

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR DAN EKSTRAK METANOL BEBERAPA VARIAN BUAH KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.) DARI DAERAH JEMBER

Moch. Amrun H.**+, Umiyah**, dan Evi Umayah U*

* Bagian Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi Universitas Jember

** Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Jember

+ korespondensi : amrun@farmasi.unej.ac.id

ABSTRACT

Star apple or Chrysophyllum cainito L., family Sapotaceae; which is indigenous in Central America has been grown locally around Jember, East Java. Ethnobotanical data exhibits its medicinal properties such as: soothing inflammation in laringitis and pneumonia, treatment for diabetes mellitus and cancer remedy which are related to free radical mechanism. Therefore, it is necessary to determine its free radical scavenger activity.

There are three types of Jember's star apple fruit (local name: kenitu): big size, green color with round shape (kenitu hijau bulat); medium size, green color with oval shape (kenitu hijau lonjong); and small size, red purplish color with round shape (kenitu merah bulat). Previous research shown that both water and methanol extracts of kenitu hijau lonjong has DPPH free radical scavenger activity as its antioxidant capacity. In recent research the DPPH free radical scavenger activity was performed on both water and methanol extract of these three types of kenitu. The results showed that kenitu merah bulat exhibits the highest antioxidant activity of these three types with $IC_{50} = 426.118$ and 169.094 ppm for methanol and water extracts sequentially in 60th minutes.

Key words: star apple, *Chrysophyllum cainito* L., free radical scavenger, DPPH, IC_{50}

PENGANTAR

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas (Prakash, 2001). Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Wijaya, 1996). Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif (Leong dan Shui, 2001). Senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan fenol terutama polifenol, dan flavonoid diketahui berpotensi mengurangi risiko penyakit degeneratif tersebut (Prakash, 2001; Okawa *et al.*, 2001).

Tanaman kenitu (*Star Apple*), *Chrysophyllum cainito* L. famili Sapotaceae banyak terdapat di Pulau Jawa bagian hilir dan daerah pegunungan rendah. Tanaman ini pernah dibiakkan sebagai tanaman buah-buahan atau tanaman hias. Di dalam buletin No. 37 Musium Kolonial, Kwast mendeskripsikan buah kenitu sebagai buah yang lembut,

berair, menyegarkan, dan enak rasanya. Akan tetapi, buah tersebut tidak laku dijual di sini bahkan juga di tempat asalnya di Amerika tropis (Heyne, 1987). Walaupun demikian, di tempat lain tanaman kenitu bermanfaat dalam pengobatan berbagai penyakit yang terkait baik secara langsung maupun tidak langsung dengan radikal bebas. Infus daun yang kaya akan tanin dipercaya oleh masyarakat Kuba di Miami sebagai obat kanker. Buah yang sudah masak digunakan sebagai antiinflamasi pada keadaan laringitis dan pneumonia serta pengobatan diabetes melitus (Morton, 1987).

Isolasi senyawa aktif yang dipandu oleh uji aktivitas (*activity test guided isolation*) antiradikal bebas DPPH dilakukan terhadap buah kenitu yang tumbuh di Florida Selatan, Amerika Serikat; serta didapatkan sembilan senyawa polifenol yang bersifat sebagai antioksidan (Luo *et al.*, 2002). Metode aktivitas antiradikal bebas DPPH merupakan metode terpilih untuk menapis aktivitas antioksidan bahan alam (Molyneux, 2004; Luo *et al.*, 2002; Leong dan Shui, 2002; Okawa *et al.*, 2001; Santosa *et al.*, 1998). Pada tahun 2004 dilakukan uji aktivitas antiradikal bebas DPPH terhadap ekstrak metanol dan ekstrak air buah kenitu yang tumbuh di daerah Jember, Jawa Timur dan diketahui kedua ekstrak tersebut memiliki aktivitas antiradikal bebas DPPH (Hidayat dan Umiyah, 2005).

