

**AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS  $\beta$ -KAROTEN PADA EKSTRAK  
UBI JALAR (*Ipomoea batatas* Lamk.) DENGAN METODE DPPH  
(1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL) *IN VITRO***

**A.A. Hesti Wulan S, Fitri Haryanti, Nanik Wijayanti  
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi” Semarang**

**ABSTRACT**

Sweet potato, especially orange sweet potato, contains  $\beta$ -carotene. The content of  $\beta$ -carotene in orange sweet potato is 86,46 mg/100 mg, which is more than that in the white, purple and yellow sweet potato.  $\beta$ -carotene has the potency as a free antiradical and anticancer. Free antiradical are compounds which have the ability to inhibit oxidation reaction and prevent free radical, so that they can protect human body from degenerative diseases like cancer, coronary heart, and diabetes mellitus. The activity of free antiradical test was conducted by DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) methods at the wave length of 516 nm. The sample of  $\beta$ -carotene extract which had been thickened, was diluted in 10.0 ml methanol. The test of free antiradical was done by adding the volume of sample 0.2 ml; 1.0 ml; 2.0 ml; 3.0 ml and 3.8 ml into DPPH solution. As comparasion, vitamin E was prepared by dissolving 0.5 g substance in 25.0 ml methanol. Then, series of concentration 0.01%; 0.02%; 0.04%; 0.06% and 0.08% was made. The activity was measured in the percentage of muting free radical DPPH in thirty minutes. The data of the determination result of  $\beta$ -carotene free antiradical was evaluated its value of EC<sub>20</sub> and compared to the value of EC<sub>20</sub> in vitamin E. Based on the result, the research shows that the value of EC<sub>20</sub>  $\beta$ -carotene in sweet potato extract is 402.4343  $\mu$ g/ml, while that in vitamin E is 2.6299  $\mu$ g/ml. Therefore, it can be concluded that  $\beta$ -carotene in sweet potato extract has lower activity of free antiradical than in vitamin E.

**Key words :** Free antiradical ,  $\beta$ -carotene, *Ipomoea batatas* Lamk., DPPH

## **Pendahuluan**

Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, senyawa ini tidak stabil dan sangat reaktif. Beberapa kiat dapat digunakan dalam mencegah pembentukan radikal bebas dalam tubuh, dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan, diharapkan tubuh akan terhindar dari terbentuknya radikal bebas (Hernani dan Rahardjo, 2005 : 3).

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006:16). Fungsi antioksidan adalah menetralkan radikal bebas, sehingga tubuh terlindung dari berbagai macam penyakit degeneratif dan kanker (Tapan, 2005 : 103). Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, yaitu tokoferol, vitamin C, karoten, flavonoid dan senyawa fenolik (Kumlaningsih, 2006:16). Pada umumnya karotenoid merupakan antioksidan yang serbaguna, misalnya saja  $\beta$ -karoten (sering disebut juga dengan pro-vitamin A)(Tapan, 2005 : 106). Wortel, ubi jalar, dan waluh kaya akan karoten (Winarno, 2002 : 121). Pada umumnya umbi-umbian sedikit mengandung karotenoid, kecuali ubi jalar dan wortel (Kumalaningsih, 2005 : 53).

Ubi jalar selain mengandung karbohidrat juga mengandung zat gizi antara lain protein, serat kasar, pati, vitamin A dan C,  $\beta$ -karoten dan gula (Hernani dan Raharjo, 2005 : 70). Pada penelitian yang dilakukan Listiani, 2006 disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar  $\beta$ -karoten antara ubi jalar orange, kuning dan ungu yaitu  $\beta$ -karoten dalam ubi jalar orange adalah 86,46 mg/100g, ubi jalar kuning 27,68 mg/100 g dan ubi jalar ungu 2,27 mg/100 g.

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan di depan, akan dilakukan uji aktivitas antiradikal bebas  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar *in vitro* dengan menggunakan metode DPPH. Penentuan aktivitas antiradikal bebas dengan menggunakan metode ini cukup valid dan dapat dikatakan lebih akurat dengan menggunakan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Aktivitas antiradikal bebas  $\beta$ -karoten dinyatakan melalui penentuan nilai EC<sub>50</sub>.

