



AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF KAROTENOID BUAH PEPAYA (*Carica Papaya*) MENGGUNAKAN METODE DPPH

ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM BIOACTIVE COMPOUND CAROTENOID EXTRACT CONTENT OF PAPAYA FRUIT (*Carica Papaya*) USING DPPH METHOD

¹Ira Oktavia*, ²Nila Rosidatul Hidayah,

[#]Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 27 Okt
2022

Accepted: 7 Nov 2022

Publish Online: 25
Nov 2022

Kata Kunci:

Karotenoid,
Antioksidan, DPPH

Keywords:

Carotenoid,
Antioxidant, DPPH

Abstrak

Latar belakang: Pepaya merupakan buah yang banyak mengandung senyawa bioaktif seperti karotenoid. Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning, orange dan merah pada tanaman. Eksploasi karotenoid sebagai antioksidan masih jarang dilakukan padahal berpotensi memiliki aktivitas tersebut. Karotenoid diduga memiliki aktivitas antioksidan yang kuat **Tujuan:** Melakukan ekstraksi karotenoid dan uji aktivitas antioksidan dari buah pepaya. **Metode:** Ekstraksi karotenoid menggunakan metode maserasi, identifikasi ekstrak menggunakan metode KLT dan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. **Hasil:** Maserasi menggunakan pelarut n-heksana didasarkan pada sifat karotenoid yang non polar. Selanjutnya ekstrak diidentifikasi menggunakan KLT didapatkan senyawa karotenoid dengan pembandingan beta karoten serta uji antioksidan ekstrak karotenoid menunjukkan hasil yang tergolong kuat dengan pembandingan vitamin C. **Simpulan:** Buah pepaya mengandung karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

Abstract

Background: Papaya is a fruit that contains many bioactive compounds such as carotenoids. Carotenoids are pigments that give plants yellow, orange, and red colors. Exploration of carotenoids as antioxidants is still rarely carried out even though it has potential activity. Carotenoids are thought to have strong antioxidant activity. **Objective:** To conduct carotenoids extraction and antioxidant activity test from papaya. **Method:** Carotenoids extraction using maceration method, extract identification using TLC, and antioxidant activity test using DPPH method. **Result:** Based on the characteristic of the polarity carotenoid compounds, the maceration method uses n-hexane as a solvent. Furthermore, the extract n-hexane was identified using TLC, it was found that carotenoid compounds were compared with beta carotene and the antioxidant activity test of carotenoid extracts showed relatively strong results compared to vitamin C. **Conclusions:** Papaya fruit contains carotenoids which have antioxidant activity.

PENDAHULUAN

Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning, orange dan merah pada sayuran maupun buah-buahan. Beberapa contoh golongan senyawa karotenoid diantaranya beta karoten, alfa karoten, likopen, lutein, astaxantin, bixin, norbixin, zheaxantin, kantaxantin dan kapxantin(Saini et al., 2022). Karotenoid memiliki banyak manfaat sehingga dapat diaplikasikan pada bidang kesehatan, nutrasetika, kosmetik dan pangan. Salah satu aplikasi senyawa golongan karotenoid ialah digunakan sebagai sumber antioksidan.

Antioksidan ialah suatu senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi lipid dalam tubuh, sehingga dapat melindungi membrane sel, lipoprotein dan asam nukleat dari reaksi tersebut. Antioksidan dapat mencegah tubuh dari efek radikal bebas seperti proses penuaan dini, kanker dan penyakit degeneratif. Antioksidan dapat bersumber dari alam maupun hasil sintesis. Antioksidan yang berasal dari alam ialah polifenol, karotenoid, vitamin C dan E. Kelebihan antioksidan dari alam ialah selain aman dikonsumsi juga mudah diserap oleh tubuh sehingga memberikan manfaat yang maksimal.(Lewerissa, 2010). Penelitian yang pernah dilakukan yaitu uji aktivitas antioksidan dari karotenoid yang berasal dari ekstrak telur lobster pasir (*Panulirus homarus*) daerah Pantai Pok Tunggal, Yogyakarta (Ngginak et al., 2017). Salah satu sumber lain yang diduga sebagai sumber antioksidan dari alam adalah buah pepaya (*Carica Papaya*).

