



UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 50% BIJI PINANG (*Areca catechu*) DENGAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Submitted : 31 Desember 2022

Edited : 23 Mei 2023

Accepted : 29 Mei 2023

Humaryanto¹, Fathnur Sani K.², Yuliawati², Ave Olivia Rahman¹, Muhaimin³

¹Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi

²Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi

³Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran

Email: humaryanto_fkik@unja.ac.id

ABSTRAK

Biji pinang merupakan tanaman yang memiliki kandungan kimia metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan steroid. Dimana kandungan tersebut memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 50% biji pinang terhadap radikal bebas DPPH berdasarkan nilai IC_{50} . Metode ekstraksi menggunakan etanol 50% dengan metode maserasi. Pengujian aktivitas antioksidan dibuat dengan 5 seri konsentrasi yaitu 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Ekstrak diuji penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dengan panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pembanding yang digunakan adalah Vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 50% biji pinang memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai IC_{50} 27,565ppm sedangkan kontrol positif Vitamin C memiliki nilai IC_{50} 28,546 ppm. Kesimpulan yang didapat dari hasil diatas adalah ekstrak etanol 50% memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci: Antioksidan, Etanol 50%, Biji Pinang, DPPH

ABSTRACT

Areca nut is a plant that contains secondary chemical metabolites of flavonoids, alkaloids, tannins, terpenoids, and steroids. Where content has activity as an antioxidant. The aim of this study were to determine the antioxidant activity of 50% ethanol extract of areca nut against DPPH free redicals based on the IC_{50} value. Extraction method using 50% ethanol with maceration method. The antioxidant activity test was made with 5 concentration series, namely 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, and 200 ppm. The extract was tested for free radical scavenging against DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) with a wavelength of 517 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The comparator used is Vitamin C. The results showed that the 50% ethanol extract of areca nut has a very strong category of antioxidant activity with an IC_{50} value of 27,565 ppm, while a positive control of Vitamin C has an IC_{50} value of 28,546 ppm. The conclusion obtained from the above results is that 50% ethanol extract has very strong antioxidant activity.

Keyword: antioxidant, 50% Ethanol, Areca nut, DPPH



PENDAHULUAN

Biji pinang (*Areca catechu* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Penelitian-penelitian sebelumnya telah banyak membuktikan bahwa tanaman ini memiliki banyak khasiat dalam terapi berbagai macam jenis penyakit. Adapun penelitian yang pernah dilakukan adalah imunomodulator⁽¹⁾, sitotoksik⁽²⁾, antikanker⁽³⁾, antibakteri⁽⁴⁾, dan lain-lain. Tanaman ini juga menjadi salah satu komoditas utama yang sangat mudah didapatkan di provinsi jambi. Sehingga diharapkan nantinya dapat menjadi pengembangan produk berbahan dasar lokal dari provinsi jambi.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki nilai IC₅₀ sebesar 49,549 µg/mL. Penggunaan etanol 50% sebagai penarik zat aktif pada simplisia telah banyak dilakukan oleh peneliti-peneliti. Hal ini bertujuan untuk menentukan jenis variasi pelarut yang memiliki potensi aktif sebagai antioksidan sehingga dapat dikembangkan menjadi obat dengan pelarut yang mampu menarik secara optimal zat aktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan sehingga dapat dikembangkan menjadi obat tradisional yang mampu mengatasi berbagai macam penyakit. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji pinang memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid dan fenol. Dimana keduanya merupakan senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan kuat. Flavonoid dan fenolik memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatic sehingga mampu menangkap radikal bebas dengan cara mendonorkan *electron* (reduktor) sehingga produk akan menjadi lebih stabil sehingga rantai radikal bebas dapat dihambat^(5,6).

Jenis pelarut dan perbedaan konsentrasi pelarut mempengaruhi laju ekstraksi. Jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi harus memiliki tingkat kepolaran yang sejenis dengan senyawa yang diidentifikasi. Dimana pelarut etanol memiliki karakteristik polar yang dapat digunakan dalam mengidentifikasi senyawa flavonoid dan fenolik. Semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarut tersebut^(7,8).