Di Pulau Jawa, terdapat dua jenis kenitu (sawo durian) yang dapat dibedakan dari daun dan buahnya, yakni kenitu merah dan kenitu hijau (Anonim, 1994; Verheij dan Coronel, 1992). Berdasarkan hasil observasi tentang buah kenitu Jember, diketahui terdapat dua macam kenitu yaitu kenitu hijau (buah bentuk bulat dan buah bentuk elips) dan satu jenis kenitu merah (buah bentuk bulat). Pada penelitian sebelumnya dilakukan uji antioksidan terhadap ekstrak air dan ekstrak metanol yang berasal dari satu jenis buah kenitu hijau dengan buah bentuk lonjong saja sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol varian buah kenitu lainnya yang tumbuh di daerah Jember. Diharapkan penelitian ini akan memberikan informasi dasar tentang aktivitas antioksidan berbagai varian buah kenitu Jember.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan penelitian adalah buah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) yang diperoleh dari daerah Jember yang dideterminasi menurut USDA (2004); DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil hidrat) ex. Sigma; pelarut metanol dan etanol untuk Spektrofotometer ex. E.Merck. Alat yang digunakan Spektrofotometer Hitachi U1800, Mikroskop Meiji T450, kamera digital Nikon Coolpix 4300, *Freeze dryer*; dan *Rotavapor* Buchi.

Identifikasi Makroskopis Daun dan Buah

Diamati bentuk, tekstur, dan warna bagian atas dan bawah daun. Diamati bentuk, tekstur dan warna buah. Selanjutnya diambil gambarnya dengan kamera digital.

Identifikasi Mikroskopis daun

Dibuat preparat mikroskopis daun dengan menggunakan larutan kloralhidrat panas. Diamati anatomi mikroskopis daun (terutama fragmen-fragmen yang spesifik seperti trikoma, stomata, dan lain sebagainya) dan diambil gambarnya dengan kamera digital.

Pembuatan Ekstrak Metanol

Ditimbang 1 kg daging buah kenitu segar, dimaserasi dua kali dengan metanol. Ampas dipisahkan, filtrat diuapkan di-*rotavapor* hingga kering atau pekat dan dicatat beratnya sebagai ekstrak metanol kasar. Ekstrak kemudian disuspensikan dalam air dan dipartisikan dengan heksana. Fraksi heksana dipisahkan, fraksi air diuapkan hingga kering dan dicatat beratnya sebagai ekstrak metanol.

Pembuatan Ekstrak Air

Ditimbang 1 kg daging buah kenitu segar dan di-*bleaching* selama 15 menit untuk mendenaturasi enzim polifenol oksidase. Selanjutnya daging buah tersebut dikeringkan dengan teknik *freeze drying* dan dicatat beratnya sebagai ekstrak air.

Pembuatan Larutan Uji

Larutkan masing-masing ekstrak ke dalam pelarutnya untuk membuat larutan uji dalam berbagai konsentrasi.

Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang DPPH kristal dan dilarutkan dalam etanol tepat pada konsentrasi 0,004% untuk segera digunakan dan dijaga pada suhu rendah serta terlindung cahaya.

Pengujian Antiradikal Bebas DPPH

Pengujian antiradikal bebas DPPH (Santosa *et al.*, 1998; Dyatmiko dan Santosa, 1998) dilakukan sebagai berikut: dipipet 600 μ l pelarut (metanol, air) ke dalam kuvet dan ditambahkan larutan DPPH ad 3 ml dan diaduk rata dengan pipet. Selanjutnya segera dibuat spektra sinar tampak pada panjang gelombang (λ) 400–600 nm. Dicatat absorban pada λ : 497–517–537 nm. Untuk pengukuran antiradikal bebas bahan uji digunakan metode yang sama, hanya saja pelarut diganti dengan larutan uji (ekstrak metanol, ekstrak air). Dicatat absorban pada λ : 497–517–537 nm pada menit ke-5 dan sekali lagi pada menit ke-60. Dilakukan prosedur yang sama untuk larutan uji dari jenis buah kenitu yang lain. Perhitungan kapasitas antiradikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu merah DPPH, yaitu puncak 517 nm dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Absorban hitung } \lambda 517 \text{ nm} = A_{517} - \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Perhitungan kapasitas antiradikal bebas sebagai persen peredaman absorban pada puncak 517 nm menggunakan perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ peredaman DPPH} = 1 - \left(\frac{A \text{ hitung bahan uji}}{A \text{ hitung DPPH}} \right) \times 100\%$$

Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi

aktivitasnya. Selanjutnya dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman DPPH dan ditentukan harga IC_{50} , yakni konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Harga IC_{50} umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

HASIL

Identifikasi Makroskopis Daun dan Buah

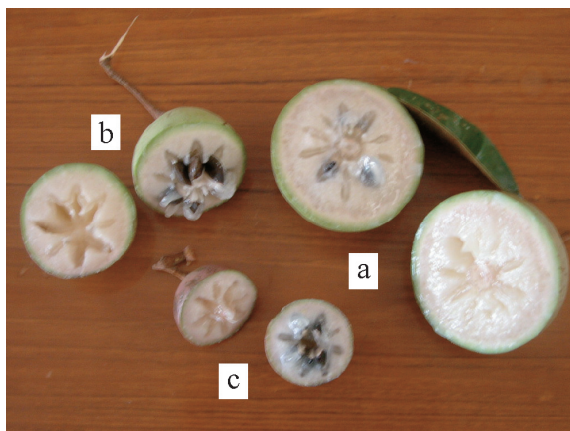
Dari hasil pengamatan makroskopis sampel buah kenitu diperoleh hasil sebagai berikut: bentuk buah bulat dan lonjong, daging buah berwarna putih susu dengan serat yang kasar. Jika dilakukan irisan melintang terhadap buah maka kedudukan biji akan berbentuk seperti bintang, sesuai namanya: *star apple*. Pada perbatasan antara kulit buah dengan daging buah sering dijumpai getah berwarna putih. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau tua dengan tekstur licin dan mengkilat seperti daun jeruk nipis, sedangkan permukaan bawah daun berwarna coklat tua dengan tekstur kasar.

Identifikasi Mikroskopis Daun

Hasil pengamatan mikroskopis daun dari ketiga varian kenitu tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Dijumpai trikum berbentuk jarum kompas dan stomata tipe anomositik yang khas untuk buah kenitu.

Pembuatan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Air

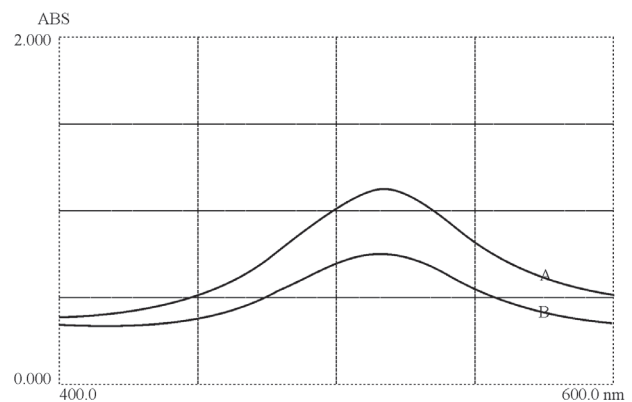
Pada pembuatan ekstrak metanol didapatkan ekstrak metanol dengan konsistensi seperti selai. Selain itu juga didapatkan ekstrak air dengan konsistensi seperti selai



Gambar 1. Berbagai varian kenitu: a) hijau bulat, b) hijau lonjong dan c) merah bulat



Gambar 2. Trikum dan stomata daun kenitu



Gambar 3. Contoh kurva peredaman DPPH ekstrak metanol kenitu hijau bulat menit ke-60 (A = DPPH, B = larutan uji 250 ppm)

seperti halnya ekstrak metanol. Selanjutnya masing-masing ekstrak dibuat larutan uji dengan kadar masing-masing 2000, 1000, 500, dan 250 ppm.

Uji Antiradikal Bebas DPPH

Pada pelaksanaan uji antiradikal bebas diawali dengan pembuatan spektra sinar tampak (400–600 nm) larutan uji

untuk melihat apakah masih tampak adanya kurva normal (sigmoid) dengan puncak 517 nm. Semua spektra larutan uji menunjukkan kurva normal dengan puncak 517 nm. Contoh spektra larutan uji dapat dilihat Gambar 3.

Hasil pengujian antiradikal bebas berbagai varian buah kenitu dapat dilihat pada Tabel 1–7.

Harga IC_{50} dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi

Tabel 1. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak metanol kenitu hijau bulat

Menit ke-	Sampel	A_{497}	A_{517}	A_{537}	A_{hit}	% peredaman
5	DPPH	0,961	1,096	0,941	0,145	
	2000 ppm	0,533	0,585	0,499	0,069	52,41
	1000 ppm	0,620	0,695	0,594	0,088	39,31
	500 ppm	0,682	0,772	0,662	0,100	31,03
	250 ppm	0,754	0,857	0,736	0,112	22,76
60	DPPH	0,991	1,127	0,970	0,147	
	2000 ppm	0,452	0,483	0,411	0,052	64,85
	1000 ppm	0,584	0,647	0,553	0,079	46,42
	500 ppm	0,666	0,750	0,641	0,097	34,13
	250 ppm	0,758	0,860	0,739	0,112	23,89

Tabel 2. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak metanol kenitu hijau lonjong

Menit ke-	Sampel	A_{497}	A_{517}	A_{537}	A_{hit}	% peredaman
5	DPPH	1,014	1,158	0,995	0,154	
	2000 ppm	0,329	0,337	0,283	0,031	79,80
	1000 ppm	0,498	0,546	0,464	0,065	57,65
	500 ppm	0,627	0,706	0,603	0,091	40,72
	250 ppm	0,710	0,805	0,690	0,105	31,60
60	DPPH	1,095	1,249	1,075	0,164	
	2000 ppm	0,172	0,144	0,110	0,003	98,17
	1000 ppm	0,436	0,464	0,391	0,051	69,21
	500 ppm	0,611	0,677	0,578	0,083	49,70
	250 ppm	0,716	0,808	0,691	0,105	36,28

Tabel 3. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak metanol kenitu merah bulat

Menit ke-	Sampel	A_{497}	A_{517}	A_{537}	A_{hit}	% peredaman
5	DPPH	1,252	1,314	1,094	0,141	
	2000 ppm	0,511	0,423	0,319	0,008	94,33
	1000 ppm	0,619	0,594	0,477	0,046	67,38
	500 ppm	0,806	0,818	0,672	0,079	43,97
	250 ppm	0,890	0,920	0,760	0,095	32,62
60	DPPH	1,306	1,375	1,146	0,149	
	1000 ppm	0,493	0,439	0,343	0,021	85,91
	500 ppm	0,752	0,750	0,613	0,068	54,70
	250 ppm	0,882	0,907	0,750	0,091	38,93

Tabel 4. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak air kenitu hijau bulat

Menit ke-	Sampel	A_{497}	A_{517}	A_{537}	A_{hit}	% peredaman
5	DPPH	1,020	1,155	0,989	0,151	
	2000 ppm	0,891	0,874	0,772	0,043	71,76
	1000 ppm	0,893	0,941	0,847	0,071	52,82
	500 ppm	0,894	0,981	0,896	0,086	42,86
	250 ppm	0,899	1,010	0,923	0,099	34,22
60	DPPH	1,055	1,194	1,024	0,155	
	2000 ppm	0,979	0,908	0,794	0,022	86,08
	1000 ppm	0,979	0,988	0,877	0,060	61,17
	500 ppm	0,968	1,033	0,933	0,082	46,60
	250 ppm	0,970	1,060	0,958	0,096	37,86

Tabel 5. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak air kenitu hijau lonjong

Menit ke-	Sampel	A ₄₉₇	A ₅₁₇	A ₅₃₇	A _{hit}	% peredaman
5	DPPH	0,983	1,115	0,955	0,146	
	2000 ppm	0,724	0,689	0,599	0,028	81,16
	1000 ppm	0,784	0,816	0,729	0,060	59,25
	500 ppm	0,816	0,891	0,809	0,079	46,23
	250 ppm	0,846	0,949	0,866	0,093	36,30
60	DPPH	1,050	1,189	1,020	0,154	
	2000 ppm	0,899	0,801	0,682	0,011	93,18
	1000 ppm	0,947	0,927	0,812	0,048	69,16
	500 ppm	0,925	0,964	0,864	0,069	54,87
	250 ppm	0,942	1,024	0,924	0,091	40,91

Tabel 6. Hasil pengujian antiradikal bebas ekstrak air kenitu bulat merah

Menit ke-	Sampel	A ₄₉₇	A ₅₁₇	A ₅₃₇	A _{hit}	% peredaman
5	DPPH	1,024	1,153	0,989	0,147	
	2000 ppm	0,825	0,735	0,632	0,007	95,56
	1000 ppm	0,889	0,844	0,736	0,032	78,50
	500 ppm	0,891	0,915	0,779	0,080	45,39
	250 ppm	0,910	0,979	0,884	0,082	44,03
60	DPPH	1,083	1,222	1,046	0,158	
	500 ppm	1,035	0,982	0,856	0,037	76,83
	250 ppm	1,015	1,038	0,926	0,068	57,14
	125 ppm	1,011	1,073	0,965	0,085	46,03

larutan uji dengan % peredaman puncak DPPH, sebagai parameter aktivitas antioksidan. Harga IC₅₀ berbagai varian ekstrak kenitu dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 7. Harga IC₅₀ berbagai ekstrak kenitu