Buah pepaya (*Carica papaya*) memiliki warna merah sehingga banyak mengandung karotenoid yang diduga memiliki peran sebagai kandidat antioksidan kuat. Buah pepaya (*Carica papaya*) banyak dihasilkan di negara-negara tropis. Ada 5 negara sebagai penghasil buah pepaya terbesar, salah satunya ialah Indonesia (Silva et al., 2019). Penelitian mengenai senyawa karotenoid yang digunakan sebagai sumber antioksidan masih jarang dilakukan dibandingkan dengan senyawa polifenol. Sehingga pada penelitian ini digunakan sampel buah pepaya (*Carica papaya*) untuk diekstraksi senyawa karotenoidnya menggunakan metode maserasi. Selanjutnya ekstrak hasil maserasi diidentifikasi secara kualitatif menggunakan pereaksi Lieberman Burchardm dan KLT dengan beta karoten sebagai standar karotenoid. Langkah terakhir yaitu ekstrak diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Lempeng KLT silica gel 60 F₂₅₄ aluminium sheets 20 x 20 cm (Merck), chamber, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), simplisia buah pepaya (*Carica papaya*), DPPH (Himedia), beta karoten (Sigma Aldrich), aquades, etanol 96% (Merck), n-heksana (Merck), benzene (Merck), petroleum eter (Merck), reagen Lieberman Burchard (Sigma Aldrich).

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan untuk objek penelitian. Determinasi dilakukan di UPT Materia Medica, Batu.

Ekstraksi Buah Pepaya

Simplisia buah pepaya sebanyak 100gram dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana selama 3x24 jam. Proses maserasi menggunakan wadah yang terlindungi dari sinar matahari

langsung. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan dengan cara diuapkan dan diperoleh ekstrak kental buah pepaya.

Uji Kualitatif Karotenoid Buah Pepaya

Uji kualitatif karotenoid yang pertama menggunakan pereaksi Liberman Burchard. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak n-heksana buah pepaya ditambahkan pereaksi dan H_2SO_4 . Sampel menunjukkan hasil positif apabila terdapat cincin cokelat yang terbentuk.

Uji kualitatif karotenoid berikutnya ialah menggunakan KLT dengan beta karoten sebagai standar pembanding. Sampel ditotolkan pada plat silika gel F254 dan dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan eluen untuk proses elusi. Eluen yang digunakan ialah campuran petroleum eter dan benzene dengan perbandingan (6:4). Proses elusi dihentikan apabila eluen telah mencapai garis batas yang telah ditentukan sebelumnya pada plat. Hasil elusi dikeringkan kemudian diamati di bawah sinar lampu UV pada Panjang gelombang 254nm dan 366nm. Selanjutnya noda yang terdapat pada plat ditandai untuk dihitung nilai Rf-nya.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh noda}}{\text{jarak yang ditempuh oleh eluen}}$$

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Pada tahap penentuan aktivitas antioksidan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Rentang panjang gelombang yang digunakan untuk optimasi ialah 500-520nm. Kemudian setelah didapatkan panjang gelombang maksimum dilanjutkan pengukuran aktivitas antioksidan dari sampel ekstrak n-heksana buah pepaya dan digunakan vitamin C sebagai standar antioksidan.

Pengukuran didahului dengan pembuatan larutan baku seri sampel ekstrak n-heksana buah pepaya dan vitamin C. Pada larutan baku seri vitamin C dibuat dengan konsentrasi 2,3,4,5,6 ppm, sedangkan untuk sampel ekstrak n-heksana buah pepaya dibuat dengan konsentrasi 20,40, 60, 80, 100ppm. Berikutnya setiap konsentrasi vitamin C dan sampel masing-masing sebanyak 2 mL direaksikan dengan 2mL DPPH 50 ppm. Campuran dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit di tempat yang gelap. Langkah selanjutnya setelah inkubasi ialah diukur serapannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang sudah ditetapkan sebelumnya. Pengukuran diulang sebanyak tiga kali. Besarnya aktivitas antioksidan vitamin C dan sampel terhadap inhibisi radikal bebas DPPH dapat diketahui melalui rumus perhitungan berikut :

$$\%inhibisi = \frac{\text{serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan blanko}} \times 100\%$$