Berdasarkan penjelasan diatas maka tim peneliti tertarik melakukan penelitian menguji potensi antioksidan dari ekstrak etanol 50% biji pinang (*Areca catechu*) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rotary Evaporator (BUCHI), pipet tetes, pipet volume, pipet mikro (1,2,5,10) mL, spektrofotometer UV-Vis (AMV11), incubator, labu ukur 5,10,50, 100 mL, beaker glass, corong, spatel, batang pengaduk.

Bahan

Biji pinang, aquadest, DPPH (Sigma-Aldrich), Vitamin C (Sigma-Aldrich), Etanol p.a. 50%, Etanol 70% (Brataco), Metanol (Merck), asam asetat glasial (Merck), aquadest, Tween 80 (Brataco), FeCl₃, serbuk Mg, Reagent Mayer, Reagent dragendof, asam sulfat.

Ekstraksi Biji Pinang

Ekstraksi biji pinang dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 50%. Serbuk simplisia sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam bejana, kemudian tambahkan pelarut dengan perbandingan 1:10 hingga serbuk terendam sempurna. Biarkan selama 2 hari

sambil sesekali diaduk. Kemudian serkai. Dan ampasnya dilakukan remaserasi kembali dengan etanol 50% biarkan selama 1 x 24 jam hingga didapatkan maserat setelah dilakukan enap tuangkan. Maserat yang didapat dipekatkan dengan bantuan rotary evaporator pada temperatur 40-50°C hingga didapatkan ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Uji kualitatif ekstrak etanol 50% biji pinang dilakukan dengan metode skrining fitokimia.

Tanin

Didihkan sedikit ekstrak yang telah ditambahkan 10 mL aquadest. Tambahkan beberapa tetes FeCl₃. Munculnya warna hijau kecoklatan atau hitam kebiruan menandakan adanya senyawa tannin.

Flavonoid

Sedikit sampel ekstrak campurkan dengan serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Munculnya warna pink, magenta atau jingga menandakan adanya senyawa flavonoid.

Alkaloid

Sedikit sampel ekstrak ditambahkan dengan HCl 1% kemudian tambahkan 1 mL pereaksi mayer. Adanya endapan atau kekeruhan menandakan adanya alkaloid

Saponin

Sedikit sampel ekstrak ditambahkan 10 mL aquadest lalu kocok selama 30 detik terbentuknya busa yang permanen menandakan adanya senyawa saponin.

Steroid

Sedikit ekstrak tambahkan asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄(Pereaksi liberman buchard). Munculnya warna biru kehijauan menandakan adanya senyawa steroid.

Terpenoid

Sedikit ekstrak tambahkan asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄(Pereaksi liberman buchard). Munculnya warna merah kecoklatan atau pink kecoklatan menandakan adanya senyawa steroid.

Pembuatan Reagen Larutan DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

Timbang DPPH sebanyak 10 mg dilarutkan dengan metanol di dalam labu ukur 10 mL, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 µg/mL. kemudian pipet 3,5 mL dan diencerkan dengan metanol sampai 100 mL sehingga diperoleh larutan DPPH sebagai radikal bebas dengan konsentrasi 35 µg/mL.

Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C sebagai Pembanding

1. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C
Timbang 100 mg Vitamin C dan dilarutkan dalam aquadest hingga tanda batas 100mL.
2. Pembuatan Larutan Vitamin C dengan Beberapa Konsentrasi 1000 µg/mL.
Larutan induk vitamin C diencerkan dengan cara dipipet sebanyak 0,5; 1; 1,5 dan 2 mL, masukkan ke dalam labu ukur 20 mL dan ditambahkan dengan aquadest hingga tanda batas. Konsentrasi yang didapat menjadi 50; 100; 150 dan 200 ppm. Ambil masing-masing konsentrasi larutan sebanyak 1 mL dan dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi yang dilalut dengan aluminium foil. Lalu ke dalam setiap tabung reaksi ditambahkan 5 mL larutan DPPH 35 µg/mL. Diamkan selama 30 menit dan ukur panjang gelombang maksimum.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 50% Biji Pinang

1. Pembuatan Larutan Induk Sampel

Larutan induk ekstrak etanol biji pinang 1000 µg/mL dibuat dengan cara menimbang 50 mg ekstrak etanol biji pinang dilarutkan dengan etanol hingga tanda batas 50 mL.