## **Metodologi**

### **Obyek dan Variabel Penelitian**

Pada penelitian ini sebagai obyek penelitian adalah  $\beta$ -karoten pada ubi jalar (*Ipomoea batatas* Lamk). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar (penambahan volume 0,2 ml; 1,0 ml; 2,0ml; 3,0ml; 3,8ml) dan konsentrasi vitamin E (0,01%; 0,02%; 0,04%; 0,06% dan 0,08%). Variabel terikat adalah intensitas serapan  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar orange dan vitamin E sebagai aktivitas peredaman radikal bebas DPPH yang kemudian dihitung dengan  $EC_{20}$ .

### **Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah :Ubi jalar orange, vitamin E,  $MgCO_3$ , aseton, *n*-heksan, aquadest, kapas dan kertas saring,  $Na_2SO_4$  anhidrat,  $Ca(OH)_2$ , DPPH 0,1 mM (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dari Sigma.

### **Alat**

Erlenmeyer, *magnetic stirer*, corong Buchner, corong pisah, neraca analitik, kolom kromatografi, Spektrofotometer UV-Vis, vortex, mikropipet, pipet volume, pipet ukur, labu takar, filler.

## **Cara Kerja**

### **Ekstraksi dan Pemisahan $\beta$ -karoten dalam Ubi jalar**

Ubi jalar yang berwarna orange dikupas, dihaluskan, ditimbang seksama 5 g dan dimasukkan dalam erlenmeyer. Ditambah 40 ml aseton, 60 ml *n*-heksana, 0,1 g  $MgCO_3$ , diaduk dengan *magnetic stirer* dengan kecepatan 1100 rpm selama 5 menit. Disaring, filtrat ditampung dalam erlenmeyer. Residu yang tertinggal dicuci dengan 25 ml aseton diikuti 25 ml *n*-heksana, dilakukan sebanyak 2 kali, filtrat ditampung dalam erlenmeyer penampung. Filtrat kemudian dicuci 5 kali dengan aquadest masing-masing sebanyak 20 ml. Lapisan atas (ekstrak karotenoid) ditampung dan ditambahkan  $Na_2SO_4$  anhidrat dan dilakukan pemisahan  $\beta$ -karoten dengan kromatografi kolom adsorpsi.

### **Pengujian peredaman radikal bebas DPPH 0,1 mM.**

Sebanyak 4,0 ml DPPH 0,1mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,05 ml vitamin E dengan kadar tertentu (0,01%; 0,02%; 0,04%;0,06% dan 0,08%), divortex 1 menit, didiamkan 30 menit dalam tabung gelap. Sedangkan pada sampel  $\beta$ -karoten pengujian aktivitas antiradikal bebas dilakukan dengan melarutkan ekstrak kering ke dalam 10,0 ml metanol, aktivitas peredaman dilakukan dengan penambahan volume dari ekstrak untuk tiap-tiap replikasi yaitu 0,2 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml dan 3,8 ml. Dari penambahan volume ekstrak didapatkan kadar ekstrak untuk masing-masing penambahan volume. Kemudian dihitung % peredaman  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar dan vitamin E dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{absorbansi DPPH awal} - \text{absorbansi DPPH akhir}}{\text{absorbansi DPPH awal}} \times 100\%$$

(Robeiro *et al*, 2005)

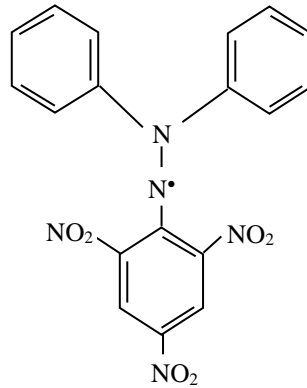
### **Analisis Data**

Data hasil penentuan aktivitas antiradikal bebas  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar dengan metode DPPH akan dihitung nilai  $EC_{50}$  dan  $EC_{20}$ . Nilai  $EC_{20}$   $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar orange dan  $EC_{20}$  vitamin E diuji dengan menggunakan uji T (*T-test*).

