

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Menggunakan Metode DPPH

Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of 70% Star Fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) Using the DPPH Method

M. Herwanda Perdana
Kusuma^{1*}

Aditya Noviadi
Rakhmatullah²

Azmi Yunarti³

STIKES Borneo Lestari,
Banjarbaru, Kalimantan Selatan,
Indonesia

*email:

m.herwandapk@gmail.com

Abstrak

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menstabilkan radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat berinteraksi dengan molekul sel tubuh. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antioksidan adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam genus *Averrhoa*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apa saja kandungan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diekstraksi dengan metode maserasi. Pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Pemilihan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal DPPH dikarenakan pengerjaannya yang mudah, sederhana, cepat dan peka dalam mengevaluasi antioksidan dari senyawa bahan alam. Berdasarkan hasil penelitian secara kualitatif ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid dan secara kuantitatif memiliki nilai IC₅₀ sebesar 74,625 ppm yang termasuk kategori antioksidan kuat.

Kata Kunci:

Belimbing Wuluh
Averrhoa bilimbi L.
Antioksidan
Ekstrak Etanol 70%
Radikal DPPH

Keywords:

Star Fruit
Averrhoa bilimbi L.
Antioxidant
70% Ethanol Extract
DPPH Radical

Abstract

Antioxidants are compounds that are able to stabilize free radicals in the body. Free radicals are highly reactive molecules because they have unpaired electrons so that they can interact with the molecules of the body's cells. One of the plants that has properties as an antioxidant for star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) Star fruit is one of the species in the genus *Averrhoa*. The purpose of this study was to find out what are the active compounds contained in ethanol extract of 70% star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) and to determine the antioxidant activity in ethanol extract of 70% star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) extracted by the maceration method. In this study using the DPPH method. The selection of antioxidant activity testing using the DPPH radical suppression method is due to its easy, simple, fast and sensitive work in evaluating antioxidants from natural ingredient compounds. Based on the results of the study qualitatively ethanol extract 70% star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) contains secondary metabolite compounds flavonoids, alkaloids, saponins, and terpenoids and quantitatively has an IC₅₀ value of 74,625 ppm which is included in the category of strong antioxidants.



© 2023 The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI: <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5130>.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung menyebabkan reaksi berantai di dalam tubuh dan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan. Jumlah radikal bebas dapat

mengalami peningkatan yang diakibatkan faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan, yang menyebabkan sistem pertahanan tubuh yang ada tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas¹.

Antioksidan merupakan senyawa dengan kemampuan menghambat oksidasi dan melindungi dari radikal bebas. Tubuh memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh

dari serangan radikal bebas maupun senyawa radikal, antioksidan dalam kadar tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi⁹. Fungsi utama antioksidan adalah untuk menghentikan atau memutus reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh serta menetralkan radikal bebas sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses maupun reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan².

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode seperti DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), ABTS (2,2'-Azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt), dan FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). Pada penelitian ini digunakan metode DPPH. Pemilihan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal DPPH dikarenakan pengerjaannya yang mudah, sederhana, cepat dan peka dalam mengevaluasi antioksidan dari senyawa bahan alam³.

Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) adalah tanaman yang biasa ditanam di halaman rumah dengan keunggulan dapat berbuah sepanjang tahun. Belimbing wuluh masuk dalam golongan tanaman obat keluarga (TOGA) sehingga masyarakat memanfaatkan tanaman ini sebagai jamu atau obat tradisional⁸. Belimbing wuluh bermanfaat sebagai obat batuk, mengobati gusi berdarah, menghilangkan jerawat, menghilangkan panu, dan menormalkan tekanan darah tinggi. Pemanfaatan tanaman belimbing wuluh sebagai obat tradisional tidak terlepas dari senyawa aktif yang terkandung di dalam buahnya yang memiliki khasiat⁴.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah belimbing wuluh diantaranya mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, fenol, dan triterpenoid. Selain itu juga diketahui bahwa ekstrak metanol buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan sebesar 30.365 µg/ml⁵. Pada penelitian *Hasim et al* (2019), menemukan bahwa daun belimbing wuluh yang dimaserasi dengan pelarut etanol 70%

menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 16,99 µg/ ml terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil).

