

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas

Eko Prasetyo, Naelaz Zukhruf Wakhidatul Kharomah*, Titi Pudji Rahayu

Program Studi Farmasi Porgram Sarjana, Stikes Muhammadiyah Gombong, Kebumen, Jawa Tengah, Indonesia

Email: naela.zukhruf18@stikesmuhgombong.ac.id

ABSTRAK

Kulit durian merupakan bagian tanaman yang pernah diteliti sebelumnya dan mempunyai aktivitas farmakologi sebagai antioksidan. Kulit durian mengandung metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin dan alkaloid. Kulit durian diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode sokletasi. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode pengukuran penangkapan radikal bebas oleh 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dengan nilai IC_{50} 5,63 ppm dan ekstrak etanol sebesar 204,33 ppm. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit durian tidak memiliki aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

Kata Kunci: Durian, Sokletasi, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), antioksidan, IC_{50}

ABSTRACT

*Durian fruit peels (*Durion zibethinus* Murr.) have been studied previously and reported to have phramacological activity that has the potential to be antioxidant. The durian fruits peels, contained secondary metabolite, namely flavonoids, tannin and alkaloid. Durian fruit peels (*Durion zibethinus* Murr.) were extracted with ethanol 70% with soxletation method. The antioxidant activity of extracts were evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity assay. Vitamin C was used as standard with IC_{50} 5,63 ppm and the ethanol eztracts showed IC_{50} 204,33 ppm. This study provided that Durian fruit peels (*Durion zibethinus* Murr.) cannot inhibit free radical using the DPPH method.*

Keywords: Durian, Soxhletation, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil), antioxidant, IC_{50}

I. PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Penyakit kanker, stroke, jantung, dan penuaan dini disebabkan adanya radikal bebas dalam tubuh (Rahman, Malik, and Ahmad 2016). Senyawa yang dapat menangkal radikal bebas dinamakan antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi (Simanjuntak 2012). Cara kerjanya yaitu menghentikan reaksi radikal bebas dari metabolisme di dalam tubuh ataupun dari lingkungan (Meigaria, Mudianta, and Martiningsih 2016). Antioksidan berasal dari sintetik dan alam, di Indonesia yang memiliki iklim tropis terdapat berbagai macam tumbuhan salah satunya tanaman durian. Tanaman durian tersebar di seluruh provinsi dengan berbagai varietas yang berbeda. Buah durian yang dikenal sebagai *The king of fruit* memiliki khasiat yang terdapat dalam kulitnya, di berbagai wilayah tertentu kulit buah durian dimanfaatkan sebagai pengobatan alami ruam pada kulit, sembelit, dan sebagai antimikroba (Rammy Azmi Saputra, Kiki Mulkiya Y 2017). Kulit buah durian mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tannin, dan saponin (Agustina, Setyowati, and Damayanti 2014). Penelitian oleh Saputra *et al*, tahun 2017

(Rammy Azmi Saputra, Kiki Mulkiya Y 2017) memperkuat bahwa kulit buah durian memiliki senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan dengan kadar total sebesar 5,1% ekstrak diperoleh dari refluks dan 4,6% dari ekstrak soxhlet.

Senyawa flavonoid dapat menghambat enzim dalam suatu reaksi produksi anion superoksida dan menghambat kerja siklooksigenase (Anonim 2011). Berdasarkan sumber yang telah disebutkan, peneliti bermaksud meneliti hubungan antioksidan dengan aktivitas yang terkandung dalam kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) lokal dari desa Alasmalang, Kabupaten Banyumas.

II. METODE

Kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) diambil di desa Alasmalang, Kabupaten Banyumas yang kemudian di determinasi tanaman di laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

A. Ekstraksi

Sebanyak 2000 gram kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) disortasi basah untuk memisahkan sampel dari zat pengotor. Kemudian dilakukan proses perajangan untuk memudahkan proses pengeringan yang dilakukan menggunakan panas matahari tidak langsung. Sampel

yang sudah kering kemudian dipisahkan kembali dari zat pengotor yang masih ada setelah proses pengeringan berlangsung.

Simplisia kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) yang telah kering dihancurkan menggunakan *blender* sampai menjadi serbuk halus. Mengayak serbuk yang telah diblender menggunakan ayakan dengan ukuran mesh 40, serbuk yang masih kasar akan diblender kembali dan kemudian diayak hingga mendapatkan serbuk dengan tingkat kehalusan yang diinginkan. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode soxhlet. Serbuk halus ditimbang sebanyak 150 gram diekstrak menggunakan pelarut etanol sebanyak 1500 ml pada suhu 80°C sampai pelarut yang membawa komponen zat aktif berwarna bening. Hasil ekstrak cair didestilasi vakum dan dipekatkan dengan bantuan *rotary evaporator* pada suhu 70°C sampai diperoleh ekstrak kental.

B. Uji Kualitatif

Ekstrak kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan etanol, lalu ditetesi larutan FeCl₃ lalu amati, jika hasil mengandung senyawa flavonoid maka akan menunjukkan warna ungu, biru, hitam, hijau, dan merah (Setyowati and Damayanti 2014).

C. Uji kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ambil dan larutkan ekstrak kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) dengan pelarut etanol kemudian sampel ditotolkan pada plat KLT bersamaan dengan larutan kuarsetin sebagai pembanding, kemudian masukan ke dalam bejana yang di isi eluen *n-butanol:asam asetat:air* (3:1:1) yang telah dijenuhkan. Plat KLT didiamkan hingga eluen naik sampai tanda batas yang telah ditentukan, jika telah selesai plat dikering anginkan lalu disinari menggunakan lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm (Kiswandono 2011).

D. Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,007 gram kemudian dilarutkan dengan 50 mL etanol, divortex sampai larut. Selanjutnya larutan DPPH diambil 1 mL kemudian ditambahkan etanol sampai 5 mL dan diamkan selama 30 menit.

2. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH

Larutan diambil menggunakan pipet sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 5 mL larutan etanol dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap dan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

3. Pemeriksaan konsentrasi antioksidan kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*).

Larutan uji ekstrak kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*) dengan berbagai konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100ppm) didiamkan selama 30 menit kemudian dibaca panjang gelombang maksimal 517 nm, dengan larutan perbandingan vitamin C konsentrasi (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8, ppm, dan 10 ppm) dengan perlakuan yang sama.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*) yang digunakan merupakan jenis durian lokal yang terdapat pada desa Alasmalang, Kabupaten Banyumas. Pembuatan simplisia dilakukan sesuai dengan prosedur dimana pembuatan dimulai dengan sortasi basah untuk memisahkan zat pengotor dari bahan

sampel. Setelah dilakukan sortasi basah sampel dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari tidak langsung, hal ini ditujukan agar tidak merubah kandungan kimia yang terdapat pada sampel. Setelah itu sampel kemudian dihaluskan agar memudahkan proses ekstraksi. Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan semua zat yang terkandung pada simplisia menggunakan pelarut yang sesuai sehingga mendapat ekstrak kental. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode sokletasi menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol 96% digunakan karena memiliki sifat polar yang dimana senyawa flavonoid juga bersifat polar (Sakinah 2017).

Ekstraksi simplisia ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*) dengan menggunakan metode sokletasi didapat nilai randemen pada Tabel I.

Tabel I. Hasil randemen simplisia ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*)

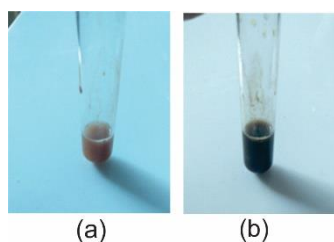
Bobot simplisia kulit buah durian	Karakteristi ekstrak		
	Berat ekstrak	Randemen	Bentuk, warna, dan aroma
125 gram	3,18 gram	2,544 %	Ekstrak kental berwarna coklat dan bau khas durian

Karakterisasi kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus L.*) perlu dilakukan identifikasi untuk menentukan adanya aktivitas antioksidan. Deteksi kandungan aktif ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus L.*) meliputi uji flavonoid. Hasil deteksi kandungan

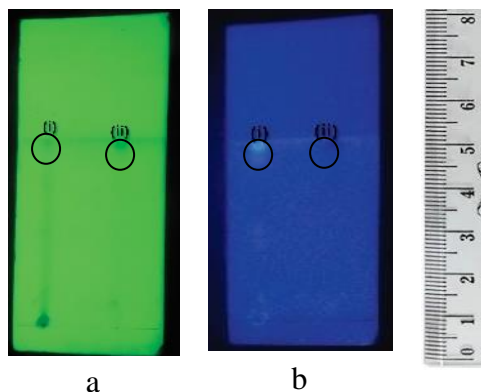
senyawa aktif kulit buah durian (*Durio zibethinus L.*) yang dilakukan terdapat senyawa flavonoid seperti pada Gambar 1.

Uji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis dilakukan dengan sinar spektrofotometri pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pengujian digunakan fase gerak *n-butanol:asam*

asetat:air (3:1:1) dan fase diam silica gel FG₂₅₄. Menurut penelitian Ulfah *et al*, tahun 2015 (Permatasari, Krismariono, and Ulfah 2018) penggunaan eluen ini cukup baik untuk menarik senyawa flavonoid. Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) yang menghasilkan nilai Rf sampel ekstrak dan larutan perbandingan kuarsetin sebesar 0,625 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Hasil uji tabung ekstrak kulit durian (*Durio zibethinnus L.*). (a) Ekstrak etanol kulit durian. (b) ekstrak yang telah direaksikan dengan FeCl₃.



Gambar 2. Hasil uji senyawa flavonoid uji KLT ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*) pada panjang gelombang 254 nm (a) dan 366 nm (b). (i) ekstrak etanol kulit buah durian dan (ii) kuarsetin.

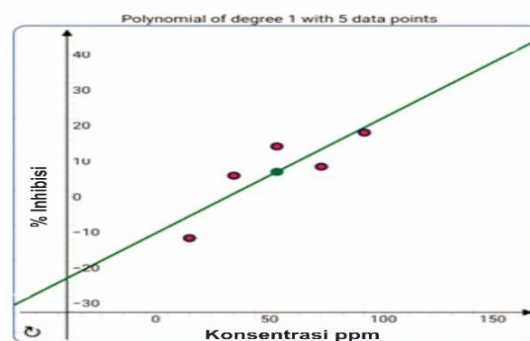
Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara kuantitatif menggunakan

metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Panjang gelombang diukur untuk membuat kurva standar yang didasari oleh hukum "Lambert-beer" dimana grafik konsentrasi dengan absorbansi membentuk garis lurus (Anonim 2019). Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas antioksidan secara cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya yang mahal. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan kemampuannya menangkal radikal bebas.

Larutan ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*) dibaca panjang gelombang 517.0 nm. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit durian dinyatakan dalam persentase inhibisi ekstrak terhadap radikal bebas DPPH. Perbedaan serapan antara absorban DPPH dengan absorban sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis merupakan cara untuk mendapatkan persen inhibisi ekstrak etanol kulit durian. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH.

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit durian dapat dilihat pada Tabel II menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ sebesar 204,33 ppm. Pada Tabel II menunjukkan bahwa ekstrak kulit durian

menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode sokletasi tidak mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil persamaan regresi linier dapat dilihat pada Gambar 3 menunjukkan bahwa persamaan regresi antara % inhibisi dengan konsentrasi ekstrak dan diperoleh persamaan kurva baku $f(x) = bx+a$ dimana $f(x) = 0,3113x - 13,608$; $R^2 = 0,736$.



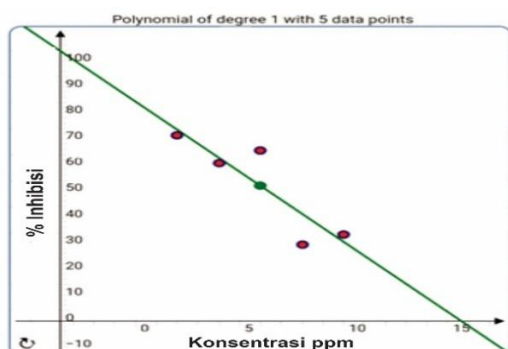
Gambar 3. Regresi linier uji antioksidan ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*)

Tabel II. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah durian (*Durio zibethinnus L.*)

Konsentrasi (ppm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata	% inhibisi	Nilai IC ₅₀
20	0,668	0,668	0,667	0,668	-13,60	
40	0,567	0,563	0,564	0,565	03,91	
60	0,518	0,515	0,515	0,516	12,24	204,33 ppm
80	0,555	0,550	0,543	0,549	06,63	
100	0,492	0,493	0,494	0,493	16,17	
Blanko DPPH	0,589	0,589	0,588	0,588	0,0	-

Keterangan: Abs = absorbansi

Hasil uji antioksidan vitamin C menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 5,63 ppm seperti pada tabel III dengan persamaan regresi linier rumus $f(x) = 80,341 - 5,391x$, $R^2 = 0,773$ seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Regresi linier uji antioksidan larutan pembanding vitamin C

Tabel III. Hasil uji aktivitas larutan pembanding vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata - rata	% inhibisi	Nilai IC ₅₀
2 ppm	0,192	67,35	
4 ppm	0,255	56,63	
6 ppm	0,226	61,56	5,63 ppm
8 ppm	0,439	25,34	
10 ppm	0,417	29,08	
Blanko DPPH	0,587	0,0	

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit durian apabila dibandingkan dengan larutan pembanding yaitu vitamin C menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit durian mempunyai aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pembanding.

Penelitian-penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Setyowati *et al* (2014) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang terdapat pada ekstrak metanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 54,32 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut yang berbeda akan mempengaruhi hasil uji aktivitas antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif terhadap ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) memiliki hubungan dengan adanya suatu senyawa flavonoid sebagai metabolit sekunder sehingga dibutuhkan pelarut yang tepat untuk menarik senyawa aktif pada kulit durian.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinnus* L.) metode sokletasi tidak memiliki aktivitas antioksidan terhadap senyawa radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan nilai 204,33 ppm .

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sangat berterimakasih kepada Allah SWT yang telah memberikan karunianya dalam mengerjakan penelitian ini dan tak lupa kepada orang tua, yang telah senantiasa memberi dukungan dan masukan sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan baik

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Widiastuti, Eko Setyowati, and Dhika Rizqi Damayanti. 2014. "Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus* Murr) Varietas Petruk."
- Anonim. 2011. "Tinjauan Pustaka Deskripsi Dan Klasifikasi Api-Api (Avicennia Marina (Forks.)Vierh.)." : 3–17.
- . 2019. "Spektrofotometri." *Journal of Chemical Information and Modeling* 53(9): 1689–99.
- Harlan, Johan. 2018. 53 *Journal of Chemical Information and Modeling Analisis Regresi Linear*.
- Kiswando, Agung Abadi. 2011. "Perbandingan Dua Ekstraksi Yang Berbeda Pada Daun Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Senyawa Bioaktif Yang Dihasilkan." *Sains Natural: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Biologi dan Kimia* 1(1): 45–51.
- Meigaria, Komang Mirah, I Wayan Mudianta, and Ni Wayan Martiningsih. 2016. "Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa Oleifera*)." *Jurnal Wahana Matematika dan Sains* 10(2): 1–11.
- Permatasari, Ryza Indah, Agung Krismariono, and Noer Ulfah. 2018. "Daya Hambat Ekstrak Kulit Durian (*Durio Zibethinus* Murray) Terhadap Plak Supraringiva Inhibition Activity of *Durio Zibethinus* Murray Rind Extract On Bacterial Plaque Daya Hambat Ekstrak Kulit Durian (*Durio Zibethinus* Murray) Terhadap Plak Supraringiva." (July 2015).
- Pratama, Mamat, Muzakkir Baits, and Rizky Nurul Yaqin. 2016. "Uji AKtivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tomat Buah (*Lycopersicon Esculentum* Mill, Var. *Pyriforme* Alef) Dan Daun Tomat Sayur (*Lycopersicon Esculentum* Mill, Var.

- Commune Bailey) Dengan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil).” *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2(1): 76–82.
- Rahayu, Siti, Nunung Kurniasih, and Vina Amalia. 2015. “Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami.” *al-Kimiya* 2(1): 1–8.
- Rahman, Arif, Abd Malik, and Aktsar Roskiana Ahmad. 2016. “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Buni (*Antidesma Bunius* (L.) Spreng).” *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 3(2): 159–63.
- Rammy Azmi Saputra, Kiki Mulkiya Y, Undang A. Dasuki. 2017. “Pengaruh Metode Ekstraksi Refluks Dan Ekstraksi Sinambung Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Total Fenol Dan Flavonoid Dari Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus Murray*).” : 85–93.
- Sakinah, Fajriyatus. 2017. “Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma Longa L.*) Dan Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile B.*) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya.” : 1–92. <http://etheses.uin-malang.ac.id/10843/1/13630113.pdf>.
- Setyowati, Widiastuti Agustina Eko, and Dhika Rizqi Damayanti. 2014. “Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus Murr*) Varietas Petruk.”
- Simanjuntak, Kristina. 2012. “Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan.” *FK UPN Veteran Jakarta* 3.