinya dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kekuatan Inhibisi} = \frac{(\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel})}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Berdasarkan kekuatan inhibisi yang diperoleh, kemudian uji aktivitas antioksidan dilakukan pada 5 variasi konsentrasi. Selanjutnya, data yang diperoleh diplotkan ke dalam grafik konsentrasi terhadap kekuatan inhibisi. Persamaan garis yang diperoleh kemudian digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (konsentrasi yang diperlukan untuk menginhibisi 50% radikal bebas).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Tiosianat (Stine, 1953; Yen, 1998)

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode tiosianat yang dimodifikasi (Stine, 1953; Yen, 1998). Sebanyak 10 μ L asam linoleat (minyak wijen) dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf yang berisi 1 mL etanol. Pada tabung Eppendorf kemudian dimasukkan sebanyak 10 μ L ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol dan asam askorbat.

Tabung Eppendorf kemudian diinkubasi dalam keadaan gelap pada suhu 25°C selama 24 jam. Setelah 24 jam diinkubasi, larutan dalam tabung Eppendorf ditambahkan 20 μ L larutan $FeSO_4$ 0,014 M dan 20 μ L larutan NH_4SCN 30%. Larutan dalam tabung Eppendorf kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500 nm. Absorbansi blanko, ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol dan asam skorbat diukur pada $t = 0$ jam dan $t = 24$ jam. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Persentase penghambatan oksidasi asam linoleat dihitung dengan persamaan :

$$\% \text{ Penghambatan} = \left[1 - \frac{(\text{Abs. uji ekstrak } t = 24 - \text{Abs. plant blank}) - \text{Abs. uji ekstrak } t = 0}{(\text{Abs. blank wijen } t = 24 - \text{Abs. blank wijen } t = 0)} \right] \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Bagian dari buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) ini yang digunakan sebagai sampel adalah daging buahnya. Sampel dibersihkan dari kotoran dan dipotong kecil-kecil, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender tanpa penambahan pelarut karena pada dasarnya daging buah asam paya sudah banyak mengandung air. Sampel dimaserasi menggunakan pelarut metanol teknis yang sebelumnya diredestilasi untuk menghilangkan senyawa pengotor dalam metanol.

Proses maserasi sampel selama 3x24 jam yang bertujuan untuk mengekstrak senyawa antioksidan yang terdapat di dalam sampel. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dimana penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik pada temperatur ruang dan disimpan terlindung dari cahaya langsung. Hal ini bertujuan untuk mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna. prinsip dari ekstraksi ini adalah berdasarkan kelarutan, adanya perbedaan tekanan antara luar dan dalam sel menyebabkan adanya pemecahan dinding dan membran sel, sehingga metabolit sekunder yang terdapat di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik (Sudjadi, 1986).

Penggunaan metanol pada proses maserasi ini karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun senyawa non polar. Metanol mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak.

Hasil dari maserasi selanjutnya dilakukan pemekatan pada maserat dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga akan diperoleh ekstrak kental (ekstrak kasar metanol). Ekstrak kasar metanol buah asam paya ini di partisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan kloroform. Proses partisi berguna untuk memisahkan senyawa antioksidan yang bersifat non polar ke dalam pelarut *n*-heksana, selanjutnya mengekstrak senyawa antioksidan semipolar ke dalam pelarut kloroform, dan fraksi metanol yang bersifat polar.

Pengujian antioksidan dilakukan pada fraksi polar, fraksi semipolar dan fraksi nonpolar untuk membandingkan aktivitas antioksidan pada setiap fraksi.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keanekaragaman dari jenis metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kasar metanol buah asam paya yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Golongan metabolit sekunder ditentukan dengan melihat perubahan warna sesuai pereaksi yang digunakan, pengendapan serta pembentukan busa. Tabel hasil skrining fitokimia pada ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, fraksi kloroform, dan fraksi *n*-heksana dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kasar Metanol Buah Asam Paya, fraksi metanol, fraksi kloroform, dan fraksi *n*-heksana.

Golongan Senyawa	Fraksi			
	Ekstrak Kasar Metanol	Metanol	Kloroform	<i>n</i> -Heksana
Alkaloid				
• Mayer	-	-	-	-
• Wagner	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	-	-
Fenolik	+	-	-	-
Saponin	+	+	-	-

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol buah asam paya dan ketiga fraksi (metanol, kloroform, dan *n*-heksana) tidak mengandung golongan senyawa alkaloid. Kandungan flavonoid hanya terdapat pada fraksi ekstrak kasar metanol buah asam paya dan fraksi metanol. Pada uji golongan senyawa fenol hanya terdapat pada ekstrak kasar metanol buah asam paya saja. Sedangkan golongan senyawa saponin hanya terdapat pada ekstrak kasar metanol buah asam paya dan fraksi metanol.

Pengujian alkaloid memberikan hasil negatif dengan metode Mayer dan Wagner karena tidak terbentuknya endapan putih pada uji Mayer dan endapan coklat pada uji Wagner.

Pengujian flavonoid dilakukan dengan mereduksi flavonoid dengan magnesium dan asam klorida pekat sehingga menghasilkan warna jingga. Penambahan serbuk Mg berfungsi agar gugus karbonil pada flavonoid berikatan dengan Mg, sedangkan penambahan HCl pekat berfungsi untuk membentuk garam flavilium yang berwarna jingga. Pada penelitian ini pengujian kandungan flavonoid memberikan hasil positif

pada ekstrak kasar metanol buah asam paya dan fraksi metanol.

Pengujian untuk mengidentifikasi fenolik dilakukan dengan mereaksikan larutan FeCl₃ dengan larutan sampel. Senyawa FeCl₃ akan bereaksi dengan gugus hidroksi pada fenol sehingga membentuk warna biru hitam/ hijau coklat. Pada penelitian ini hasil positif ditunjukkan pada ekstrak kasar metanol buah asam paya.

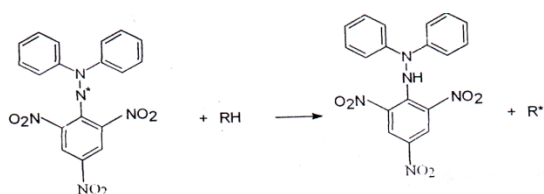
Pengujian saponin dilakukan pada ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana yang dikocok dalam tabung reaksi. Sampel positif mengandung saponin jika timbul busa setelah dikocok. Uji positif hanya pada ekstrak kasar metanol buah asam paya dan fraksi metanol, sedangkan pada fraksi kloroform dan fraksi *n*-heksana menunjukkan uji negatif. Timbulnya busa pada fraksi air disebabkan adanya glikosida yang mampu membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Uji Aktivitas Antioksidan

Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi.

Prinsip metode uji antioksidan adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar, yaitu etanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan dari sampel dilakukan secara spektrofotometri menggunakan larutan pembanding berdasarkan kemampuannya dalam mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas.

Senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron akan menghasilkan bentuk tereduksi difenil pikril hidrazin dan senyawa bukan radikal yaitu DPP Hidrazin yang stabil. Adanya penurunan serapan tersebut maka aktivitas antioksidan penangkap radikal dapat ditentukan (Pokorni, 2001). Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan Antioksidan (Prakash dan Aruna, 2001)

Pada pengujian antioksidan dengan metode DPPH digunakan juga asam askorbat sebagai pembanding (kontrol positif). Asam askorbat berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Pengujian aktivitas antioksidan senyawa-senyawa bahan alam atau sintesis dapat dilakukan secara kimia dengan menggunakan DPPH sebagai senyawa radikal bebas yang stabil, yaitu dengan melihat proses peredaman pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang kemudian akan digunakan untuk mengukur absorbansi larutan sampel dan larutan pembanding.

Setelah larutan sampel maupun larutan pembanding dicampurkan dengan pereaksi DPPH, larutan uji didiamkan selama 30 menit sebelum diukur absorbansinya. Hal ini bertujuan agar larutan sampel yang berpotensi sebagai antioksidan dan larutan pembanding bereaksi meredam radikal bebas DPPH hingga terjadinya perubahan warna pada larutan sampel dan larutan pembanding tersebut dari warna ungu menjadi kuning yang selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 518 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH dilakukan terhadap beberapa variasi konsentrasi dari sampel tersebut. Berdasarkan data pengukuran nilai absorbansi maka dapat dianalisis pengaruh konsentrasi sampel dengan persentase peredaman, yaitu peningkatan aktivitas sebanding dengan bertambahnya konsentrasi. Aktivitas peredaman radikal bebas biasanya dinyatakan sebagai persentase peredaman dari DPPH dan dapat juga dinyatakan dengan IC₅₀. Nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration) merupakan konsentrasi efektif yang dibutuhkan untuk menghambat sebesar 50% dari konsentrasi radikal DPPH. Jika diperoleh nilai persentase peredaman sebesar 0%, berarti sampel tidak memiliki aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan jika memiliki persentase peredaman

lebih dari atau sama dengan 50% (Mega dan Swastini, 2010).

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

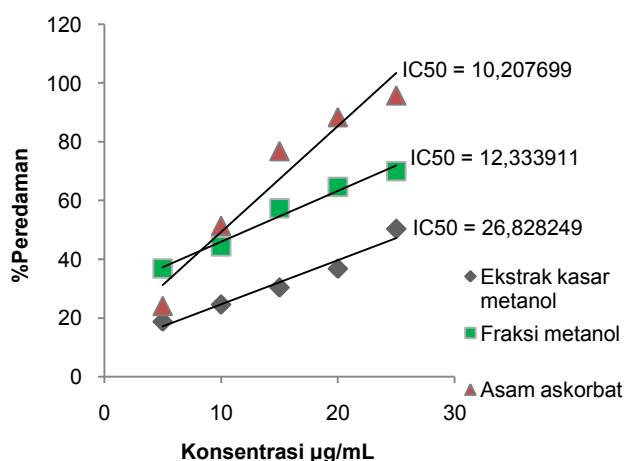
	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Persamaan Garis
Ekstrak Kasar Metanol	26,828249	Y = 1,508x + 9,543 R ² = 0,959
Fraksi Metanol	12,333911	Y = 1,731x + 28,65 R ² = 0,979
Asam Askorbat	10,207699	Y = 3,611x + 13,14 R ² = 0,938

Metode DPPH menunjukkan bahwa pada larutan ekstrak kasar metanol buah asam paya memiliki nilai IC₅₀ lebih tinggi dari larutan pembanding asam askorbat dan fraksi metanol. Hal ini berarti larutan ekstrak kasar metanol buah asam paya memiliki aktivitas antioksidan tidak lebih baik dari larutan asam askorbat dan fraksi metanol. Namun menurut (Ariyanto, 2006), suatu sampel dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50 µg/mL.

Menurut Zuhra, dkk, (2008), semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 µg/mL, sedang jika bernilai 101-150 µg/mL dan lemah jika nilai IC₅₀ bernilai 151-200 µg/mL. Sampel yang memiliki nilai IC₅₀ > 200 µg/mL dianggap tidak bersifat antioksidan.

Grafik konsentrasi terhadap kekuatan inhibisi hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yang dilakukan terhadap beberapa variasi konsentrasi dari ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, dan asam askorbat disajikan pada gambar 2.

Pada gambar 2, sumbu y merupakan persentase peredaman dan sumbu x sebagai konsentrasi antioksidan. Nilai IC₅₀ dihitung dengan memasukkan nilai 50% kedalam persamaan regresi linear sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC₅₀. Nilai b positif menunjukkan kurva nilai peredaman antioksidan pada sampel merupakan kurva peningkatan, yaitu setiap konsentrasi bertambah 1 ppm, maka persentase peredaman meningkat. Nilai R² menunjukkan keeratan hubungan yang signifikan antara konsentrasi sampel dengan persentase peredaman (Mardawati, dkk., 2008).



Gambar 2. Kurva regresi linear pada ekstrak kasar metanol buah asam paya, fraksi metanol, dan asam askorbat dengan metode DPPH

Persamaan linear pada ekstrak kasar metanol buah asam paya memiliki nilai b positif sebesar 9,543 yang menunjukkan bahwa setiap konsentrasi bertambah 1 ppm, maka persentase peredaman meningkat sebesar 9,543. Larutan ekstrak kasar metanol memiliki nilai R^2 sebesar 0,959 dengan nilai IC_{50} sebesar 26,828249 µg/mL. Hal ini berarti pada ekstrak kasar metanol memiliki derajat peredaman sekitar 95% dipengaruhi oleh konsentrasi sampel yang berkontribusi sebagai antioksidan dan kurang dari 5% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak berpotensi sebagai antioksidan (Javanmardi *et al.*, 2003).