Belum ada penelitian yang meneliti mengenai antioksidan buah belimbing wuluh menggunakan pelarut etanol 70%. Hal ini menjadikan peneliti tertarik ingin melakukan penelitian terkait uji aktivitas ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi tambahan informasi dan data mengenai aktivitas ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

METODOLOGI

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan adalah bejana maserasi (pyrex®), lemari pendingin, lampu UV, neraca analitik (OHAUS®), spektrofotometer UV-Vis (PG Instrument®), rotary evaporator (pyrex®), alat-alat kaca (Iwaki®Pyrex®) dan vortex serta waterbath. Sampel tumbuhan yang digunakan adalah buah belimbing wuluh. Bahan lain yang digunakan antara lain etanol, DPPH, aquadest, asam asetat anhidrat, FeCl₃, gelatin, HCl, H₂SO₄ pekat, kertas label, kertas perkamen, kertas saring, kuersetin (kontrol positif), NaCl dan metanol.

Metode Penelitian

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan yaitu ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dibuat dengan metode ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 400 g simplisia buah belimbing wuluh yang telah dikeringkan dan dihaluskan kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1,2 L (1:3) selama 24 jam. Kemudian dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Hasil ekstraksi yang diperoleh berupa ekstrak kental.

a. Uji Kualitatif

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol 70% buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan beberapa pereaksi, yaitu uji flavonoid, uji steroid-triterpenoid, uji tanin, uji saponin, uji alkaloid dan uji fenol.

- Uji Flavonoid

Ekstrak buah belimbing wuluh sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan 5 ml etanol, kemudian dipanaskan selama 5 menit pada tabung reaksi. Setelah itu, larutan ditambahkan 10 tetes HCl pekat dan 0,2 gram serbuk Mg dan 1 mL amil alkohol. Terdapat senyawa flavonoid ditandai dengan berubahnya larutan menjadi warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol⁶.

- Uji Fenol

Masukkan sebanyak 1 ml sampel kemudian ditambahkan dengan larutan FeCl₃ 5% sebanyak 1 mL. Adanya senyawa fenol ditandai dengan warna hijau kehitaman atau hijau kebiruan⁷.

- Uji Tanin

Ekstrak buah belimbing wuluh sebanyak 0,5 gram dilarutkan terlebih dahulu dengan etanol, kemudian ditambahkan larutan gelatin 1% (1 gram dalam 100 mL NaCl). Terdapat senyawa tanin ditandai terbentuk endapan putih kekuningan⁷.

- Uji Alkaloid

Ekstrak buah belimbing wuluh sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan etanol secukupnya, ditambahkan HCl 2 N dibagi menjadi 4 bagian dimana salah satunya sebagai pembanding⁷.

1) Pereaksi Mayer: Larutan dipipet sebanyak 2,5 mL ditambahkan pereaksi Mayer secukupnya. Ditandai dengan larutan berubah menjadi endapan putih atau putih kekuningan.

2) Pereaksi Dragendorff: Larutan dipipet sebanyak 2,5 mL ditambahkan pereaksi Dragendorff secukupnya. Ditandai dengan larutan berubah menjadi endapan coklat sampai kuning, jingga.

3) Pereaksi Wagner: Larutan dipipet sebanyak 2,5 mL ditambahkan pereaksi Wagner secukupnya. Ditandai dengan larutan berubah menjadi endapan coklat.

- Uji Saponin

Ekstrak buah belimbing wuluh sebanyak 0,5 gram ditambahkan 10 mL aquades kemudian dikocok kuat ± 1 menit dan didiamkan selama 10 menit, amati buih atau busa. Terdapat senyawa saponin ditandai dengan

terbentuknya busa/buih dengan tinggi 1-3 cm yang stabil selama 10 menit. Dilakukan uji penegasan dengan menambahkan HCl 2 M adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil⁶.

- Uji Steroid/Terpenoid

Ekstrak buah belimbing wuluh sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan etanol, kemudian ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Kemudian dikocok perlahan dan diamkan beberapa menit. Terdapat senyawa triterpenoid ditandai dengan berubahnya larutan menjadi warna merah atau ungu, sedangkan senyawa steroid ditandai dengan berubahnya larutan menjadi warna biru atau hijau⁷.

b. Uji Kuantitatif

- Pembuatan Larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM, dilakukan dengan cara menimbang DPPH sebanyak 7,8864 mg, lalu dilarutkan dalam 50 ml metanol p.a, sehingga didapat konsentrasi larutan DPPH 0,4 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol. kemudian larutan ditempatkan dalam botol gelap dan digojog hingga homogen⁸.

- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan dibuat larutan pereaksi DPPH 0,4 mM dilakukan dengan cara memasukan 1,0 ml larutan DPPH 0,4 mM ke dalam vial gelap dan ditambahkan 4 mL metanol p.a kemudian dibungkus dengan aluminium foil lalu dihomogenkan. Selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet dan serapannya diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500-600 nm⁸.

- Penentuan *Operating Time*

Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 ml ditambahkan dengan larutan standar kuersetin 3 ppm sebanyak 4 ml. Selanjutnya larutan serapannya diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan dengan interval waktu 2 menit sampai mencapai absorbansi yang stabil⁸.

- Pembuatan Larutan Blanko DPPH

Larutan blanko DPPH 0,4 mM yang telah dibuat diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam vial gelap. Ditambahkan 4 ml metanol p.a dibungkus dengan aluminium foil lalu dihomogenkan. Proses inkubasi dilakukan di ruangan yang gelap terhindar dari cahaya selama *operating time* yang telah ditetapkan sebelumnya. Kemudian larutan blanko DPPH dimasukkan ke dalam kuvet. Diukur Serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya⁸.

- Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin 100 mg kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml, lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan gojok sampai homogen. Sehingga konsentrasi kuersetin menjadi 1000 ppm. Seri konsentrasi dibuat dengan cara mengambil 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml dan 1 ml, dilarutkan dalam 100 ml pelarut etanol 70%, didapatkan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm⁹.

- Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Kuersetin

Pengujian larutan kontrol kuersetin pada masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 4 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH dan divortex selama 15 detik dalam ruang gelap. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang dan ruang gelap selama 30 menit. Langkah terakhir dilakukan uji larutan kontrol kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya⁹.

- Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Larutan uji yang dibuat berupa ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh, 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas hingga dan gojok sampai homogen, hingga didapatkan konsentrasi larutan induk 500 ppm. Larutan induk dibuat 5 seri konsentrasi dengan cara mengambil

10 ml, 12 ml, 14 ml, 16 ml, dan 18 ml dan dilarutkan dalam 100 ml pelarut metanol p.a, didapatkan konsentrasi yaitu 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, dan 90 ppm⁹.

- Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Disiapkan larutan uji dan larutan kuersetin yang telah dibuat. Larutan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif. Setiap konsentrasi larutan uji dan larutan kuersetin dipipet 4,0 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml selanjutnya ditambahkan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 ml dan dihomogenkan. Larutan uji diinkubasi di ruangan yang gelap terhindar dari cahaya selama *operating time* yang telah didapatkan sebelumnya. Selanjutnya absorbansinya diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya⁹.

c. Pengolahan Data

Hasil pengukuran absorbansi yang didapat dari Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan. Aktivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persentase inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

% Inhibisi radikal DPPH

$$= \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}}$$

Setelah didapatkan persentase peredaman dari konsentrasi larutan uji dan kuersetin, kemudian ditentukan persamaan $y = bx + a$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi (ppm) dan y adalah presentase inhibisi DPPH (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition concentration 50% (IC_{50}) yaitu jika konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian secara kualitatif menunjukkan hasil dari uji skrining pada ekstrak etanol 70% buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid.

Uji flavonoid didapatkan hasil positif buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) ditunjukkan terbentuknya perubahan warna menjadi kuning atau kuning kemerahan pada lapisan amil alkohol. Uji flavonoid dilakukan penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasanya seperti glukosa, raminosa, dan galaktosa. Reduksi dengan HCl pekat dan Mg menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga atau kuning terhadap flavon, flavanol, flavanonol, dan xanton¹⁰.

Ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) pada menggunakan uji Dragendorff, terbentuk endapan coklat yang menandakan positif mengandung alkaloid. Hasil positif pada pereaksi Dragendorff diduga karena terjadinya kompleks kalium alkaloid (K dengan ion tetraiodobismutat. Pembuatan pereaksi Dragendorff terdiri dari bismuth nitrat yang dilarutkan dalam HCl kemudian direaksikan dengan kalium iodide. Pada saat ion Bi³⁺ dari bereaksi dengan kalium iodida berlebih maka akan membentuk kalium tetraiodobismutat. Gugus nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan logam K⁺ dari kalium tetraiodobismutat membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga memberikan endapan berwarna coklat¹¹.

Ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang direaksikan dengan pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih kekuningan yang menandakan positif mengandung alkaloid. Pembuatan pereaksi Mayer terdiri dari larutan merkuriem klorida dengan kalium iodida. Produk yang dihasilkan dari reaksi tersebut yaitu endapan merah merkuriem iodida.

Apabila kalium iodida ditambahkan berlebih maka akan membentuk kalium tetraiodomerkurat. Alkaloid memiliki atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas, sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam diantaranya yaitu kalium. Gugus nitrogen pada alkaloid diperkirakan akan bereaksi dengan logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat dan akan membentuk kompleks kalium alkaloid yang memberikan endapan berwarna putih¹¹.

Ekstrak etanol 70% Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) direaksikan dengan pereaksi Wagner positif mengandung alkaloid. Hasil positif pada pereaksi Wagner diduga karena terjadinya kompleks kalium alkaloid dan ion I₃. Pembuatan pereaksi Wagner terdiri dari iodin dengan kalium iodida. Iodin akan bereaksi dengan ion dari kalium iodida menghasilkan warna coklat¹¹.

Ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) positif mengandung saponin yang ditandai terbentuk busa dan tidak hilang setelah ditambahkan HCl 2N. Uji saponin menunjukkan hasil positif karena buih yang terbentuk setelah pengocokan bertahan lama. Saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air. Pada struktur misel gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa.

Uji terpenoid didapatkan hasil positif pada ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan penambahan Libermann Burchard. Reaksi ini diawali proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrat, dengan lepasnya gugus asetil sehingga terbentuk ikatan rangkap, kemudian pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya sehingga rangkap berpindah. Hal ini disebut resonansi yang bertindak sebagai elektrofil (karbokation). Karbokation menyebabkan adisi elektrofilik yang diikuti pelepasan

hidrogen beserta elektronnya, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi sehingga ditunjukkan warna cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan terbentuk, ini menandakan bahwa sampel mengandung terpenoid.

Sedangkan pada uji metabolit sekunder lainnya tidak didapatkan hasil yang positif seperti uji tanin, fenol, dan steroid. Hal ini dikarenakan perbedaan tempat pengambilan sampel yang dipengaruhi oleh kesuburan tanah, suhu dan kelembaban tempat tumbuh tanaman, sehingga dapat membuat perbedaan kandungan kimia pada tanaman.

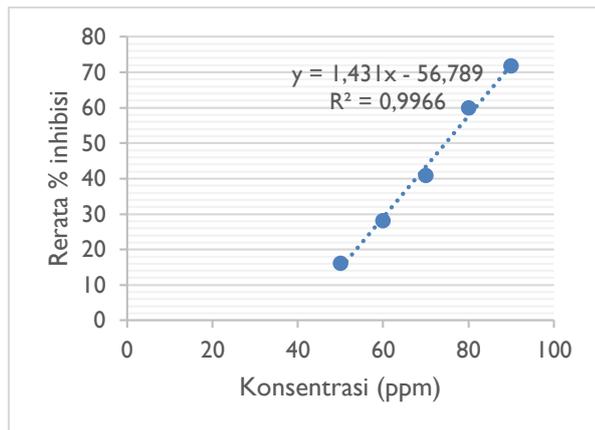
Tabel 1. Hasil uji kualitatif terhadap sampel

