

## Gambaran variasi uji kapasitas antioksidan DPPH, FRAP dan ABTS pada ekstrak biji jengkol (*Archidendron sp.*)

Pasuarja Jeranding Ezra<sup>1</sup>, David Limanan<sup>2,\*</sup>, Frans Ferdinal<sup>2</sup>, Eny Yulianti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Jakarta, Indonesia

\*korespondensi email: [davidl@fk.untar.ac.id](mailto:davidl@fk.untar.ac.id)

### ABSTRAK

Antioksidan adalah substansi yang dapat menyumbangkan elektron ke radikal bebas. Antioksidan sintetik dan antioksidan alami adalah dua kategori utama asal antioksidan. Tanaman jengkol (*Archidendron sp.*), misalnya, merupakan sumber antioksidan alami. Keadaan alam, kesuburan tanah, perawatan tanaman, dan spesies semuanya berperan dalam kemampuan antioksidan jengkol. Studi ini berangkat untuk meninjau tiga tes yang biasa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan, dalam hal ini ekstrak biji jengkol (*Archidendron sp.*) diukur kapasitasnya. Mekanisme kerja dari ketiga metode ini dibedakan berdasarkan pada mekanisme reaksinya dalam mereduksi suatu oksidan. Hasil dari masing masing uji kapasitas antioksidan ekstrak biji jengkol, pada metode ABTS didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 36,389  $\mu\text{g/mL}$ . Pada metode DPPH nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh sebesar 174,645  $\mu\text{g/mL}$ . Adapun pada metode FRAP besaran  $IC_{50}$  yang didapatkan yaitu 48,275  $\mu\text{g/mL}$ . Korelasi semua uji antioksidan pada ekstrak dapat dipercaya ( $R^2 > 0,95$ ).

**Kata kunci:** antioksidan; biji jengkol; DPPH; ABTS; FRAP

### ABSTRACT

*Antioxidants are substances that can give up an electron to a harmful free radical. Synthetic antioxidants and natural antioxidants are the two main categories of antioxidants sources. The jengkol plant (*Archidendron sp.*), for example, is a natural source of antioxidants. Natural circumstances, soil fertility, plant care, and species all have a role in jengkol's antioxidant capability. This research set out to review the three commonly used assays for measuring antioxidant capacity to see whether jengkol (*Archidendron sp.*) seed extract measured up. The mechanism of action of these three methods is differentiated based on the reaction mechanism in reducing an oxidant. The results of each antioxidant capacity test of jengkol seed extract in ABTS method obtained  $IC_{50}$  value of 36.389  $\mu\text{g/mL}$ . In the DPPH method, the  $IC_{50}$  value obtained was 174.645  $\mu\text{g/mL}$ . As for the FRAP method, the  $IC_{50}$  value obtained was 48.275  $\mu\text{g/mL}$ . The correlation of all antioxidant tests on the extract is reliable ( $R^2 > 0.95$ ).*

**Keywords:** antioxidants; jengkol seeds; DPPH; ABTS; FRAP

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang menjadi tempat tinggal dari berbagai jenis flora dan fauna. Sekitar 950 dari perkiraan 30.000 spesies tanaman di Indonesia telah terbukti memiliki nilai obat, gizi, estetika, atau *nutraceutical* melalui penelitian ilmiah.<sup>1</sup> Tanaman obat seperti jengkol telah digunakan untuk berbagai kondisi selama berabad-abad.

Jengkol (*Archidendron sp*) merupakan kelompok tanaman hortikultura atau tanaman budidaya di kebun yang biasanya digunakan masyarakat Indonesia sebagai tanaman pangan. Sejak lama, masyarakat Indonesia tidak hanya memanfaatkan jengkol sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit seperti diabetes melitus, tetapi juga sebagai bahan makanan.<sup>2,3</sup> Asam jengkolat adalah salah satu komponen umum dari buah jengkol. Bahan kimia ini beracun karena memuat asam amino alifatik yang mengandung belerang.<sup>4</sup> Selain glikosida, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, B1, dan E, jengkol juga memiliki kandungan minyak atsiri, saponin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan tanin.<sup>3</sup> Adanya senyawa senyawa tersebut memungkinkan jengkol memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antibakteri serta antiinflamasi.

Sejumlah studi menunjukkan bahwa antioksidan berperan penting dalam menjaga kesehatan manusia, mencegah dan mengobati suatu penyakit, karena kemampuannya dalam mereduksi stres oksidatif.<sup>5,6</sup> Antioksidan merupakan kelas dari substansi kimia yang bisa di temukan dalam produk makanan yang mana dapat mencegah proses fisiologis yang timbul akibat proses oksidatif stres.<sup>6</sup> Antioksidan mampu menyumbangkan elektron ke radikal bebas sehingga mampu menetralsirnya dari kerusakan yang ditimbulkan, hal ini dapat terjadi karena antioksidan merupakan molekul yang stabil.<sup>6</sup> Uji kapasitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kapasitas antioksidan yang dimiliki suatu tanaman.

Secara umum untuk mengukur kapasitas suatu antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti, DPPH (2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl), ABTS (2'-azinobis (3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid) maupun FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Ketiga metode pengukuran aktivitas antioksidan tersebut dibedakan berdasarkan reaksi reduksi dari radikal oleh antioksidan. Tujuan studi ini untuk meninjau apakah ada perbedaan dari ketiga tes tersebut terhadap biji jengkolat.

## METODE PENELITIAN

Studi eksperimental ini dilakukan dari bulan Januari hingga Februari 2023 dan dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara (Lab. BBM FK Untar). Selama proses studi digunakan alat dan bahan. Peralatan studi berupa blender, lemari es, peralatan penimbangan, *water bath*, aluminium foil, kertas saring; *rotatory evaporator*; spektrofotometer UV-Vis, corong kimia, rak dan tabung reaksi, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur; labu Erlenmeyer; tabung perkolasi; *plastic wrap*; pipet; mikropipet; mikrotube; tabung sentrifus; spatula; batang pengaduk; alat putar (*vortex*). Bahan yang digunakan selama studi yaitu S Air, Air suling (*aquadest*); ABTS; Larutan methanol; Larutan etanol; Larutan Vitamin C murni; DPPH; Natrium asetat trihidrat; TPTZ;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

Pembuatan ekstrak biji jengkol dimulai dari buah jengkol (*Archidendron sp*) terlebih dahulu dipisahkan dari kulitnya, kemudian buah dipotong menjadi bagian-bagian kecil untuk selanjutnya dilakukan pengeringan. Proses pengeringan sampel buah jengkol (*Archidendron sp*) dilakukan di dalam ruangan tanpa intervensi paparan sinar matahari dan dengan suhu ruangan selama 7 hari.

Setelah buah kering, buah akan dihaluskan menggunakan mixer blender sehingga akan menjadi bubuk atau simplisia. Simplisia yang dihasilkan kemudian diekstrak dengan metode perkolasi menggunakan metanol. Setelah didapatkan ekstrak kemudian selanjutnya dievaporasi menggunakan mesin *rotatory evaporator* hingga menjadi pasta.

Larutan DPPH, sebanyak 1.97 mg bubuk DPPH dilarutkan ke dalam 100 mL metanol di dalam labu ukur sehingga didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi sebesar  $50 \mu\text{M}$ . selanjutnya tabung dipersiapkan dan dibungkus hingga tertutup menggunakan aluminium foil, setelah itu sebanyak 0,5 mL methanol ditambahkan ke dalamnya. Selama 30 menit larutan DPPH diinkubasi.<sup>7</sup>

Larutan ABTS didapatkan dengan cara sebanyak 7,100 mg bubuk ABTS dan bubuk kalium persulfat sebanyak 3,500 mg dilakukan penimbangan. Kedua bubuk dilarutkan secara terpisah menggunakan etanol 5 ml. Selama 12-16 jam larutan diinkubasi tanpa ada intervensi dari cahaya atau ruangan dalam keadaan gelap. Setelah itu larutan dicampur, dan ditambahkan etanol sebanyak 25 mL.<sup>7</sup>

Pengerjaan larutan FRAP dengan cara bobot 187 mg, 150 mg, dan 270 mg masing-masing dicapai untuk natrium

asetat trihidrat, TPTZ, dan FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O. Kemudian, 250 mL air suling digunakan untuk melarutkan 16 mL asam asetat ke dalam natrium asetat trihidrat. Serbuk TPTZ diencerkan menjadi 50 mL dengan 40 mM HCL. FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O diencerkan menjadi 100 mL dengan air murni. Ketiga larutan tersebut digabungkan dalam labu ukur dengan menambahkan 25 mL larutan natrium asetat trihidrat, 2,5 mL larutan TPTZ, dan 2,5 mL larutan FeCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O, kemudian diisi dengan air suling hingga 100 mL.<sup>7</sup>

Pembuatan larutan standar vitamin C dilakukan dengan cara 1000 mg / 5 mL vitamin C dicampur dalam 100 mL metanol. Kemudian diencerkan dengan rentang konsentrasi 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL dan 10 µg/mL. (Tabel 1) Setiap kuantitas vitamin C diencerkan dengan larutan DPPH hingga volume akhir 3,5 mL. Panjang gelombang ideal diukur dengan spektrofotometer UV-Vis setelah larutan didiamkan selama 30 menit dan juga homogenisasi.

**Tabel 1. Nilai konsentrasi, inhibisi (%) dan IC<sub>50</sub> vitamin C**

Konsentrasi Vitamin C (µg/mL)	Persen Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
2	26,85	
4	39,11	
6	54,97	5,4
8	67,87	
10	81,81	

Penentuan aktivitas reduksi radikal bebas DPPH dengan ekstrak biji jengkol dilakukan dengan cara mengencerkan 32,5 mg ekstrak biji jengkol (*Archidendron sp*) dalam 25 mL metanol dalam labu ukur untuk mendapatkan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dilakukan pemipetan untuk membuat konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL dan 250 µg/mL (Tabel 2). Sebanyak 3,5 mL larutan DPPH dibubuhkan ke dalam tabung reaksi setelah diambil 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi. Penyerapan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada gelombang 490 nm setelah larutan dihomogenkan dan dibiarkan di tempat gelap selama 30 menit.

**Tabel 2. Nilai konsentrasi, absorbansi rata-rata, inhibisi (%) dan IC<sub>50</sub> ekstrak biji jengkol (DPPH)**

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Rata-rata	Presentase Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
50	0,505	18,548	
100	0,419	32,419	
150	0,398	35,806	174,645
200	0,251	59,516	
250	0,179	71,129	

Penentuan aktivitas reduksi radikal bebas ABTS pada ekstrak biji jengkol dilakukan dengan cara ekstrak biji jengkol (*Archidendron sp*) diambil sebanyak 32,5 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol

sehingga diperoleh 1000 ppm. Larutan sampel ekstrak biji jengkol (*Archidendron sp*) 1000 ppm dipipet dengan berbagai konsentrasi, yaitu 50 µl, 100 µl, 150 µl, 200 µl, dan 250 µl. Volume dinaikkan menjadi 5 ml dengan etanol 100%, dan kemudian ditambahkan 1 ml larutan ABTS. Konsentrat 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm akan dicapai pada langkah selanjutnya (**Tabel 3**). Absorbansi larutan dinilai menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada 750 nm setelah dihomogenkan.

**Tabel 3. Nilai konsentrasi, absorbansi rata-rata, inhibisi (%) dan IC<sub>50</sub> ekstrak biji jengkol (ABTS)**

Konsetrasi (µg/mL)	Absorbansi Rata-rata	Presentase Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
10	0,266	12,062	
20	0,183	28,794	
30	0,163	36,576	36,389
40	0,119	53,696	
50	0,071	72,374	

Prosedur uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP didasarkan atas cara kerja Benzie dan Strain (1996). Ekstrak biji jengkol (*Archidendron sp*) ditimbang sebanyak 32,5 mg dan dilarutkan ke dalam metanol 25 mL dalam labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat konsentrasi 10 µl, 20 µl, 30 µl, 40 µl dan 50 µl (**Tabel 4**). Oleskan larutan FRAP dan sampel ke pelat mikro

polistiren transparan 96 lubang dengan rasio 1:3 menggunakan mikropipet. Setelah 10 menit inkubasi pada suhu 37°C dalam *waterbath*, absorbansi larutan pada 594 nm ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

**Tabel 4. Nilai konsentrasi, absorbansi rata-rata, inhibisi (%) dan IC<sub>50</sub> ekstrak biji jengkol (FRAP)**

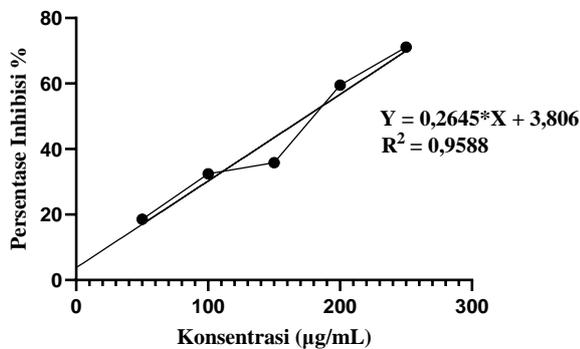
Konsetrasi (µg/mL)	Absorbansi Rata-rata	Presentase Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
10	0,059	13,559	
20	0,068	25	
30	0,086	40,698	48,275
40	0,099	48,485	
50	0,106	51,887	