Persamaan linear pada fraksi metanol memiliki nilai b positif sebesar 28,65 yang menunjukkan bahwa setiap konsentrasi bertambah 1 ppm, maka persentase peredaman meningkat sebesar 28,65. Larutan fraksi metanol memiliki nilai R^2 sebesar 0,979 dengan nilai IC_{50} sebesar 12,333911 µg/mL. Hal ini berarti pada fraksi metanol memiliki derajat peredaman sekitar 97% dipengaruhi konsentrasi sampel yang berkontribusi sebagai antioksidan dan kurang 3% dipengaruhi faktor lain yang tidak berpotensi sebagai antioksidan (Mardawati, dkk, 2008).

Persamaan linear pada larutan asam askorbat sebagai pembanding memiliki nilai b positif sebesar 13,14 yang berarti setiap konsentrasi bertambah 1 ppm, maka persentase peredaman meningkat sebesar 13,14. Larutan asam askorbat memiliki nilai R^2 sebesar 0,938 dengan nilai IC_{50} sebesar 10,207699 µg/mL. Hal ini berarti pada larutan asam askorbat memiliki derajat peredaman sekitar 93% yang dipengaruhi oleh konsentrasi sampel yang berkontribusi

sebagai antioksidan dan kurang dari 7% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak berpotensi sebagai antioksidan (Javanmardi *et al.*, 2003).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat. Prinsip pengujian dengan menggunakan metode tiosianat adalah pengukuran aktivitas antioksidan dalam menghambat terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif. Pada metode tiosianat ini asam linoleat dimasukkan dalam tabung Eppendorf yang berisi etanol dimana pada penelitian ini asam linoleat yang digunakan adalah minyak wijen yang juga berperan sebagai kontrol negatif. Asam linoleat merupakan asam lemak tak jenuh dengan 2 ikatan rangkap yang mudah mengalami oksidasi menghasilkan peroksida aktif. Menurut (Yamashita *et al.*, 1992) minyak wijen merupakan minyak yang bermanfaat bagi kesehatan karena mengandung jumlah asam lemak tidak jenuh berupa asam oleat (omega-9) dan asam linoleat (omega-6) sebesar 35,5 - 50%, sedangkan asam lemak jenuhnya sangat kecil yaitu asam palmitat (7,2-12%) dan asam stearat (3,5-6,0%) (Gunstone, 2002). Salah satu karakteristik minyak wijen adalah memiliki stabilitas oksidatif yang tinggi. Hal ini karena adanya komponen antioksidan seperti komponen lignan, polifenol, dan tokoferol (Kanu *et al.*, 2007 dalam Susanty, 2011).

Larutan sampel yang berisi etanol dan asam linoleat kemudian diinkubasi dalam keadaan gelap pada suhu 25°C selama 24 jam. Inkubasi bertujuan agar asam linoleat dalam sampel mengalami oksidasi, dimana semakin lama waktu inkubasi maka nilai absorbansi pun semakin meningkat. Setelah diinkubasi larutan sampel ditambahkan larutan $FeSO_4$ dan NH_4SCN . Penggunaan larutan tersebut dengan tujuan agar peroksida ini dapat mengoksidasi ion ferro (Fe^{2+}) menjadi ion feri (Fe^{3+}) yang kemudian bereaksi dengan ion tiosianat membentuk kompleks feri tiosianat ($Fe(SCN)_3$) yang berwarna merah. Intensitas warna merah ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm. Semakin tinggi intensitas warna merah menunjukkan bahwa semakin banyak peroksida aktif yang terbentuk. Makin rendah absorbansi berarti makin sedikit peroksida yang dihasilkan (Endang, dkk, 2006). Penelitian ini digunakan asam askorbat sebagai kontrol positif karena asam askorbat berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Tabel 3. Hasil Uji Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Tiosianat