### **Hasil dan Pembahasan**

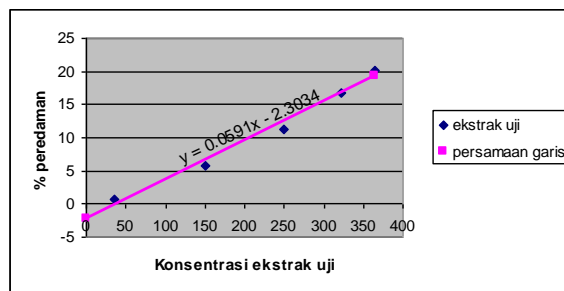
Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar dengan menggunakan metode DPPH yaitu menggunakan radikal bebas hidrazil DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) secara spektrofotometri UV-Vis. Pengujian dengan metode ini lebih sering digunakan karena pengujiannya lebih sederhana dan membutuhkan waktu yang relatif cepat. Pemeriksaan aktivitas antiradikal bebas  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar diukur pada  $\lambda$  516 nm, sedangkan pada vitamin E diukur pada  $\lambda$  518 nm. Adanya aktivitas antiradikal bebas ditunjukkan dengan adanya penurunan absorbansi larutan uji bila dibandingkan dengan larutan kontrol atau blangko DPPH. Pada

rentang konsentrasi percobaan peningkatan aktivitas antiradikal bebas sebanding dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maupun vitamin E.

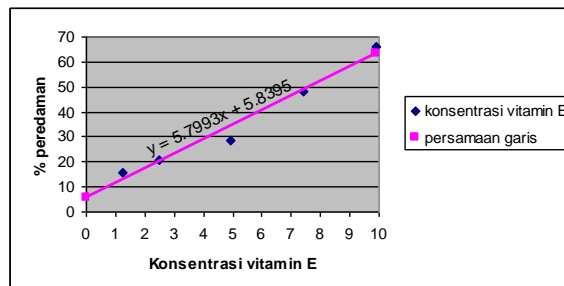


Gambar 1. Struktur kimia DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Pryor, 1966 : 27)

Grafik hubungan antara konsentrasi larutan uji ekstrak  $\beta$ -karoten dan vitamin E dengan aktivitas peredaman radikal DPPH yang disajikan pada gambar 1 dan 2. Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi ekstrak maupun pembanding vitamin E aktivitas peredaman semakin besar.



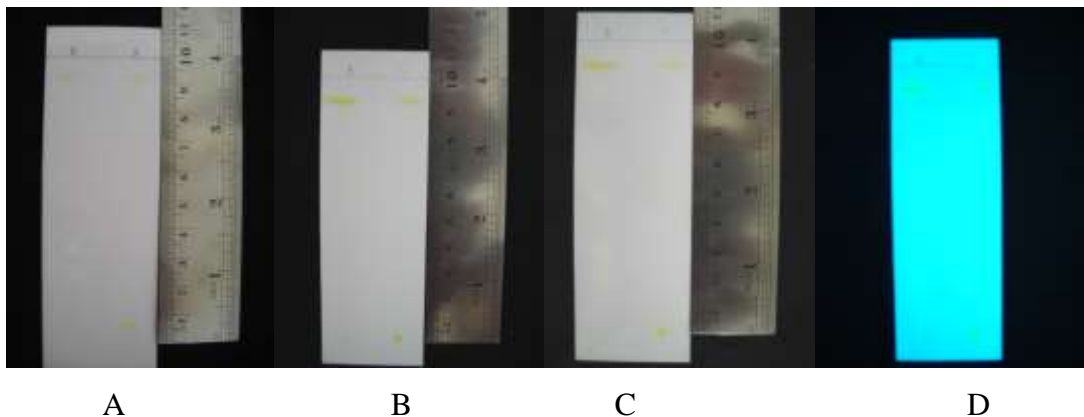
Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan aktivitas peredaman radikal DPPH



Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi vitamin E dengan aktivitas peredaman radikal DPPH

Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul difenil pikrilhidrazil (DPPH) dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen bahan uji sehingga terbentuk senyawa difenil pikrilhidrazin yang berwarna kuning. Struktur  $\beta$ -karoten yang dapat dimungkinkan berperan sebagai antioksidan adalah ikatan rangkap pada pusat simetri tetraterpena yang lebih bermuatan positif, sehingga dapat bereaksi dengan radikal  $N^{\cdot}$  pada DPPH. Vitamin E digunakan sebagai pembanding aktivitas antiradikal bebas karena merupakan antioksidan yang potensial dan banyak dikonsumsi. Vitamin E berfungsi sebagai antiradikal bebas dengan cara memberikan hidrogen dari gugus hidroksil (OH) pada struktur cincin ke radikal bebas.

