

MASERASI DAN UJI AKTIVITAS IC₅₀ ANTIOKSIDAN BUAH PINANG (*Areca catechu*) SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Zahara Sartika Dewi¹⁾, Zulkifli Zam Zam¹⁾, Khusna Arif Rakhman^{1,2)}

¹⁾ Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Khairun

²⁾ Laboratorium Lingkungan Universitas Khairun

E-mail: *khusna.arif.rakhman@gmail.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi maserasi optimal dan menguji aktivitas IC₅₀ antioksidan buah pinang secara spektrofotometri UV-Vis. Prosedur dimulai dengan menyiapkan sampel pinang dengan tiga keadaan, kering, basah dan cair. Penentuan keadaan maserasi optimal dimulai dengan melakukan variasi pelarut dengan menggunakan pelarut akuades, metanol dan etanol, variasi waktu dengan waktu perendaman 10 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 240 menit, dan 600 menit, serta penentuan nilai IC₅₀ antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan pelarut dan keadaan yang optimal adalah akuades dan sampel kering dengan konsentrasi 95.772 ppm. Waktu optimal pada 240 menit dengan konsentrasi 2.93 ppm. Aktifitas antioksidan buah pinang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 9.063µg/mL.

Kata kunci: *Antioksidan, Buah pinang, Spektrofotometri UV-Vis.*

MASERATION AND IC₅₀ ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTING OF ARECA NUT By UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Zahara Sartika Dewi, Zulkifli Zam Zam¹⁾, Khusna Arif Rakhman^{1,2)}

Departemen of Chemistry Education FKIP Universitas Khairun

²⁾ Environment Laboratory Of Universitas Khairun

Email: *khusna.arif.rakhman@gmail.com*

ABSTRACT

The aimed of this research is to know the optimum state of maseration and examine the IC₅₀ activity antioxidants of Areca nut by UV-Vis spectrophotometry. The procedure was begun by preparing nut samples within three states as follows: dry, wet and liquid. Optimal maceration state determination begun with varying solvents such as aquades, methanol and ethanol. The variation of the immersion time rules in 10 minutes, 30 minutes, 60 minutes, 120 minutes, 240 minutes and 600 minutes, as well as the determination of IC₅₀ values of antioxidant. The results showed that the combination of an aquades solvent and dry samples in 95.772 ppm concentration reached the optimum state. Meanwhile the optimal time gained in 240 minutes with a concentration of 2.93 ppm. Antioxidant activity of areca nut was very strong with IC₅₀ value of 9.063µg/mL.

Keywords: *Antioxidants, Areca nut, UV-Vis spectrophotometry.*

PENDAHULUAN

Radikal bebas yang bersumber dari luar tubuh adalah asap rokok, asap kendaraan dan paparan sinar matahari (Umayah dan Amrun, 2007). Atom atau molekul yang mempunyai

elektron tak berpasangan sifatnya tidak stabil dan disebut sebagai radikal bebas (Arista, 2013). Salah satu kelas utama dari jenis radikal bebas yang dihasilkan dalam tubuh yaitu oksigen (Valko *et al*, 2006).

Antioksidan mampu mengikat radikal bebas sebelum terjadi kerusakan dalam tubuh (Chatterjee *et al.*, 2007). Pada keadaan normal, ada keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Keseimbangan ini penting untuk kesehatan makhluk hidup (Valko *et al.*, 2006). Hal ini menjadi penting karena ketika jumlah radikal bebas tidak seimbang dengan jumlah antioksidan dalam tubuh, maka akan terbentuk stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan pada struktur sel, jaringan dan organ (Inggrid dan Santoso, 2014).

Manusia membutuhkan antioksidan eksogen jika terjadi paparan radikal bebas, karena tubuh manusia tidak memiliki sistem pertahanan berlebih (Ikhlis, 2013). Sumber antioksidan eksogen dapat berupa makanan atau suplemen (Arista, 2013). Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat membantu meningkatkan sistem imun dalam tubuh sehingga menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan yang terjadi karena adanya radikal bebas. Maka dari itu, asupan antioksidan yang optimal sangat penting untuk semua kelompok umur (Winarsi, 2007:20). Jenis antioksidan yang dapat diperoleh dari asupan makanan seperti vitamin, flavonoid, dan lain-lain termasuk ke dalam kelompok antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder atau non-enzimatis berfungsi untuk menangkap senyawa oksidan dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Winarsi, 2007:21). Salah satu buah yang mengandung senyawa antioksidan non-enzimatis adalah buah pinang. Buah pinang (*Areca catechu* L.) dapat digunakan sebagai salah satu sumber antioksidan dan anti inflamasi (Peng *et al.*, 2015).