## HASIL DAN PEMBAHASAN

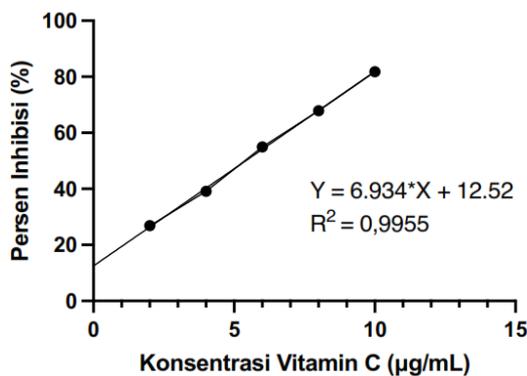
### Hasil uji kapasitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji kapasitas antioksidan metode DPPH (*2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl*) dilihat berdasarkan kemampuan antioksidan tersebut dalam mereduksi DPPH yang tercermin dari perubahan warna. Perubahan warna tersebut terjadi akibat reaksi reduksi dari antioksidan terhadap senyawa oksidan yaitu DPPH.<sup>8</sup> Untuk menentukan kekuatan antioksidan dengan metode DPPH digunakan indikator IC<sub>50</sub> yaitu kemampuan suatu antioksidan dalam menangkap radikal DPPH sebesar 50%.<sup>9</sup> Hasil IC<sub>50</sub> yang

didapatkan pada metode DPPH yaitu 174,645 µg/mL (**Gambar 1**) dan nilai Vitamin C 5,4 µg/mL. (**Gambar 2**). Aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan penurunan nilai IC<sub>50</sub>. Pada metode DPPH didapatkan besaran kapasitas antioksidan dari ekstrak biji jengkol tergolong sedang menurut Monyleux dan juga setelah dibandingkan dengan nilai dari IC<sub>50</sub> Vitamin C.<sup>10</sup>



Gambar 1. Kurva Uji DPPH Ekstrak Biji Jengkol

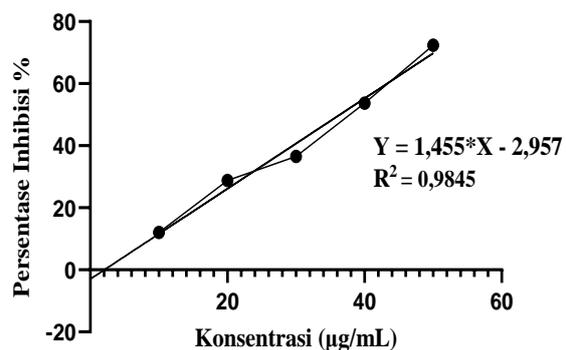


Gambar 2. Kurva Uji Standar Vitamin C

### Hasil uji kapasitas antioksidan dengan metode ABTS

Pada pengujian kapasitas antioksidan dengan metode ABTS berprinsip pada

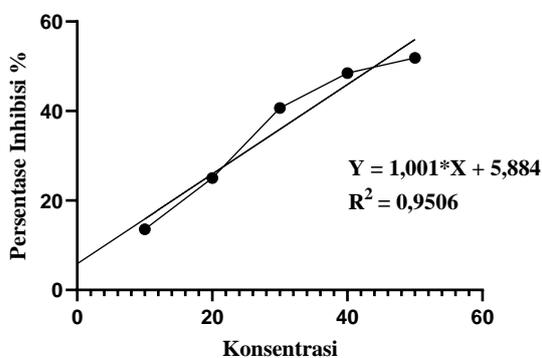
kemampuan antioksidan untuk mereduksi radikal bebas kedalam 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) bersamaan dengan persulfat.<sup>11</sup> Adanya usaha antioksidan dari sampel terhadap radikal bebas ABTS ditandai dengan hilangnya warna biru dari larutan ABTS akibat dipicu oleh senyawa terkait.<sup>12</sup> Metode pengukuran ABTS sangat sensitif terhadap cahaya, hal ini dapat dilihat dari pembentukan senyawa ABTS yang memerlukan waktu inkubasi pada keadaan gelap selama 12-16 jam.<sup>13</sup> Pada metode ABTS kemampuan suatu antioksidan dilihat dari besaran IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> yang diukur pada metode ini didapatkan sebesar 36,389 µg/mL (**Gambar 3**). Mengartikan Aktivitas antioksidan biji jengkol pada metode ABTS tergolong kuat menurut Molyneux.<sup>10</sup>



Gambar 3 Kurva Uji ABTS Ekstrak Biji Jengkol

## Hasil uji kapasitas antioksidan dengan metode FRAP

*Ferric Reducing Antioxidan Power* (FRAP) pada prinsipnya terjadi proses perpindahan elektron dari antioksidan ke senyawa oksidan yaitu  $Fe^{3+}$ -TPTZ. Hasil akhir dari aktivitas antioksidan, yaitu larutan berubah menjadi biru prusia dimana proses perubahan warna ini terjadi akibat reduksi dari antioksidan terhadap  $Fe^{3+}$  yang berubah menjadi  $Fe^{2+}$  dalam larutan untuk mengikat ferisianida.<sup>12,14</sup> Pada pengujian FRAP didapatkan besaran  $IC_{50}$  yaitu 48,275  $\mu$ g/mL (**Gambar 4**), sehingga ekstrak biji jengkol tergolong antioksidan yang kuat menurut Molyneux.<sup>10</sup>



Gambar 4. Kurva Uji FRAP Ekstrak Biji Jengkol

## KESIMPULAN

Berdasarkan ketiga jenis pemeriksaan antioksidan yaitu DPPH, ABTS, dan FRAP diperoleh gambaran bahwa ekstrak biji jengkol memiliki kemampuan antioksidan sedang hingga kuat. Hal ini

dapat dilihat dari nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing uji kapasitas beserta standar pembandingan Vitamin C. Korelasi semua uji antioksidan pada ekstrak dapat dipercaya ( $R^2 > 0,95$ ).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ruslan Aspan. Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak. Vol. 1. Jakarta: BPOM RI; 2012.
2. Maxiselly Y, Ustari D, Ismail A, Karuniawan A. Pola Penyebaran Tanaman Jengkol (*pithecellobium jiringa* (Jack) prain.) Di Jawa Barat bagian Selatan Berdasarkan Karakter Morfologi. *Kultivasi*. 2016;15(1).
3. Hutauruk, J. E. Isolasi Senyawa Flavonoida dari Kulit Buah Tumbuhan Jengkol. [Skripsi] Medan: FMIPA USU; 2010.
4. Sinaga I, Rosliana R, Riyanto R. Uji Toksisitas ( $LC_{50}$  – 24 jam) Ekstrak Kulit Jengkol *Pithecellobium Jiringa* terhadap larva Ugang *Artemia Salina leach*. *JURNAL BIOSAINS*. 2018;4(2):96.
5. Gupta RR, Gupta M, Bhickta S. Reactive Oxygen Species (ROS): A Review. *Dental Journal of Advance Studies*. 2013;1(3):152-8.
6. Preiser JC. Oxidative Stress. *JPEN Parenter Enteral Nutr*. 2012;36(2):147-54.
7. Brar SK, Dhillon GS, Soccol CR. Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals. New York: Springer; 2014.
8. Setiawan F, Yunita O, Kurniawan A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*. 2018;2(2):82-9.
9. Sami FJ, Rahimah S. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak metanol Bunga Brokoli (*brassica oleracea L. var. Italica*) Dengan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) Dan metode ABTS (2,2 azinobis (3-ETILBENZOTIAZOLIN)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016;2(2):107-10.

10. Triana Y, Utami PR, Laksono AD, Awali J, Tajalla GUN, Sulistijono. The Effect of Addition Organic Inhibitor Bintaro Fruit Extract (Cerbera manghas) to Inhibition Efficiency and Corrosion Rate on JIS G3131 Steel in 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Environment. *J Phys: Conf Ser.* 2021;1802:012013.
11. Dong JW, Cai L, Xing Y, Yu J, Ding ZT. Re-evaluation of ABTS•+ Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products. *Natural Product Communications.* 2015;10(12).
12. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021;22(7):3380.
13. Maryam S, Pratama R, Effendi N, Naid T. Dengan metode Cupric ion reducing antioxidant capacity. Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 2021; 2(1), 90–93.
14. Maryam S, Baits M, Nadia A. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 2015;2(2):115-8.