Sedangkan untuk penentuan kuat lemahnya antioksidan perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas peredaman radikal bebas maka nilai IC_{50} dirumuskan berikut :

$$Y = a + bx$$

Pada saat $\%inhibisi = 50$, maka rumus untuk menghitung nilai IC_{50} persamaannya menjadi :

$$50 = a + bx$$

HASIL PENELITIAN

Determinasi Tanaman

Determinasi buah pepaya (*Carica papaya*) dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu. Determinasi ini dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas buah yang akan digunakan untuk objek penelitian.

Hasil Uji Kualitatif

Ekstrak n-heksana buah pepaya yang telah diberi pereaksi Lieberman Burchard memberikan hasil terbentuknya cincin cokelat, sehingga menunjukkan positif terhadap karotenoid. Uji kualitatif dilanjutkan dengan penegasan menggunakan KLT. Pada tahap ini beta karoten digunakan sebagai baku pembandingan standar karotenoid. Hasil identifikasi menggunakan KLT disajikan dalam Tabel 1 berikut ini

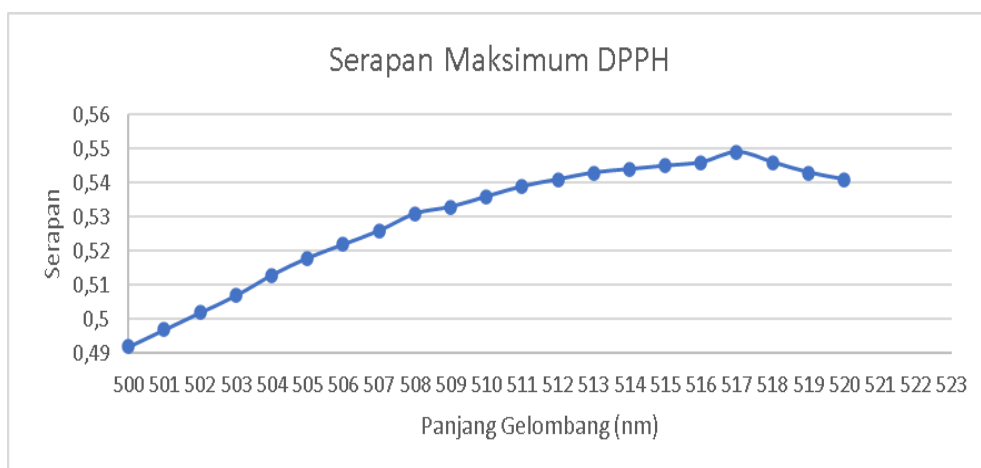
Tabel 1. Hasil Identifikasi Senyawa Karotenoid Secara KLT

Sampel	Nilai Rf	Warna Noda
Beta karoten (standar pembandingan)	0,92	Orange
Ekstrak n-heksana buah pepaya (<i>Carica papaya</i>)	0,91	Orange

Selisih nilai Rf antara beta karoten dan ekstrak n-heksana buah pepaya tidaklah signifikan, yaitu hanya 0,1. Sehingga dapat dikatakan bahwa dalam ekstrak n-heksana buah pepaya terdapat senyawa karotenoid. Hal ini diperkuat dengan noda pada plat KLT yang dihasilkan oleh ekstrak n-heksana buah pepaya juga memberikan warna orange seperti beta karoten.