Pinang (*Areca catechu* L.) biasa digunakan sebagai resep utama beberapa resep obat herbal untuk mengobati penyakit diare, edema, parasit, dan lain-lain. Penelitian modern menunjukkan bahwa pinang memiliki berbagai aktivitas farmakologi dan mengandung lebih dari 59 senyawa kimia

termasuk alkaloid, flavonoid, triterpen dan steroid (Peng *et al.*, 2015). Hasil penelitian dari Inggrid dan Santoso (2014) menunjukkan bahwa senyawa antioksidan seperti fenolik dan flavonoid pada beberapa ekstrak tanaman lebih efektif dan aman untuk dikonsumsi dibandingkan dengan antioksidan sintesis seperti *butylated hydroxytoluene* (Inggrid dan Santoso, 2014). Beberapa senyawa kimia yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas memiliki efek samping (Zou *et al.*, 2016).

Buah pinang sebagai obat herbal di Indonesia perlu dijaga mutu dan keamanan yang berupa simplisia maupun ekstrak. Faktor yang dapat mempengaruhi mutu dari tanaman obat salah satunya adalah pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi (Rivai, dkk., 2013). Efek senyawa bahan aktif yang diperoleh dari suatu proses ekstraksi sangat tergantung pada sifat tanaman yang diekstraksi, asal, derajat pemrosesan, kadar air dan ukuran partikel bagian tanaman yang diekstraksi, sedangkan kualitas ekstrak bahan aktif dari tanaman sangat tergantung pada bagian tanaman yang diekstraksi, pelarut dan teknik ekstraksi yang digunakan (Kumoro, 2015).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, seperangkat alat gelas, dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1800. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquades, etanol, metanol p.a, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), dan buah pinang.

Prosedur Kerja Preparasi sampel

Sampel berupa buah pinang segar yang dikupas dan dipotong kecil-kecil, kemudian jumlahnya dibagi 3 untuk disiapkan dalam 3 keadaan yaitu kering, basah dan cair.

Validasi Analisis dan Penentuan Keadaan Optimal

Sebelum dilakukan uji aktivitas antioksidan perlu dilakukan validasi metode dan penentuan keadaan optimal. Validasi metode dilakukan untuk menentukan panjang gelombang maksimum, kurva kalibrasi dan linearitas. Penentuan panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur spektrum serapan larutan DPPH konsentrasi 5ppm-25ppm pada panjang gelombang 190-1100nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan menggunakan larutan DPPH pada konsentrasi 0.1ppm-100ppm diukur pada panjang gelombang maksimum. Linearitas ditentukan dari kurva kalibrasi dan dilakukan analisis regresi linear.

Keadaan optimal didapat dengan melakukan variasi pelarut dan variasi waktu. Variasi pelarut dilakukan dengan merendam pinang ke dalam 3 pelarut berbeda selama 24 jam, pinang cair dilakukan variasi pelarut dengan mencampurkan sampel dengan pelarut menggunakan labu ukur dan biarkan selama 30 menit, kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Variasi waktu dilakukan dengan merendam sampel dalam akuades selama 10 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 240 menit, dan 600 menit lalu larutan dipipet 1mL dan dicampur dengan metanol sebelum dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Pengujian Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencampurkan larutan DPPH 50ppm dengan sari pinang dan diamkan selama 30 menit di ruang gelap kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Sampel

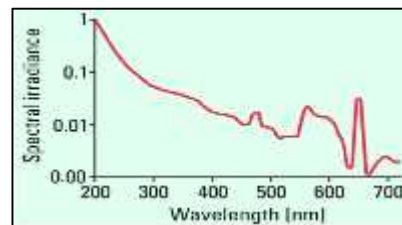
Sampel berupa buah pinang segar yang dikupas dan dipotong kecil-kecil, kemudian jumlahnya dibagi 3 untuk disiapkan dalam 3 keadaan berbeda. Bagian pertama digunakan sebagai sampel basah (segar). Bagian kedua

dikeringkan dengan oven selama 3-4 jam pada suhu 60⁰C dan digunakan sebagai sampel kering.

