

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT BUAH BIWA (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) MENGGUNAKAN METODE DPPH DENGAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Gratia Apulina Cindylawsa Purba^{1*}, Putri Anggita², Fitri Wahyu Dhini³

^{1,2,3} Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Deli Husada Deli Tua, Jalan Besar No. 77 Deli Tua 20355
Kab. Deli Serdang-Sumatera Utara, Indonesia.
(Corresponding Author: gratiapurba02@gmail.com)

gratiapurba02@gmail.com (1), putrianggita@gmail.com (2), Fitriwahyudini@gmail.com (3)

ABSTRAK

Buah biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) mempunyai nilai gizi yang tinggi selain itu daun dan bijinya mengandung khasiat obat. Daging buah biwa mengandung asam malat, asam tartarat, asam sitrat, karoten, vitamin A, vitamin B, dan vitamin C. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat buah biwa. Pengujian aktivitas antioksidan buah biwa dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) secara spektrofotometri UV-VIS. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah biwa memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 68,3371 µg/mL. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat dengan metode DPPH.

Kata kunci: Buah Biwa, Aktivitas antioksidan, DPPH, IC₅₀

ABSTRACT

Loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) has high nutritional value besides the leaves and seeds contain medicinal properties. Loquat contains malic acid, tartaric acid, citric acid, carotene, vitamin A, vitamin B, and vitamin C. The purpose of this study was to examine the antioxidant activity ethyl acetate fraction of loquat. Testing the antioxidant activity of loquat using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) method by UV-VIS spectrophotometry. The results of the antioxidant activity test using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) showed that the ethyl acetate fraction of loquat had strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 68.3371 µg/mL. The results can be concluded that the ethyl acetate fraction showed a strong antioxidant activity using the DPPH method.

Keywords: Loquat, Antioxidant Activity, DPPH, IC₅₀

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan senyawa oksidan non radikal karena tingginya reaktivitas senyawa radikal bebas yang mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru. Bila senyawa radikal baru bertemu dengan molekul lain, akan terbentuk radikal baru lagi sehingga akan terjadi reaksi berantai. Reaksi seperti ini akan berhenti apabila reaktivitasnya diredam oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Faisal dan Handayani, 2019). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat proses oksidasi dari radikal bebas. Mekanisme kerja senyawa antioksidan salah satunya yaitu dengan cara mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal sehingga dapat melengkapi kekurangan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Hal ini menjadikan senyawa radikal lebih stabil (Faisal dan Handayani, 2019). Antioksidan sintesis yang selama ini sering digunakan oleh masyarakat yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA) dan Butil Hidroksil Toluen (BHT). Namun pada penggunaannya, obat ini menimbulkan efek samping seperti dapat merusak paru-paru dan hati serta bersifat karsinogenik. Hal ini menjadikan penelitian mengenai senyawa antioksidan yang berasal dari sumber alam seperti tumbuhan yang lebih aman sangat diperlukan (Fitriana dkk., 2015). Bahan pangan yang menjadi sumber antioksidan alami banyak ditemukan pada rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-biji serelia, sayur-sayuran, enzim, dan protein. Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan yang umumnya mempunyai senyawa fenolik yang kandungannya tersebar di semua bagian tumbuhan baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga. Senyawa fenolik atau polifenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan ini, karena flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Tobing dkk., 2017). Biwa merupakan salah satu tanaman buah dataran tinggi yang belum banyak dibudidayakan di Indonesia. Buah biwa memiliki nilai gizi yang tinggi, selain itu daun dan bijinya mengandung khasiat obat. Daging buah biwa mengandung asam malat, asam tartarat, asam sitrat, karoten, vitamin A, vitamin B, dan vitamin C. Daun dan bijinya mengandung amigladin. Di samping itu, dalam pengobatan Cina tradisional dicatat bahwa daun biwa bekerja pada sistem pernafasan dan pencernaan, saluran paru-paru dan perut. Daging buah biwa juga berguna untuk menghaluskan kulit, menurunkan kolesterol, meningkatkan produktivitas, dan dapat menetralkan nikotin di dalam tubuh bagi pecandu rokok (Pinem dan Lailatussyifa, 2017). Ekstraksi senyawa antioksidan dari tanaman umumnya menggunakan jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, seperti etanol, etil asetat, dan n-heksana. Pemilihan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya sangat berguna untuk mendapatkan ekstrak dengan rendemen yang lebih besar dan juga dimaksudkan agar golongan senyawa antioksidan yang mempunyai aktivitas tertinggi dapat terekstrak (Susana dkk., 2018). Pengujian aktivitas antioksidan terhadap buah biwa dapat dilakukan dengan salah satu metode antioksidan yaitu dengan menggunakan metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi yang ditandai dengan kehilangan warna ungu menjadi kuning pucat disertai penurunan nilai absorbansi. Panjang gelombang maksimum yang dapat digunakan untuk

pengukuran absorbansi dengan metode DPPH yang dinyatakan oleh Molyneux (2004), yakni dari 515 nm sampai dengan 520 nm (Budilaksono dkk., 2014). Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan tertinggi yang terdapat pada fraksi etil asetat, fraksi n-heksana dan fraksi sisa buah biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).

2. Perumusan Masalah

Perumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.)Lindl.) Menggunakan Metode DPPH Dengan Spektrofotometri UV-VIS dapat dilaksanakan dengan baik dan sesuai prosedur.

3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil penelitian dari judul Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.)Lindl.) Menggunakan Metode DPPH Dengan Spektrofotometri UV-VIS.

4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber referensi bagi peneliti lain dalam penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.)Lindl.) Menggunakan Metode DPPH Dengan Spektrofotometri UV-VIS.

II. METODE PENELITIAN

1. Alat

Alat-alat yang digunakan yakni alat gelas, alat tanur (Nabertherm), blender (Miyako), cawan penguap, cawan porselin, corong, kertas perkamen, kertas saring, klem, kondensor, koran, krus porselin, lemari pengering, neraca analitik (Mettler Toledo), penangas air, pipet mikro (Eppendorf), pipet tetes, rotary evaporator (Stuart), dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800), statif, sudip, dan tisu (Paseo).

2. Bahan

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah buah biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). Pelarut yang digunakan adalah aquadest, etil asetat, etanol, α -naftol, amil alkohol, asam asetat anhidrida, asam klorida pekat, asam nitrat, asam sulfat pekat, besi (III) klorida, bismuth (III) nitrat, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) iodium, kalium iodium, kloroform, metanol p.a., natrium hidroksida, raksa (II) klorida, serbuk magnesium, timbal (II) asetat, dan toluene.

3. Prosedur Penelitian

3.1 Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Buah biwa yang masih segar dikumpulkan, dibersihkan dari kotoran yang melekat pada buah, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, kemudian dibelah menjadi dua dan bijinya dibuang. Lalu buah ditimbang sebagai berat basah. Buah biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) tersebut dikeringkan di lemari pengering. Buah telah kering apabila sudah rapuh (bila diremas menjadi rapuh), kemudian ditimbang sebagai berat kering, lalu dihaluskan dengan blender. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah plastik tertutup rapat dengan silika gel pada suhu kamar.

3.2 Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dimasukkan 350 gram serbuk simplisia ke dalam wadah dan ditambahkan 3,5 L etanol 96% lalu diaduk

selama 6 jam, kemudian didiamkan selama 18 jam. Dilakukan penyaringan, dihasilkan maserat dan ampas. Ampas yang dihasilkan, dimaserasi kembali sebanyak dua kali pengulangan dengan pelarut etanol 96% dengan cara yang sama di atas, kemudian maserat dipisahkan. Semua maserat yang diperoleh kemudian digabung, lalu dipekatkan dengan alat penguap vakum dengan suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak cukup kental dan dipekatkan di atas penangas air hingga menjadi kental kemudian diuapkan di atas penangas air kemudian diperoleh ekstrak kental (Kemenkes RI, 2017).

3.3 Fraksinasi Cair-cair

Pembuatan fraksi etil asetat dilakukan secara ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut etil asetat. Sebanyak 10 g ekstrak etanol buah biwa ditambahkan dengan 40 ml etanol dan 100 ml air suling dihomogenkan lalu dimasukkan ke corong pisah kemudian diekstraksi dengan 50 mL etil asetat sampai fraksi etil asetat tidak memberikan hasil positif dengan FeCl_3 dan diuapkan tidak meninggalkan sisa sehingga dihasilkan fraksi etil asetat kemudian dipekatkan dengan waterbath.

3.4 Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Skrining fitokimia simplisia, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) terdiri dari pemeriksaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, dan stroid-triterpenoid.

3.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dengan Metode DPPH

Fraksi etil asetat buah biwa ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 25 mL dengan metanol, lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$), kemudian dipipet kedalam labu tentukur 5 ml sebanyak 0,125 ml; 0,250 ml; 0,375 ml; 0,500 ml untuk mendapatkan konsentrasi 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 75 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian kedalam masing-masing labu tentukur ditambah 1 mL larutan induk baku DPPH 200 $\mu\text{g/ml}$, lalu volume dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan, diamkan selama 30 menit lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang serapan maksimum 515,4 nm. Penentuan persen pemerangkapan radikal bebas sampel uji, menggunakan metode pemerangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*), yaitu dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Aktivitas pemerangkapan radikal bebas (%)

$$\frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Sampel}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \%$$

Keterangan:

A_{Kontrol} = Absorbansi tidak mengandung sampel

A_{Sampel} = Absorbansi sampel

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah uji untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada simplisia dan ekstrak. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil skrining fitokimia dapat dilihat golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam simplisia dan ekstrak etanol buah biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) adalah flavonoid, saponin, glikosida dan steroid/triterpenoid. Fraksi etil asetat bersifat semipolar sehingga mampu menarik senyawa-senyawa seperti flavonoid,

saponin dan glikosida. Golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antioksidan antara lain flavonoid dan steroid/triterpenoid.

Tabel 1. Hasil Skrining Simplisia, Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Buah Biwa

No	Pemeriksaan	Simplisia	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat
1	Alkaloid	-	-	-
2	Flavonoid	+	+	+
3	Tanin	-	-	-
4	Saponin	+	+	+
5	Glikosida	+	+	+
6	Steroid/Triterpenoid	+	+	-

Keterangan : (+) positif : mengandung golongan senyawa

(-) negatif : tidak mengandung golongan senyawa

(+/-) : terdapat atau tidak terdapat golongan senyawa

2. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Biwa dan Vitamin C

Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dari fraksi etil asetat buah biwa diukur setelah penambahan larutan uji dengan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 µg/mL, dan pada vitamin C diukur setelah penambahan larutan uji dengan konsentrasi 0,5, 1, 1,5, dan 2 µg/mL, diukur setelah didiamkan selama 30 menit. Penurunan nilai absorbansi terjadi karena larutan uji memerangkap DPPH dan pemerangkapan terjadi karena adanya senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal yang dapat mereduksi DPPH membentuk DPPH-H yang tereduksi. Reaksi ini diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas. Keberadaan antioksidan pada ekstrak tumbuhan akan menetralisasi radikal DPPH dengan menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning atau intensitas warna ungu dalam larutan menjadi berkurang (Molyneux, 2004). Hasil perhitungan nilai persen peredaman DPPH dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

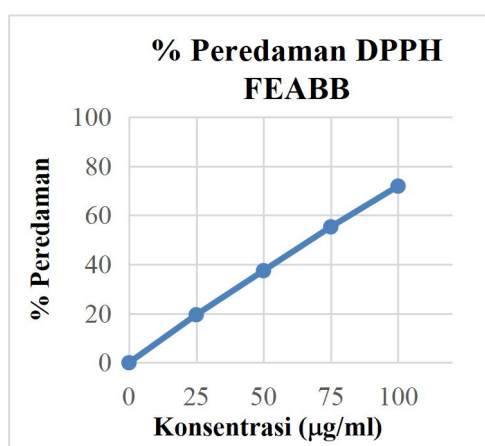
Tabel 2. Nilai persen peredaman DPPH dari beberapa fraksi buah biwa dan vitamin C

Larutan Uji	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata Nilai % Peredaman
FEABB	0	0
	25	19,5254
	50	37,4749
	75	55,2915
	100	71,8732
Vitamin C	0	0
	0,5	17,1797