Pada ekstrak  $\beta$ -karoten tidak dapat mencapai  $EC_{50}$  dikarenakan kandungan  $\beta$ -karoten yang sedikit, dari data penelitian didapat hasil  $EC_{50}$  sebesar 947,3963  $\mu\text{g/ml}$ , padahal konsentrasi yang dapat memenuhi rentang adsorban paling tinggi hanya mampu mencapai konsentrasi 477.,4359  $\mu\text{g/ml}$ . Berikut hasil KLT ekstrak ubi jalar kuning :



Keterangan ;

- A : Hasil peredaman dari  $\beta$ -karoten fase metanol
- B : Hasil KLT
- C : Hasil peredaman dari  $\beta$ -karoten fase aseton : *n*-heksan
- D : Hasil peredaman pada UV 254

Untuk menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara  $\beta$ -karoten pada ekstrak ubi jalar dengan vitamin E, uji ini dilakukan dengan menggunakan harga  $EC_{20}$ , karena pada ekstrak  $\beta$ -karoten tidak dapat mencapai  $EC_{50}$ , dan aktivitas

minimal yang dapat dicapai oleh ekstrak adalah 20% yang dibandingkan dengan harga EC<sub>20</sub> pada vitamin E.

Berikut data reaksi warna yang terjadi pada reaksi antara ekstrak ubi jalar dengan DPPH, maupun vitamin E terhadap DPPH.

Tabel 1. Hasil reaksi warna peredaman DPPH oleh ekstrak ubi jalar

No.	Penambahan volume	Warna
1.	DPPH 0,1 mM	Ungu
2.	DPPH 0,1 mM + 0,2 ml ekstrak	Merah ungu
3.	DPPH 0,1 mM + 1,0 ml ekstrak	Orange
4.	DPPH 0,1 mM + 2,0 ml ekstrak	Kuning orange
5.	DPPH 0,1 mM + 3,0 ml ekstrak	Kuning coklat
6.	DPPH 0,1 mM + 4,0 ml ekstrak	Kuning

Tabel 2. Hasil reaksi warna peredaman DPPH oleh vitamin E

No.	Larutan	Warna
1.	DPPH 0,1 mM	Ungu
2.	Vit E 0,01%	Ungu muda
3.	Vit.E 0,02%	Merah ungu
4.	Vit E 0,04%	Orange
5.	Vit E 0,06%	Kuning orange
6.	Vit E 0,08%	Kuning

Nilai EC<sub>20</sub> pada ekstrak ubi jalar kuning dan vitamin E adalah sebagai berikut :

Tabel 3. Nilai EC<sub>20</sub> β-karoten pada ekstrak ubi jalar dan vitamin E

No.	Replikasi	EC <sub>20</sub> β-karoten pada ekstrak ubi jalar	EC <sub>20</sub> vitamin E
1.	1	396,7707 µg/ml	2,6835 µg/ml
2.	2	401,9955 µg/ml	2,4418 µg/ml
3.	3	430,9320 µg/ml	2,9909 µg/ml
4.	4	424,7271 µg/ml	2,5529 µg/ml
5.	5	377,7461 µg/ml	2,5529 µg/ml
	<b>EC<sub>20</sub> rata-rata</b>	<b>402,4343 µg/ml</b>	<b>2,6299 µg/ml</b>

## **Simpulan**

Ekstrak  $\beta$ -karoten ubi jalar mempunyai aktivitas antiradikal bebas terhadap DPPH dengan nilai  $EC_{20} = 402,4343 \mu\text{g/ml}$  dan vitamin E dengan nilai  $EC_{20} = 2,6299 \mu\text{g/ml}$ .

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Hernani dan Rahardjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Kumalaningsih, Sri. 2006. *Antioksidan Alami*. Surabaya : Trubus Agrisarana
- Listiani, Dwi. 2002. Perbedaan Kadar  $\beta$ -karoten pada Ubi jalar kuning, orange dan ungu dengan Metode Spektrofotometri UV-vis. *Skripsi*. STIFAR “Yayasan Pharmasi” Semarang
- Pryor, William A. 1966. *Free Radicals*. New York : MC Grow-Hill Book Company
- Tapan, Erik. 2005. *Kanker, Antioksidan dan Terapi Komplementer*. Jakarta : Alex Media Kompetindo
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama