**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BUNGA BROKOLI
(*Brassica oleracea* L. Var *Italica*) DENGAN METODE DPPH
(2,2- difenil-1- pikrihidrazil).**

***antioxidant activity Assay of Ethanol Extract Broccoli (Brassica
oleracea L. Var Italica) by DPPH Method (2,2 diphenyl-1-
picrylhydrazyl)***

Rahmawati^{*1}, Sinardi², A.Sry Iryani³

^{1,2,3}Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Fajar

Jln. Prof Abdurrahman Basalamah No.101 Makassar, 90231

***Email : Jenk_rahma@yahoo.com**

ABSTRAK

Brokoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) merupakan salah satu tanaman budidaya sayuran yang masuk kedalam familia *Brassicaceae*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga brokoli dengan metode DPPH (2,2- difenil-1- pikrihidrazil). Bunga brokoli diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol, Ekstrak Bunga brokoli dibuat dalam berbagai konsentrasi dan uji aktivitas antioksidan. Dimana nilai IC_{50} ditentukan dengan menghitung analisis regresi terhadap ekstrak etanol bunga brokoli dan vitamin C. Dimana hasil uji fitokimia dari ekstrak etanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) Mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Nilai IC_{50} dari ekstrak bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*) sebesar 4998,1 ppm dan IC_{50} vitamin C murni 4542,73 ppm memperlihatkan aktivitas antioksidan sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm).

Kata kunci : Antioksidan, Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*), metode DPPH

ABSTRACT

Broccoli (*Brassica oleracea* L. var *Italica*) Is one of the vegetable cultivation plants that enter into familia *Brassicaceae*. The Purpose of this research is to know the antioxidant activity of broccoli ethanol extract with DPPH method (2,2 diphenyl-1-pikrylhydrazyl). Broccoli flowers are extracted by maceration using ethanol solvent, broccoli flower extract is made in various concentration activity test. The IC_{50} value is determined by calculating the regression analysis of the broccoli and vitamin C. The phytochemical extract of broccoli flower extract (*Brassica oleracea* L. var *Italica*) was 4998.1 ppm and IC_{50} 4542,73 ppm showed very weak antioxidant activity ($IC_{50} > 200$ ppm)

Keywords: Antioxidant, Broccoli flower (*Brassica Oleracea* L. Var *italica*), DPPH Methode

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghambat laju molekul lain atau menetralkan radikal bebas. Tubuh kita memerlukan sesuatu antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas mengingat begitu banyaknya radikal bebas yang berasal dari luar tubuh yaitu beberapa makanan yang banyak mengandung bahan pengawet, pewarna, asam lemak tidak jenuh, pestisida, polusi, debu dan radiasi ultraviolet [1]

Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk sintetik dan alami. Akan tetapi kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan oleh spesies oksigen reaktif, mampu menghambat penyakit degeneratif serta menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Tumbuhan merupakan sumber antioksidan alami dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar pada bagian tumbuhan baik pada kayu, biji, daun, buah, akar, bunga, maupun serbuk sari [2]

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya seperti lipid, protein maupun DNA [3]. Sayuran jenis *Cruciferae* (*family Brassicaceae*) merupakan sumber antioksidan yang berlimpah. Salah satu jenis dari *family* tersebut adalah tanaman brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). Selain mengonsumsi suplemen, cara untuk memenuhi kebutuhan antioksidan yaitu dengan mengonsumsi sayuran. Brokoli merupakan salah satu jenis sayuran yang memiliki kandungan karotenoid, flavonoid, vitamin A, C, E, tiamin, riboflavin, betakaroten, lutein dan glutathione yang bersifat antioksidan. Mendapatkan hasil bahwa lutein yang ada pada tanaman brokoli mempunyai antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan kubis, kembang kol dan kecambah. Pada penelitian ini dilakukan pengujian antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). Adanya kandungan zat aktif tersebut maka diperlukan suatu kajian

mengenai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2 difenil-1-1- pikrihidrazil. [4]

Dalam penelitian ini terdapat beberapa masalah yaitu bagaimana karakterisasi ekstrak bunga Brokoli , berapakah nilai IC₅₀ konsentrasi Ekstrak Bunga Brokoli.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol Bunga Brokoli (Brassica oleracea L. Var Italica) dengan metode DPPH (2,2- difenil-1- pikrihidrazil).

METODE PENELITIAN

Metode penelitian terdiri dari bahan dan alat serta prosedur kerja

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu serbuk Bunga Brokoli Aquadest, Etanol 70 %, Etanol P.a, FeCl₃, serbuk Magnesium, HCl pekat, DPPH

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Gelas piala, Labu Ukur 50 ml, labu ukur 10 ml, Pipet skala 2ml, Micro pipet, kertas saring, Aluminiumfoil, pipet tetes, Tabung reaksi, Toples Kaca, Corong, Spektrovotometer UV-VIS

Prosedur

Prosedur penelitian terdiri dari persiapan bahan baku, ekstraksi bahan baku, dan analisa produk ekstraksi.

Tahap Persiapan

Bunga Brokoli dicuci hingga bersih dan dipotong-potong dengan pisau. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian digiling hingga berbentuk serbuk dan diayak.

Tahap Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Brokoli

Serbuk Eceng Gondok ditimbang sebanyak 50 gram kemudian dimasukkan dalam wadah dan diekstraksi secara maserasi 5 x 24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 70% sambil sesekali diaduk, kemudian disaring. Ampas hasil ekstraksi kemudian diremaserasi lagi. Filtrate yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental.

Uji Pendahuluan Senyawa Fenol dan Flavonoid

Sejumlah kecil ekstrak kental bunga brokoli dilarutkan dalam 5ml etanol p.a kemudian ditambahkan pereaksi FeCl_3 . Sampel positif mengandung senyawa fenol jika terbentuk warna merah, hitam, ungu, biru, dan hijau. (Franswort 1996)

Ekstrak kental bunga brokoli dilarutkan dalam 10ml etanol p.a, kemudian ditambahkan asam klorida pekat dan serbuk magnesium. Sampel positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna merah jingga hingga merah ungu.

Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH 0.2 mM

DPPH ditimbang sebanyak 3,9433 mg dan dilarutkan dengan Etanol p.a hingga 50 ml dalam labu ukur.

2. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Bunga Brokoli

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang 50 mg ekstrak kental Bunga Brokoli dan dilarutkan dengan Etanol p.a sambil dihomogenkan. Volume akhir dicukupkan etanol p.a sampai 50 ml dalam labu ukur.

3. Pembuatan Larutan stok Vitamin C

Larutan Stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang 50 mg serbuk vitamin C dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan, volume akhir dicukupkan etanol sampai 50 ml dalam labu ukur.

4. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pengukuran serapan larutan Blanko DPPH

Larutan DPPH 0.2mM dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan etanol dalam labu ukur. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. (Molyneux 2004)

b. Pengukuran Aktivitas Pengikat Radikal Bebas DPPH dengan Sampel

Pengujian dilakukan dengan cara memipet masing-masing 800 μ l, 1000 μ l, 1200, 1400 μ l dan 1600 μ l dari larutan stok sampel bunga brokoli 1000 ppm, campuran ditambah 1 ml DPPH 0,2mM lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan Ethanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm dan 160 ppm. Selanjutnya dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai IC_{50} (50% *Inhibitory Concentration*). Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} (Nurjannah dkk, 2011).

c. Pengukuran aktivitas pengikatan Radikal bebas DPPH dengan vitamin C murni

Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing 20 μ l, 25 μ l, 30 μ l, 35 μ l, 40 μ l dari larutan stok vitamin C murni 1000 ppm, campuran ditambah 1 ml DPPH 0,2 mM lalu dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 2,5 ppm, 3 ppm, 3,5 ppm, 4 ppm, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. (Molyneux, 2004)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diawali dengan mengekstrak 50g simplisia bunga brokoli menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan selama 5 x 24 jam dengan metode maserasi yakni ekstraksi dengan prinsip merendam simplisia dalam cairan penyari pada suhu ruangan sambil sesekali dilakukan pengadukan. Pelarut akan masuk menembus dinding sel kedalam rongga yang mengandung zat aktif, perbedaan konsentrasi pada bagian luar dan dalam sel akan bertukar secara difusi hingga terjadi kesetimbangan.

Tabel 4.1 : Hasil Ekstraksi Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* var. Italica)

Sampel	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Persentase rendamen (%)	Warna ekstrak	Konsistensi ekstrak
Bunga Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> var. Italica)	50 g	3,5397 g	7,08 %	Hijautua agak kehitaman	Kental, setengah padat

Persen rendamen yang diperoleh dari ekstraksi menunjukkan kemampuan pelarut dan metode yang digunakan untuk menarik senyawa dalam simplisia. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak cair berwarna hijau cerah yang setelah diuapkan pelarutnya menjadi ekstrak kental dengan konsistensi setengah padat berwarna hijau tua kehitaman.

Hasil Uji Fenol

Pengujian adanya senyawa fenol pada ekstrak etanol bunga brokoli dilakukan dengan cara melarutkan sejumlah sampel dalam 5ml etanol p.a hingga larut sempurna kemudian menambahkan tetes demi tetes pereaksi FeCl_3 . Hasil pengujian senyawa fenol disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Senyawa Fenol Pada Sampel

Sampel	Reaksi	Referensi	Hasil
Ekstrak Etanol Bunga Brokoli	+ 5 ml Etanol p.a + 5 tetes FeCl_3 1%	Jingga Kecoklatan	(+) Terjadi perubahan warna menjadi Hijau

Sampel yang larut sempurna dalam 5ml etanol p.a berwarna jingga kecoklatan, setelah ditambahkan 5 tetes pereaksi FeCl_3 terjadi perubahan warna menjadi larutan hijau yang konsisten. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa fenolik. (Harborne, 1987)

Hasil Uji Flavonoid

Hasil uji Flavonoid disajikan dalam Tabel 4.3.

Sampel	Reaksi	Referensi	Hasil
Estrak etanol bunga brokoli	+ 10 ml etanol p.a + 1ml HCl pekat + Serbuk Mg	Hijau tua	(+) Terjadi perubahan warna menjadi jingga kecoklatan

Pengujian kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol bunga brokoli dilakukan dengan cara melarutkan sejumlah sampel dalam 10 ml etanol p.a kemudian menambahkan 1ml HCl pekat tetes demi tetes dan 50 mg serbuk magnesium sedikit demi sedikit. Sampel yang dilarutkan dengan etanol dan ditambahkan HCl pekat berwarna hijau tua agak kehitaman, sedangkan setelah ditambahkan serbuk magnesium berangsur – angsur terjadi perubahan warna menjadi jingga kecoklatan. Reaksi antara serbuk magnesium dengan HCl pekat akan menghasilkan ion magnesium dan hidrogen yang membentuk kompleks

berwarna merah hingga jingga pada sampel. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel positif mengandung flavonoid. (Supriyanti 2013).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Brokoli metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis . Uji aktivitas Ekstrak Bunga Brokoli dilakukan terhadap Radikal bebas DPPH dan Vitamin C sebagai pembanding. Uji aktivitas antioksidan ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan masing- masing ekstrak dalam merendam radikal bebas DPPH. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-600 nm.

Gambar 4.1 Pengukuran Panjang Gelombang

Absorbansi yang ditunjukkan pada panjang gelombang 517 nm merupakan absorbansi kontrol DPPH, Digunakan Ethanol sebagai blanko. Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH didasarkan pada pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan kedalam larutan DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan satu atom hydrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan

pasangan electron, sehingga radikal bebas DPPH akan membentuk senyawa DPPH yang stabil.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak bunga brokoli dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH . metode DPPH dipilih karena memerlukan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Hanani dkk 2005). Pada metode ini DPPH bertindak sebagai model radikal bebas yang akan berikatan dengan senyawa antioksidan (simanjuntak dkk 2004). Uji DPPH ekstrak bunga brokoli bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak kental bunga brokoli. Pengukuran dari hasil uji DPPH menggunakan spektrofotometer dan diperoleh nilai IC_{50} dapat dilihat pada grafik

Gambar. 4.2 Grafik Analisis Ekstrak Bunga Brokoli

Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan adalah melalui donasi atom hydrogen dimana terjadi rentang waktu masa inkubasi sampel yang bercampur dengan reagen DPPH selama 30 menit sehingga menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Hanani dkk 2005). Perubahan warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh senyawa antioksidan yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi

dimana perubahan ini dapat diukur dan spektrofotometer ekstrak Etanol Bunga Brokoli yang memiliki aktivitas antioksidan. Proses reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH terjadi melalui mekanisme donasi atom hydrogen (Purwangsih 2012)

Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa dari persamaan regresi dari ekstrak etanol bunga brokoli yaitu $Y = 0.010x + 0.019$ dan $x = 4998,1 \mu\text{g/ml}$. nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yaitu nilai x tersebut. Hasil dari perhitungan nilai y sebesar 50 akan memberikan nilai x .