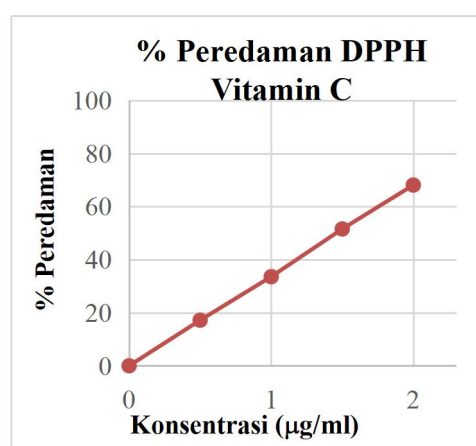
	1	33,5837
	1,5	51,5746
	2	68,1173

Keterangan: FEABB: Fraksi Etil Asetat Buah Biwa

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan persen pemerangkapan DPPH yang berbanding lurus dengan semakin meningkatnya konsentrasi larutan sampel uji pada berbagai pelarut. Semakin besar nilai persenperedaman maka semakin baik aktivitas suatu senyawa dalam menangkap radikal DPPH maka semakin kuat pula daya antioksidannya yang dapat dilihat dari nilai IC_{50} . Hubungan antara konsentrasi dengan persentase peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel dan pembanding dapat dilihat pada kurva (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Hubungan konsentrasi fraksi etil asetat terhadap persentase peredaman



Gambar 2. Hubungan konsentrasi pembanding vitamin C terhadap persentase peredaman

3. Hasil Analisis Nilai dari Beberapa Fraksi Buah Biwa dan Vitamin C

Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi sebagai ordinat (sumbu Y). Hasil persamaan regresi linier dan hasil analisis nilai IC_{50} yang diperoleh dari sampel ujidan vitamin c dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Hasil persamaan regresi linier dan hasil analisis IC_{50} yang diperoleh dari beberapa fraksi buah biwa dan vitamin C

Larutan Uji	Persamaan Regresi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
FEABB	$Y = 0,7181X + 0,9305$	68,3371
Vitamin C	$Y = 34,1259X - 0,0349$	1,4662

Tabel 3. Kategori nilai IC_{50} sebagai antioksidan

No.	Kategori	Konsentrasi ($\mu\text{g / ml}$)
-----	----------	------------------------------------

1.	Sangat Kuat	< 50
2.	Kuat	50-100
3.	Sedang	101-150
4.	Lemah	151-200
5.	Sangat Lemah	>200

(Sumber: Susana dkk., 2018)

Dari Tabel 2. dan Tabel 3. di atas diketahui bahwa fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 68,3371 dan vitamin C menunjukkan aktivitas antioksidan kategori sangat dengan nilai IC_{50} sebesar 1,4662 $\mu\text{g/mL}$. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 $\mu\text{g/mL}$ (Molyneux, 2004).

IV. KESIMPULAN

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode pemerangkapan radikal bebas DPPH terhadap fraksi etil asetat buah biwa menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 68,3371 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Budilaksono, W., Wahdaningsih, S., Fahrurroji, A. 2014. Uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksana kulit buah naga merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi*. Halaman 7.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 7.
- Faisal, H., dan Handayani, S. 2019. Comparison of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Fruit and Okra Leaves (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) by DPPH and ABTS Methods. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research (IDJPCR)*. 2(2):6-13.
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., Ersam, T. 2015. Uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (*Moringa oleifera*). Prosiding. *Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains 2015 (SNIPS 2015)*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Halaman 657.
- Kemenkes RI. 2017. *Farmakope Herbal*. Edisi II. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 531.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*. 26: (2). 211-219.
- Pinem, M.D., dan Lailatussyifa. 2017. Karakterisasi tanaman biwa (*Eriobotrya japonica* Lindl.) di sidikalang kabupaten dairi dan kabanjahe, sumatera utara. *Prosiding Seminar Nasional III Biologi dan Pembelajarannya*. Halaman 62-67.
- Tobing, N.S., Rusmarilin, H., dan Ridwansyah. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bangun-Bangun (*Coleus amboinicus* Lour) Pada Berbagai Tingkat Petikan Daun Dengan Metode DPPH. *Journal Rekayasa Pangan dan Perternakan*. 5(2): 325-332

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
27 Oktober 2025	04 November 2025	11 November 2025	Ya