Menit ke-	Sampel	IC ₅₀ (ppm)
5	Ekstrak air kenitu hijau bulat	919,324
	Ekstrak air kenitu hijau lonjong	707,430
	Ekstrak air kenitu merah bulat	431,597
	Ekstrak metanol kenitu hijau bulat	1783,292
	Ekstrak metanol kenitu hijau lonjong	847,243
60	Ekstrak metanol kenitu merah bulat	664,097
	Ekstrak air kenitu hijau bulat	645,882
	Ekstrak air kenitu hijau lonjong	427,368
	Ekstrak air kenitu merah bulat	169,094
	Ekstrak metanol kenitu hijau bulat	1279,156
	Ekstrak metanol kenitu hijau lonjong	550,116
	Ekstrak metanol kenitu merah bulat	426,118

PEMBAHASAN

Pada pelaksanaan uji antiradikal bebas diawali dengan pembuatan spektra sinar tampak larutan uji untuk melihat apakah masih tampak adanya kurva normal (sigmoid) dengan puncak 517 nm. Semua spektra larutan uji menunjukkan kurva normal dengan puncak 517 nm. Pada menit ke-60 larutan uji 2000 ppm ekstrak metanol kenitu merah bulat memberikan peredaman sempurna (100%) yang ditunjukkan dengan perubahan warna ungu tua menjadi warna kuning sempurna, oleh karena itu tidak diikutkan dalam perhitungan IC₅₀. Demikian juga pada ekstrak air kenitu merah bulat konsentrasi 2000 dan 1000 ppm pada menit ke-60 juga tidak diikutkan dalam perhitungan IC₅₀. Harga IC₅₀ umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004). Semakin kecil harga IC₅₀, semakin besar aktivitas antioksidannya. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa kenitu merah bulat memiliki aktivitas antioksidan terbesar, yang diikuti oleh kenitu hijau lonjong dan kenitu hijau bulat.

Secara umum, ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan lebih besar daripada ekstrak metanol. Hal ini dikarenakan

pada ekstrak air masih mengandung antioksidan larut air yakni vitamin C, selain senyawa polifenol antioksidan. Pada ekstrak metanol aktivitas antioksidan hanya ditentukan oleh senyawa golongan polifenol saja (Hidayat dan Umiyah, 2005). Untuk menguji aktivitas antioksidan senyawa polifenol ini lebih jauh, ekstrak metanol dapat dipartisi secara berurutan ke dalam heksana dan etil asetat. Di dalam fraksi etil asetat tersebut tidak terkandung senyawa antioksidan lain seperti vitamin C dan karoten, sehingga aktivitas antioksidannya hanya ditentukan oleh senyawa polifenol saja (Luo *et al.*, 2002).

KEPUSTAKAAN

- Anonim, 1994. *Mengenal Tanaman Langka Indonesia*. Penebar Swadaya.
- Dyatmiko W dan Santosa MH, 1998. Aktivitas Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Sari Air *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Seminar Nasional Tumbuhan Obat XIV, Bogor*.
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid III, diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta, hal. 1558.
- Hidayat MA dan Umiyah, 2005. Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Dari Daerah Sekitar Jember, *Simposium Nasional "Peningkatan Pemanfaatan Bahan Alam Dalam Penggunaan Klinis"*, Fak. Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya.
- Leong LP dan Shui G, 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry* 76: 69–75.
- Luo XD, Basile MJ, dan Kennely EJ, 2002. Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Mar 13; 50(6): 13789–82.
- Molyneux P, 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 26(2): 211–9.
- Morton J, 1987. Star Apple, in: Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida. 408–410.
- Okawa M, Kinjo J, Nohara T, dan Ono M, 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants, *Biol. Pharm. Bull*, 24(10): 1202–5.
- Prakash A, 2001. *Antioxidant Activity*, Medallion Laboratories Analytical Progress, 19(2).
- Santosa HM, Budiati AS, Fuad A, dan Kusumawati I, 1998. Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak *Graptophyllum pictum* (L). Griff. Secara Spektrofotometri, *Seminar Nasional Tumbuhan Obat XIII, Malang*.
- USDA, NRCS, 2004. *The Plants Database, Version 3.5* (<http://plants.usda.gov>). *National Plant Data Center*, Baton Rouge, LA 70874–4490 USA.
- Verheij EWM dan Coronel RE, 1992. *Plant Resources of South-East Asia, No. 2, Edible fruits and nuts*, PROSEA, Bogor Indonesia.
- Wijaya A, 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan, Forum Diagnosticum, *Prodia Diagnostic Educational Services*, No. 1: 1–12.

Reviewer: **Dr. Pratiwi Puji Astuti, MSi.**