2. Pembuatan Larutan Uji Sampel dengan Beberapa Konsentrasi

Larutan induk sampel diencerkan dengan cara pipet sebanyak 0,1; 0,5; 1; 1,5 dan 2 mL, lalu masukkan kedalam labu ukur tambahkan etanol hingga 20 mL sehingga didapat masing-masing konsentrasi 10; 50; 100; 150 dan 200 ppm. Larutan uji masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan kedalam setiap tabung reaksi yang dilapisi dengan aluminium foil. Dan ditambahkan setiap tabung reaksi dengan larutan DPPH sebanyak 35 µg/mL sebanyak 5 mL. Diamkan selama 30 menit dan ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan nilai IC_{50} (Inhibition Concentration 50%) yang merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus regresi linier dengan sumbu x adalah % inhibisi dan y adalah seri replikasi pengukuran.

HASIL PENELITIAN

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk identifikasi awal dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia yang digunakan. Adapun hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 50% biji pinang mengandung

senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, fenol dan terpenoid.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak biji pinang

Uji Fitokimia	Hasil Pengamatan
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Saponin	-
Tanin	+
Steroid	+
Fenol	+
Terpenoid	+

Keterangan: + : positif mengandung senyawa; - : Negatif mengandung senyawa

Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan pada ekstrak 50% etanol biji pinang di uji menggunakan metode DPPH dengan alat spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm. Panjang gelombang diukur menggunakan kurva standar berdasarkan hukum *Lambert-beer* dimana grafik konsentrasi dengan absorbansi membentuk garis lurus. Hasil aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH⁽⁹⁾.

Nilai IC_{50} ekstrak etanol 50% ditentukan dengan menentukan hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi dengan persamaan $y = ax + b$. sumbu x adalah konsentrasi sampel (ppm) dan y adalah persentase inhibisi. Pembandingan yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C yang merupakan senyawa antioksidan kuat.

Aktivitas antioksidan dibagi menjadi lima kategori yaitu sangat kuat, kuat, sedang, lemah dan sangat lemah^(10,11). Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat dikategorikan jika memiliki rata-rata nilai IC_{50} 27,565 ppm sedangkan vitamin C dengan nilai rata-rata 28,546 ppm. Vitamin C merupakan salah satu senyawa antioksidan kuat yang digunakan sebagai pembandingan^(12,13).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Efektivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Inhibisi (%)	Regresi linier	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Etanol 50% Biji Pinang	10	0,603	42,532	$y = 12,039x + 10,072$	27,565
	50	0,536	51,292		
	100	0,521	53,263		
	150	0,326	78,887		
	200	0,330	78,405		
Vitamin C	50	0,357	67,021	$y = 23,105x - 27,437$	28,546
	100	0,324	71,365		
	150	0,207	87,012		
	200	0,110	99,823		

Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak tenaol 50% biji pinang berasal dari kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, tannin, dan fenol. Terutama senyawa-senyawa yang memiliki kandungan fenol yang memiliki kemampuan kuat untuk mengeliminasi radikal bebas melalui proses pemberian ion H sehingga dapat membuat radikal bebas yang bersifat reaktif menjadi stabil dan kerusakan akibat radikal bebas dapat di hindari ^(14,15).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 50% biji pinang (*Areca catechu*) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat terhadap senyawa radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) dengan nilai IC₅₀ adalah 27,565 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sari LM, Hakim RF, Mubarak Z, Andriyanto A. Analysis of phenolic compounds and immunomodulatory activity of areca nut extract from Aceh, Indonesia, against *Staphylococcus aureus* infection in Sprague-Dawley rats. *Vet World*. 2020;13(1). doi:10.14202/vetworld.2020.134-140
2. Al-Tayar BA, Ahmad A, Yusoff ME, et al. Cytotoxic effects of betel quid and areca nut aqueous extracts on mouse fibroblast, human mouth-ordinary-epithelium 1 and human oral squamous cell carcinoma cell lines. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2020;21(4). doi:10.31557/APJCP.2020.21.4.1005
3. Wei PL, Hung CS, Lu HH, Batzorig U, Huang CY, Chang YJ. Areca nut extract (Ane) inhibits the progression of hepatocellular carcinoma cells via activation of ros production and activation of autophagy. *Int J Med Sci*. 2021;18(15). doi:10.7150/ijms.61570
4. Pradeep B, Hemba P, Jagadeesh AK, Ramakakanavar CG, Nayak S, Vaman Rao C. Biosynthesis of copper nanoparticles from areca nut extract and its antibacterial and antioxidant properties. *Agric Nat Resour*. 2019;53(4). doi:10.34044/j.anres.2019.53.4.09
5. Arifin B, Ibrahim S. STRUKTUR, BIOAKTIVITAS DAN ANTIOKSIDAN FLAVONOID. *J Zarah*. 2018;6(1). doi:10.31629/zarah.v6i1.313
6. Susanti S, Sundari RS, Rizkuloh LR, Mardianingrum R. PENGARUH PERBEDAAN PELARUT TERHADAP KADAR FENOL TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK GADUNG (*Dioscorea hispida* Dennst.). *Biopropal Ind*. 2021;12(1). doi:10.36974/jbi.v12i1.6482
7. Wijayanti SD, Hasyati N. POTENSI EKSTRAK UMBI BAWANG DAYAK

- (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)
DALAM MENCEGAH ULCERATIVE
COLITIS PADA MENCIT YANG
DIINDUKSI DSS (DEXTRAN
SULFATE SODIUM). *J Ilmu Pangan
dan Has Pertan.* 2018;2(1).
doi:10.26877/jiphp.v2i1.2288
8. Niawanti H, Putri NP. Pemilihan Jenis
Pelarut Pada Ekstraksi Tanin Dari Daun
Averrhoa bilimbi Dengan Metode
Soxhletasi. *J Integr Proses.* 2020;9(2).
 9. Suryanita S, Aliyah A, Djabir YY,
Wahyudin E, Rahman L, Yulianty R.
IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA
DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
KULIT JERUK BALI (*Citrus maxima*
Merr.). *Maj Farm dan Farmakol.*
2019;23(1).
doi:10.20956/mff.v23i1.6461
 10. Hafiz Ramadhan, Baidah D, Lestari NP,
Yuliana KA. Aktivitas Antioksidan
Ekstrak Etanol 96% Daun, Buah dan
Kulit Terap (*Artocarpus odoratissimus*)
Menggunakan Metode Cuprac.
Farmasains J Ilm Ilmu Kefarmasian.
2020;7(1).
doi:10.22236/farmasains.v7i1.4331
 11. Fauziah A, Sudirga SK, Parwanayoni
NMS. Uji Antioksidan Ekstrak Daun
Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.).
Metamorf J Biol Sci. 2021;8(1).
doi:10.24843/metamorfosa.2021.v08.i0
1.p03
 12. Lung JKS, Destiani DP. Uji Aktivitas
Antioksidan Vitamin A, C, E dengan
Metode DPPH. *Farmaka.* 2018;15(1).
 13. Safnowandi S. Pemanfaatan Vitamin C
Alami sebagai Antioksidan pada Tubuh
Manusia. *Biocaster J Kaji Biol.*
2022;2(1).
 14. Bedlovičová Z, Strapáč I, Baláž M,
Salayová A. A brief overview on
antioxidant activity determination of
silver nanoparticles. *Molecules.*
2020;25(14).
doi:10.3390/molecules25143191
 15. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical
methods used in determining antioxidant
activity: A review. *Int J Mol Sci.*
2021;22(7). doi:10.3390/ijms22073380