Jenis Uji	Hasil Pengujian (+/-)
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Fenol	-
Tanin	-
Saponin	+
Steroid	-
Terpenoid	+

Pada penentuan panjang gelombang maksimum yang didapat pada penelitian adalah 515 nm dengan absorbansi 0,713. Hal ini sesuai dengan rentang panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 500-600. Penentuan *operating time* untuk mengetahui waktu pengukuran yang dibutuhkan suatu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa lain hingga terbentuk senyawa produk yang stabil¹². Dapat diketahui stabil dengan mengamati absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil. Hasil penentuan *operating time* dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dinyatakan bahwa dengan interval waktu 2 menit

didapatkan absorbansi yang stabil pada waktu 30-34 menit.

Penentuan aktivitas antioksidan Ekstrak Buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dilakukan dengan cara sederhana yaitu pengujian menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dimana hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian. Metode pengujian ini secara kuantitatif memiliki prinsip yaitu menghitung nilai aktivitas hambatan pada radikal bebas DPPH yang dihambat oleh ekstrak Buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis dan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration). Penentuan aktivitas antioksidan dengan cara mereaksikan sampel ekstrak Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan radikal bebas berupa larutan DPPH yang kemudian diinkubasi diruang gelap dalam waktu 30 menit, hal ini dilakukan agar bereaksinya larutan sampel dan larutan DPPH dapat berlangsung secara optimal sebelum dilakukan pengukuran dengan Spektrofotometri UV-Vis. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin karena kuersetin merupakan golongan flavonoid yang sering ditemukan dalam tumbuhan dan terbukti merupakan senyawa antioksidan kuat dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Parameter yang digunakan pada penelitian ini adalah IC₅₀ yang merupakan konsentrasi senyawa uji untuk meredam radikal DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin besar aktivitas antioksidan.



Gambar 1. Kurva regresi linear penetapan IC_{50} ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).

Berdasarkan hasil uji kuantitatif aktivitas antioksidan kontrol positif kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 3,02115 ppm. Pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) didapatkan nilai IC_{50} sebesar 74,6254 ppm yang dapat dikategorikan sebagai antioksidan kuat.

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) adalah flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan metode DPPH didapatkan nilai IC_{50} yaitu 74,625 ppm yang termasuk kategori antioksidan kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih sebesar-besarnya kepada Bapak apt. Aditya Noviadi R, M.Farm dan Ibu Azmi Yunarti, S.Pi, MPd yang telah memberikan bimbingan serta arahan sehingga penelitian ini dapat selesai dengan baik.

REFERENSI

- Hasim, Y. Y. Arifin, D. Andrianto, D. N. Faridah. 2019. Ekstrak etanol daun Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai antioksidan dan antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 8(3):86-93.
- Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens Lenne & K.Koch* Dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Ningsih, A. W., I. Hanifa, A. Hisbiyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*. 2(2).
- Nuari, R. A., A. A. Zuniarto, R. P. Maulida. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Gel Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia S*) dengan Metode DPPH dan Metode ABTS. *Jurnal Farmasi dan Sains*. 4(1).
- Nugrahani R., Y. Andayani, A. Hakim. 2016. Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 2(1):36-42.
- Putri, A.D., I. Taufiqurrahman, N. Dewi. 2019. Antioxidant Activity Of Binjai Leaves (*Mangifera caesia*) Ethanol Extracts. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 4(1): 55-59.
- Saktiawan R.A., Atmiasri. 2017. Pemanfaatan Tanaman Toga Bagi Kesehatan Keluarga Dan Masyarakat. *Jurnal Abadimas Adi Buana*. 1 (2): 57-64.
- Sayuti, Kesuma, Rina Yenrina. 2015. *Alami dan Sintetik*. Andalas University Press: Padang.
- Syahadat, A., & N. Siregar. 2020. Skrining Fitokimia Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Sebagai Pelancar Asi. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*. 5(1) : 85-89.
- Wahdaningsih, Sri, Erna Prawita Setyowati, Subagus Wahyuono. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3): 156 – 160.