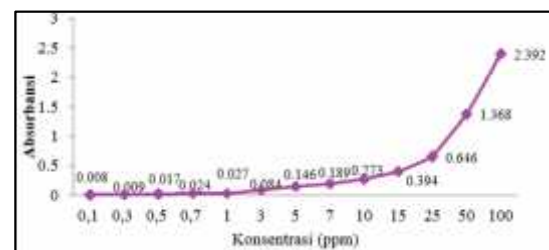
Bagian ketiga dihaluskan dan disaring dengan kain tipis untuk mendapatkan sari pinang berwarna jingga kemerahan.

B. Validasi Analisis dan Penentuan Keadaan Optimal

Validasi analisis dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum, kurva kalibrasi dan linearitas. Pada penentuan panjang gelombang maksimum, hasil yang diperoleh yaitu absorbansi atau serapan maksimum pada 3 panjang gelombang yaitu 515nm, 327nm dan 202nm. Panjang gelombang maksimum yang digunakan selanjutnya adalah 515nm. Panjang gelombang 327 muncul karena spektrum dari sumber radiasi yang digunakan pada instrumen yaitu, denterium. Sedangkan puncak 202 nm muncul akibat perpindahan sumber radiasi lampu 1 ke lampu 2. Intensitas spektrum sumber cahaya ditunjukkan pada gambar 1.



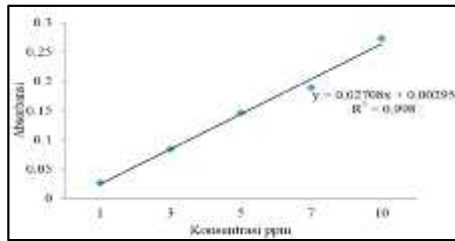
Gambar 1. Intensitas spektrum sumber cahaya denterium (Owen, 2000:31)



Gambar 2. Kurva kalibrasi DPPH

Berdasarkan gambar diatas, hubungan antara konsentrasi dan absorbansi terlihat berbanding lurus. Semakin meningkat konsentrasi, semakin tinggi nilai absorbansi

sesuai dengan hukum Lambert-Beer (Mohrig *et al*, 2010: 428 & Behera *et al*, 2012).

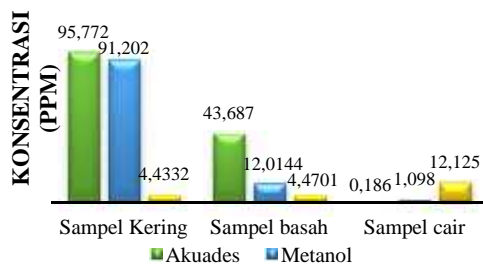


Gambar 3. Kurva regresi linear

Berdasarkan gambar 3, persamaan garis regresi yang didapat adalah $y = 0.02708x + 0.00295$ dengan koefisien korelasi sebesar 0.998 sesuai dengan kriteria untuk koefisien korelasi menurut Chowet *al* (2004) yaitu 0,99 (Chowet *al*, 2004:16).

1. Variasi Pelarut

Penentuan kadar antioksidan pada buah pinang perlu dilakukan dalam kondisi optimal, maka dilakukan variasi pelarut dengan menggunakan 3 pelarut polar yaitu, akuades, metanol dan etanol terhadap buah pinang dalam 3 kondisi yaitu kering, basah dan cair. Berikut hasil dari variasi pelarut yang dilakukan.

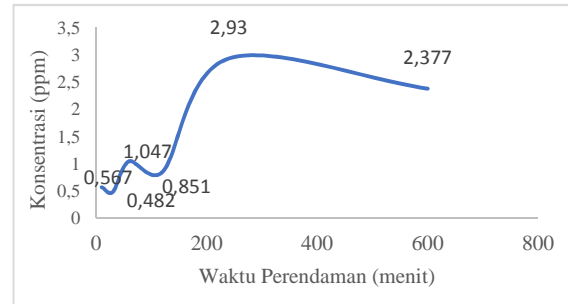


Gambar 4. Data hasil variasi pelarut

Berdasarkan data hasil pada gambar 4, pelarut dan keadaan yang optimal adalah akuades pada saat kondisi sampel kering. Menurut penelitian sebelumnya oleh Peng *et al* (2015), uji aktifitas antioksidan dari ekstrak air buah pinang mentah sangat kuat dibandingkan dengan ekstrak buah pinang dengan pelarut lain (Peng *et al*, 2015).

2. Variasi Waktu

Variasi waktu dilakukan dengan menggunakan sampel basah yang direndam dalam pelarut akuades selama 10 menit, 30 menit, 60 menit, 120 menit, 240 menit dan 600 menit. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada kurva berikut.



Gambar 5. Kurva hasil variasi waktu

Gambar 5 menunjukkan konsentrasi tertinggi didapat dari perendaman selama 240 menit atau 4 jam menggunakan pelarut akuades terhadap buah pinang. Penurunan perolehan konsentrasi ini mungkin juga disebabkan karena kesetimbangan difusi senyawa pada sampel pinang ke dalam pelarut sudah tercapai dalam waktu 4 jam dan penambahan waktu ekstraksi juga mungkin menyebabkan senyawa-senyawa tersebut mengalami degradasi atau dekomposisi.

C. Aktivitas Antioksidan

1. Penentuan Nilai Probit

Penentuan nilai probit dilakukan dengan menghitung % pengikatan dari absorbansi sampel. Absorbansi yang didapat dari pengukuran sampel pada spektrofotometer UV-Vis, yaitu 0.267 dan 0.271 kemudian digunakan untuk menentukan nilai persentase pengikatan. % Pengikatan dihitung dengan menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Pengikatan} = \frac{(\text{Serapan blanko} - \text{serapan sampel})}{\text{Serapan blanko}} \times 100\%$$

Nilai % pengikatan yang didapat kemudian dikonversi ke nilai probit dengan menggunakan rumus berikut.

Nilai Probit = (Nilai % penghambatan – Nilai % penghambatan terendah) x (probit tertinggi – probit terendah) + probit terendah

Tabel 1. Data hasil nilai probit

| Kontrol | Absorbansi | | % Pengikatan | Probit |
|---------|------------|--|--------------|--------|
| | Sampel | | | |
| 0.719 | 0.267 | | 62.86 | 5.327 |
| | 0.271 | | 62.31 | 5.316 |

2. Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi suatu larutan uji (sampel) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Persamaan linear yang didapat dari log konsentrasi dan nilai probit yaitu $y=7.204x - 1.896$. Nilai x yang dihasilkan dari persamaan tersebut kemudian dihitung nilai IC₅₀ dengan rumus berikut.

$$IC_{50} = \text{arc log } (x)$$

Nilai IC₅₀ yang dihasilkan adalah 9.063 µg/mL. Menurut Molyneux (2004) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, aktivitas kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm, aktivitas sedang apabila nilai IC₅₀ antara 100-150 ppm dan lemah bila nilai IC₅₀ antara 150-200 ppm (I. W. Suarsa dkk, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak buah pinang memiliki aktivitas yang kuat dalam meredam radikal bebas.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pelarut yang optimal untuk sampel pinang kering dan basah adalah akuades, sedangkan pelarut yang optimal untuk sampel pinang cair adalah etanol.
2. Waktu perendaman yang optimal terhadap pinang yaitu 240 menit atau 4 jam.
3. Aktivitas antioksidan yang diperoleh sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 9.063 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Arista, Mega. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus andyganus* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, vol (2).
- Behera, et al. 2012. UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation. *Jurnal Analytical & Bioanalytical Techniques*. Vol.3.No.6.
- Chatterjee, Suchandra et al. 2007. Antioxidant activity of Some Phenolic Constituent from Green Pepper (*Piper nigrum* L.) And Fresh Nutmeg Mace (*Myristica fragrans*). *Jurnal Food Chemistry*. Vol.101. No.2.
- Chow Chan et al. 2004. Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification. John Wiley & Sons, INC : Canada.
- H. Rivai, dkk. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, vol(18):35-42.
- I.W. Suarsa, dkk. 2013. Optimasi Jenis Pelarut dalam Ekstraksi Zat Warna Alam dari Batang Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L. Cv Kepok) dan Batang Pisang Susu (*Musa Paradisiaca* L. Cv Susu). *Jurnal Kimia*, vol(5): 72-80.
- Inggrid, H.M dan Santoso H. 2014. *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*. Bandung: Universitas Parahyangan.
- Ikhlas, Nur. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum* L.). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Kumoro A.C. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia.
- M. Valko et al. 2007. *Free Radicals and Antioxidants in Normal*

- Physiological Functions and Human Disease*, vol (39):44-84.
- Mohrig, Jerry R. 2010. *Techniques in Organic Chemistry (3rd ed)*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Owen, Tony. 2000. *Fundamentals of Modern UV-visible Spectroscopy*. Jerman: Agilent Technologies.
- Peng Wei *et al.* 2015. *Areca Catechu L. (Arecaceae): A Review of Its Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology*, vol (164): 340-356.
- Umayah dan Amrun. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*, vol(8):83-90.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kansius.
- Z. Zou *et al.* 2016. *Antioxidant Activity of Citrus Fruits*, vol (196): 885-896.