Panjang Gelombang Maksimum DPPH

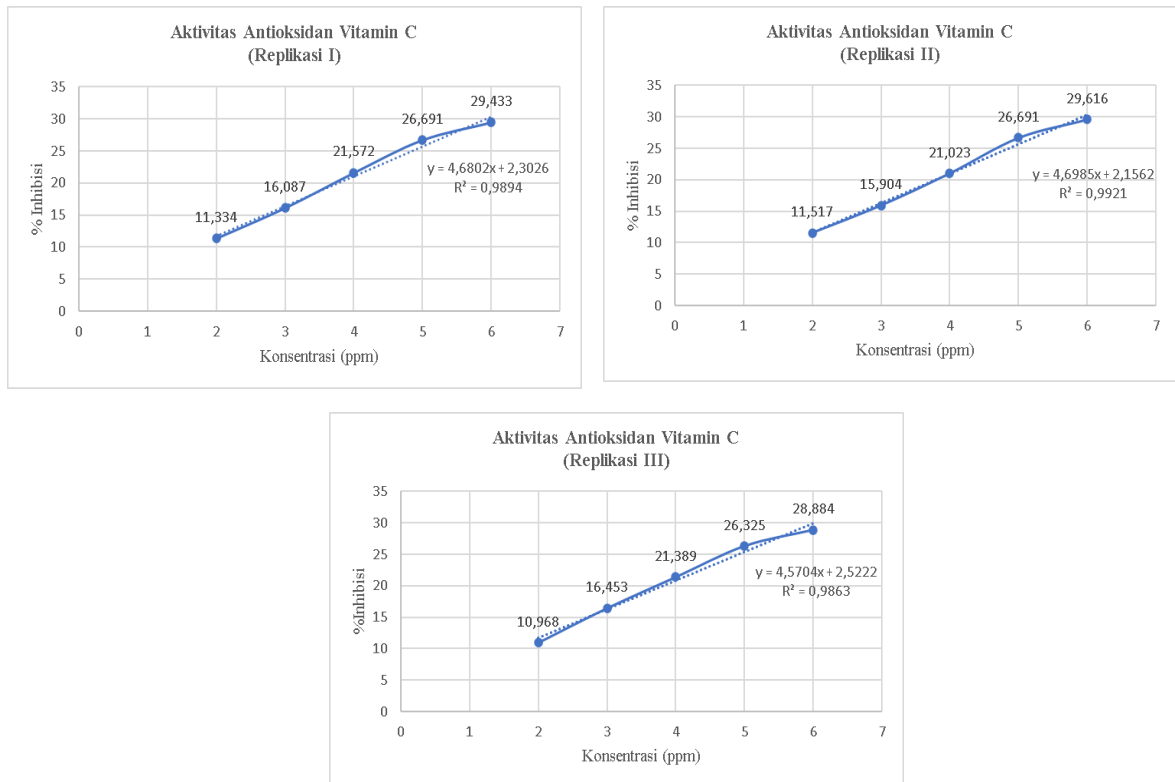
Berdasarkan hasil optimasi, panjang gelombang maksimum DPPH berada di 517 nm dengan nilai serapan 0,547. Berikut merupakan tabel hasil optimasi DPPH.



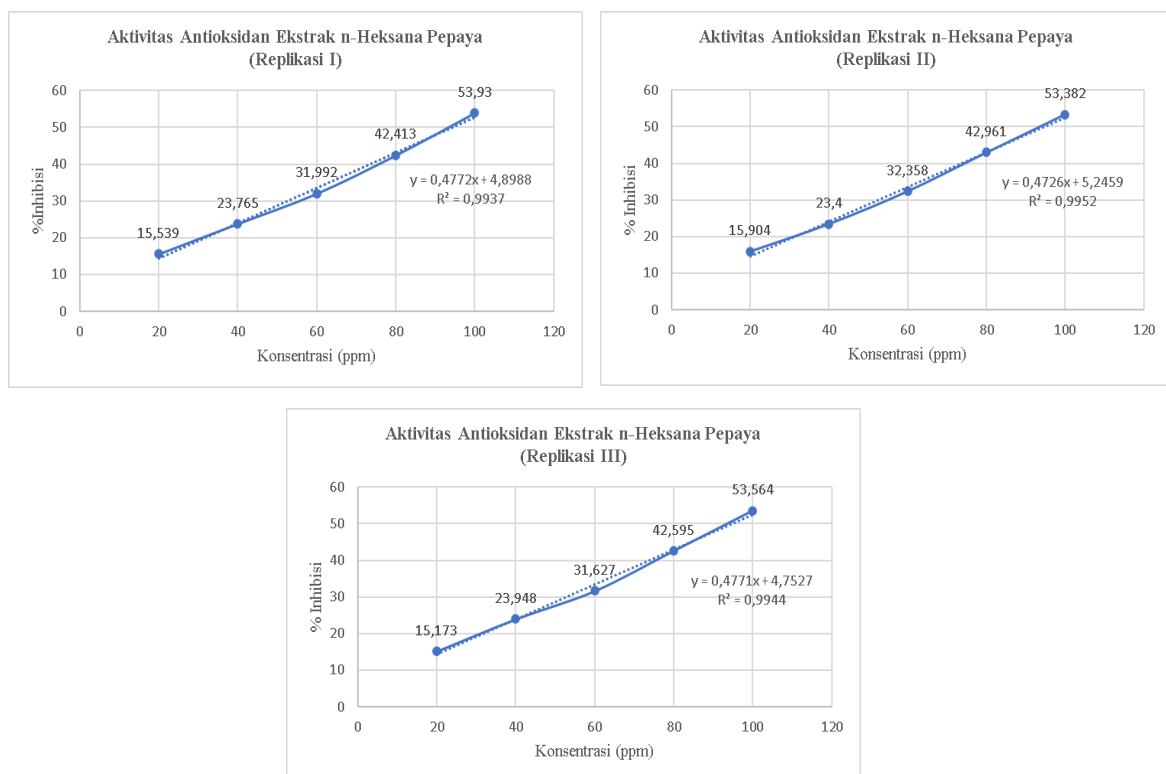
Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang DPPH

Aktivitas Antioksidan

Hasil uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak n-heksana pepaya dan vitamin C yang digunakan sebagai pembandingan, disajikan pada gambar kurva berikut ini :



Gambar 2. Kurva Aktivitas Antioksidan Vitamin C



Gambar 3. Kurva Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana Pepaya

Selanjutnya nilai IC_{50} dari aktivitas antioksidan vitamin C dan ekstrak n-heksana pepaya disajikan pada tabel berikut ini :

Tabel 2. Rata-rata IC_{50} Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Aktivitas Antioksidan Vitamin C	IC_{50} (ppm)	Rerata $\pm$ SD
Replikasi I	10,160	10,234 $\pm$ 0,125
Replikasi II	10,182	
Replikasi III	10,388	

Tabel 3. Rata-rata IC_{50} Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana Pepaya

Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana Pepaya	IC_{50} (ppm)	Rerata $\pm$ SD
Replikasi I	95,531	94,695 $\pm$ 0,154
Replikasi II	94,717	
Replikasi III	94,838	

PEMBAHASAN

Simplisia yang digunakan sebagai objek penelitian dilakukan determinasi terlebih dahulu di UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu. Tujuan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian dengan cara menyesuaikan ciri-ciri morfologi yang ada (Ekayani et al., 2021). Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel simplisia yang digunakan pada penelitian adalah benar merupakan pepaya (*Carica papaya*).

Simplisia buah pepaya kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dan n-heksana sebagai pelarutnya. Pemilihan pelarut n-heksana untuk maserasi didasarkan dari sifat polaritas senyawa karotenoid yang akan diekstraksi. Karotenoid akan larut dengan pelarut-pelarut organik yang non-polar seperti salah satunya n-heksana (Butnariu, 2016). Hasil maserasi kemudian dipekatkan dan mendapatkan ekstrak kental n-heksana buah pepaya.

Ekstrak n-heksana buah pepaya diuji kualitatif dengan analisis fitokimia menghasilkan positif terhadap karotenoid dengan ditunjukkan terbentuknya cincin coklat pada batas permukaan ekstrak yang telah ditambahkan reagen Lieberman-Burchard dan H_2SO_4 . Perubahan warna terbentuknya cincin coklat pada sampel terjadi karena adanya reaksi oksidasi pada senyawa yang diekstraksi melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Illing et al., 2017). Uji kualitatif berikutnya ialah diidentifikasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan beta karoten sebagai baku pembandingnya. Eluen yang digunakan ialah petroleum eter dan benzena dengan perbandingan 6:4. Pemilihan eluen didasarkan dari karotenoid yang bersifat nonpolar. Selanjutnya hasil elusi yang berupa noda diamati di bawah sinar lampu UV pada Panjang gelombang 254nm dan 366nm. Noda sampel dan baku pembanding hasil elusi menunjukkan warna orange. Selanjutnya dihitung nilai R_f pada tiap noda sampel dan baku pembanding diperoleh secara berturut-turut 0,92 dan 0,91 dengan selisih hanya 0,1. Berdasarkan warna noda dan selisih nilai R_f yang tidak signifikan, hal tersebut menunjukkan bahwa karotenoid yang terdapat pada sampel identik dengan baku pembanding.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak n-heksana buah pepaya setelah terkonfirmasi bahwa mengandung senyawa karotenoid. Uji aktivitas antioksidan menggunakan

metode DPPH yang didahului dengan optimasi panjang gelombang. Panjang gelombang optimum DPPH yang didapatkan yaitu 517nm dan larutan berwarna ungu violet. Panjang gelombang tersebut yang akan digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan. DPPH dapat teridentifikasi di daerah visibel karena memiliki gugus kromofor dan auksokrom. Kromofor ialah gugus yang dapat menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak/visibel (Sadeli, 2016). Aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak n-heksana buah pepaya dilakukan dengan vitamin C sebagai pembanding positif antioksidan kuat. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan parameter IC_{50} yang didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk berikatan dengan DPPH sebesar 50%. Makin kecil nilai IC_{50} yang diberikan maka aktivitas antioksidannya makin kuat (Faisal & Handayani, 2019). Hasil uji menunjukkan bahwa sampel dan vitamin C memberikan nilai IC_{50} rata-rata secara berturut yaitu 94,69 dan 10,23.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil ekstraksi dan uji kualitatif yang telah dilakukan, buah pepaya (*Carica papaya*) mengandung senyawa karotenoid. Selanjutnya hasil analisis uji antioksidan ekstrak n-heksana buah pepaya memberikan nilai IC_{50} sebesar 94,69.

SARAN

Diharapkan pada penelitian berikutnya menggunakan beta karoten sebagai baku pembanding positif antioksidannya.

REFERENSI

- Butnariu, M. (2016). Methods of Analysis (Extraction, Separation, Identification and Quantification) of Carotenoids from Natural Products. *Journal of Ecosystem & Ecography*, 6(2)
- Ekayani, M., Juliantoni, Y., Hakim, A., Farmasi, J., Kedokteran, F., Mataram, U., Kimia, P., Keguruan, F., & Mardianaekayanigmailcom, E. (2021). Uji Efektitas Larvasida dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Losio Antinyamuk Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*). *Jurnal Inovasi Penelitian*. 2(4).
- Faisal, H., & 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* . 02(2), 6–13.
- Illing, Ilmiati., Safitri., Wulan., Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*. 08(1), 66–84.
- Lewerissa, K. B. (2010). Carotenoids and Their Health Benefits. *Proceedings of NP-SEA*. 113–117.
- Ngginak, J., Mangibulude, J. C., & Rondonuwu, F. S. (2017). The Identification of Carotenoids and Testing of Carotenoid Antioxidants from Sand Lobster (*Panulirus homarus*) Egg Extract. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*. 22(3), 155–160

Sadeli, Richard A. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta

Saini, R. K., Prasad, P., Lokesh, V., Shang, X., & Shin, J. (2022). Carotenoids : Dietary Sources , Extraction , Encapsulation , Bioavailability , and Health Benefits — A Review of Recent Advancements. *Antioxidants*.

Silva, W. B., Filho, A. G., & Paull, R. (2019). Papaya. *Postharvest Physiological Disorder*.