Gambar 4.3 Grafik Analisis Nilai Asam Askorbat

Selanjutnya data hasil pengukuran Asam Askorbat pada kontrol positif diperoleh persamaan nilai regresi $y = 0.011x + 0.03$ dan $x = 4542,73 \mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} diperoleh sangat lemah. Dalam pembuatan kurva standar ini menggunakan 5

larutan standar yang telah diketahui konsentrasi nilai R merupakan bilangan yang menunjukkan tingkat keakuratan dan ketelitian dari larutan standar yang kita buat. Apabila nilai R mendekati 1 maka kurva standar tersebut semakin bagus. R memiliki nilai maksimum 1 tidak pernah lebih dari 1. Menurut Molyneaux (2004) menjelaskan bahwa klasifikasi antioksidan dibagi menjadi 5 yaitu, kuat <50 ppm (sangat kuat), 50-100 ppm (kuat), 100-150 ppm (sedang), 150-200 ppm (lemah) dan >200 ppm adalah sangat lemah. Karena dipengaruhi oleh larutan DPPH tersebut dimana DPPH memiliki sifat hidrofobik, yaitu tidak larut dalam air dan hanya bisa larut dalam pelarut organik. Oleh karena itu, metode DPPH terbatas hanya pada antioksidan. Larutan stok DPPH mudah bereaksi dengan cahaya dan oksigen, sehingga dapat mengalami degradasi. Untuk menghindari atau meminimalisir hal tersebut, maka larutan stok harus ditutup dengan aluminium foil dan disimpan ditempat yang gelap. Dengan begitu, larutan stok DPPH dapat bertahan hingga 1 minggu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa

1. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol berupa fenol, dan flavonoid.
2. Ekstrak Bunga Brokoli memiliki nilai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 4.998,1 ppm sedangkan dengan sebagai kontrol positif nilai IC_{50} vitamin C 4542,73 ppm (IC_{50} >200 ppm) tergolong sangat lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia kazia Friany Lisi, Max R. J.Runtuwenw, Defny s. wewengkang (2017) uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak methanol Bunga Soyogik (*saurania bracteosa* DC). Jurnal ilmiah farmasi ISSN 2302-2493
- Farnsworth, N/ R. (1996). *Biological and Phytochemical screening of plants*. Journal of Pharmaceutical Sciences. Hal 225-276

- Hanani, E. Mun'im, A & Sekarini, R (2005). Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. Dari kepulauan seribu. *Majalah ilmu kefarmasian*. ISSN : 1693-9883. Vol. II. No.3 : 127
- Harbone, J.B (1996). Metode Fitokimia, terjemahan K. Padmawinata, i. Soediro, Terbitan Kedua, Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.
- Molyneux, p. (2004), The use of the stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* hal 211-219
- Nurjannah, Abdullah, A, Izzati (2011) . Aktivitas Antioksidan dan komponen Bioaktif kerang pisau (solen spp. *Jurnal ilmu kelautan* 16
- Jusuf, Nelva Karnila (2012) Pengaruh Ekstrak Bunga Brokoli (*Brassica Oleracea L. Var Italica Plenck*) Terhadap penghambatan penuaan kulit dini (*Photoaging*). Kajian pada Ekspresi Matriks Metalloproteasinase-1 dan Prokolagen Tipe 1 secara *in vitro* pada Fibroblas manusia. Medan. Fakultas Kedokteran Sumatra Utara
- Purwangsih, S 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komposisi kimia keong Matah Merah (*cerithidea obtusa*. *Ilmu kelautan*. ISSN 0853-7921. Vol.17 (1) 39-48.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Simanjuntak. P , Parwati, T. Lenni LE, tamat, R. Murwani, R (2004) *Isolasi & identifikasi antioksidan dan ekstrak Benalu Teh isolasi ortiana (korth denses)*. *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia* ISSN: 1693-1851:5(1): 19-24,
- Sunarni, T., pramono S. Asmah R.(2007). *Flavonoid Antioksidan penangkapan radikal dari daun kepel* (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook f & Th). *Majalah farmasi Indonesia*. Hal 111-116