Sampel	n	Blanko sampel	Uji ekstrak t = 0	Uji ekstrak t = 24	Blanko wijen t = 0	Blanko wijen t = 24	Aktivitas Antioksidan (%)	Aktivitas Antioksidan Rata2(%)
Ekstrak kasar metanol	1	0,351	0,058	0,492	0,197	0,563	77,32	75,225
	2	0,337	0,064	0,498	0,191	0,552	73,13	
Fraksi metanol	1	0,508	0,001	0,569	0,186	0,573	84,5	85,105
	2	0,512	0,005	0,572	0,182	0,567	85,71	
Asam askorbat	1	0,783	0,023	0,842	0,153	0,582	91,37	90,975
	2	0,774	0,019	0,832	0,165	0,579	90,58	

Dilihat dari tabel 3, pada asam askorbat (kontrol positif) nilai aktivitas antioksidannya paling tinggi, yakni 90,975%. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar metanol buah asam paya dan fraksi metanol berturut-turut adalah 75,225% dan 85,105%, berarti pada fraksi metanol memiliki daya hambat terhadap peroksida lebih baik daripada ekstrak kasar metanol buah asam paya karena memiliki nilai aktivitas antioksidan lebih tinggi.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kasar metanol buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) mengandung flavonoid, fenolik dan saponin. Fraksi metanol mengandung flavonoid dan saponin.
2. Ekstrak kasar metanol buah asam paya dan fraksi metanol tergolong antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 26,828 µg/mL dan 12,334 µg/mL. Sedangkan metode tiosianat, aktivitas antioksidan tertinggi pada fraksi metanol sebesar 85,105%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanto, R., 2006, Uji Aktivitas Antioksidan, Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Kloroform dan Fraksi Air Ekstrak Metanolik Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban), Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada (Skripsi).
- Departemen Kesehatan, 1995, Matera Medika Indonesia, Jilid VI, Departmen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ervina, M, I.S. Soediro, dan S. Kuswardiyani, 2001, Telaah Fitokimia Akar lobak (*Raphanus sativus* L. Var, Hortensis Back.) sebagai Penangkap Radikal Bebas, Thesis, Program Pendidikan S2 Program Studi Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Javanmardi, J.; Stushroff, C.; Locke, E.; Vivanco, J.M., 2003, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian Ocimum Accessions, 83:547-550
- Lenny, S., 2006, Senyawa Terpenoida dan Steroida, USU Press, Medan
- Mardawati, E.; Filianty, F.; dan Marta, H., 2008, Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya, UnPad Press, Bandung
- Mega, I.M. dan Swastini, D.A., 2010, Screening Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops verteegii*), J. Kim, 4(2): 187-192
- Prakash, and Aruna, 2001, Medallion Laboratories Analytical Progress: Antioxidant Activity [Online], Vol. 19 (2): 1-4
- Pokorni, J.; Yanishlieva, N.; and Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food; Practical Applications*, CRC Press, New York
- Silalahi, J., 2006, Makanan Fungsional, Kanisius, Yogyakarta
- Stine, C.M., Harland, H.A., Coultel, S.T, and Jenness, R., 1953, A modified peroxide test for detection of lipid oxidation in dairy products, J Dairy Sci 37:202-208
- Sudjadi, 1986, Metode Pemisahan, UGM Press, Yogyakarta
- Suryati, Hazli Nurdin, Dachriyanus dan Md Nordin Hj Lajis, 2009, Profil Fitokimia dan Aktifitas Antiacetylcholinesterase dari Daun Tabat Barito (*Ficus deltoidea* Jack), J. Ris. Kim. Vol. 2, No. 2, September 2009, 169-173
- Susanty, A., 2011, Karakteristik Minyak Wijen (*Sesamum indicum* L.) Sangrai Selama Tahapan Proses Pemurnian, Fakultas

- Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta (Tesis).
- Vivi, 2012, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Sayuran Lokal Kalimantan Barat, Universitas Tanjungpura, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Pontianak, (Skripsi).
- Yamashita, K., Konohara, Mikokatayama, K., and Onamiki, M., 2002, Sesame Seed Lignans and γ -Tocopherol Act Synergistically to Produce Vitamin E Activity in Rats, *Nutrient Metabolism*, 022-3166/92, 2440-2446
- Yen, G.C., Cheng, H., Duh, P.D., 1998, Extraction and identification of an antioxidative component from Jue Ming Zi (*Cassia tora* L.) *J Agric Food Chem* 46:820-824
- Zuhra, C.F.; Juliati, B.T.; dan Herlince, S., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus*) (L) Merr.), *J. Bio*, 3(1): 7-10