

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUMBU BIRYANI SECARA INVITRO BESERTA SKRINING FITOKIMIANYA

Achmad Wildan\*, Erlita Verdia Mutiara, Dewi Ramonah  
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”, Indonesia

\*Email : achmadwildan58@gmail.com

### Abstrak

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghalangi terjadinya proses oksidasi atau menghambat radikal bebas, sehingga atom yang mempunyai elektron tidak berpasangan (radikal) berikatan dengan radikal lain sehingga menjadi stabil. Antioksidan dapat diperoleh salah satunya dari bumbu yang dikonsumsi sehari-hari sebagai pelengkap masakan. Bumbu biryani merupakan bumbu masakan dari Timur Tengah yang kaya akan kandungan rempah-rempah seperti kunyit, jinten, kapulaga, kayu manis, cengkeh dan sebagainya. Bumbu biryani mempunyai kandungan senyawa fenolik dan flavanoid yang tinggi. Kandungan senyawa tersebut diduga memberikan kontribusi besar dalam menghambat radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam bumbu biryani dan mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bumbu biryani secara *in vitro*. Metode remaserasi menggunakan etanol 96% untuk mengekstraksi bumbu biryani. Skrining fitokimia dilakukan secara kromatografi lapis tipis (KLT) dan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) digunakan dalam uji aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol bumbu biryani memiliki kandungan senyawa fenolik, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol bumbu biryani dinyatakan sebagai  $EC_{50}$  adalah 11147,4527 ppm.

**Kata kunci:** aktivitas antioksidan, biryani, DPPH, radikal bebas, skrining fitokimia

### PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi dan perubahan pola hidup mengakibatkan tubuh manusia rentan mengidap penyakit terutama penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, arterosklerosis dan juga proses penuaan dini. Penyakit tersebut berkaitan dengan radikal bebas. Radikal bebas adalah spesi kimia yang mempunyai satu atau lebih elektron bebas di kulit terluar sehingga bersifat reaktif. Radikal ini mampu menghasilkan reaksi berantai (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Apabila reaksi berantai ini berada dalam tubuh maka akan menyebabkan kerusakan-kerusakan yang berkelanjutan. Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghalangi terjadinya proses oksidasi atau menghambat radikal bebas, sehingga atom yang mempunyai elektron tidak berpasangan (radikal) berikatan dengan radikal lain sehingga menjadi stabil. Antioksidan alami ada yang didapat dari luar tubuh antara lain vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, xantofil dan flavonoid. Antioksidan dalam makanan dapat diperoleh terutama dalam rempah-rempah, biji-bijian, sayuran dan buah-buahan. Salah satu bumbu rempah-rempah yang banyak mengandung antioksidan adalah bumbu biryani (Hernani dan Rahardjo, 2005).

Bumbu biryani berisi campuran rempah-rempah yang mengandung senyawa-senyawa antioksidan yang dapat mengikat radikal bebas (Sargowo, 2005). Campuran rempah-rempah ini berasal dari tanaman herbal antara lain kunyit, jinten, kapulaga, kayu manis, daun salam, ketumbar, jahe, bawang bombay dan bawang putih. Salah satu senyawa antioksidan pada bumbu biryani adalah kurkumin yang merupakan golongan senyawa fenolik yang banyak terdapat pada tanaman herbal (Yurttas dkk., 2002). Hal ini mendorong dilakukannya penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak bumbu biryani secara *in vitro*.

### METODE PENELITIAN

#### Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bumbu biryani yang diperoleh dari pasar tradisional Mekkah Saudi Arabia. Bahan kimia yang digunakan adalah DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), asam askobat, dapar fosfat 0,2 M (pH 6,6),  $K_3Fe(CN)_6$  1%, etanol

---

70%, amonia, asam oksalat 1%, aquabidest, etil asetat, kloroform, butanol, AlCl<sub>3</sub>, n-heksana, FeCl<sub>3</sub>, asam sulfat pekat, aquadest, metanol, NH<sub>4</sub>OH.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis *double beam* (Shimadzu UV-Vis 1700 series), neraca analitik (Sartorius 2402), *rotary vacum evaporator*, alat-alat gelas (Iwaki pirex), *waterbath*, ayakan 30/40, tabung reaksi, pipa kapiler, plat tetes, *chamber*, lempeng Silika Gel GF 254, lampu UV 254 nm, kuvet, *filler*, *vortex*, *stopwatch*.

### Prosedur Percobaan

Serbuk bumbu biryani sebanyak 200 gram diremaserasi selama 3 hari dengan cara hari pertama direndam dengan pelarut etanol konsentrasi 96% sebanyak 1000 mL, hari kedua ekstrak disaring menggunakan kain flannel kemudian ampas direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500 mL, hari ketiga ekstrak disaring lagi kemudian ampas direndam lagi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 500 mL. Ekstrak selanjutnya digabung dan dimasukkan ke dalam cawan porselen. Selanjutnya dilakukan penguapan dengan alat *rotary vacum evaporator* dan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental.

Skrining fitokimia ekstrak etanol bumbu biryani dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis (KLT) meliputi uji flavonoid, uji tanin, uji saponin dan uji triterpenoid. Uji KLT flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak biryani ditotolkan pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub>, selanjutnya dilakukan elusi menggunakan eluen n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5). Setelah lempeng kering kemudian dideteksi dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm serta diberi uap ammonia pekat. Noda warna kuning, coklat atau biru yang terbentuk menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Marliani, L., 2012).

Uji KLT pada tanin dilakukan dengan cara ekstrak biryani ditotolkan pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub>. Selanjutnya dilakukan elusi menggunakan eluen metanol - air (6 : 4). Setelah lempeng kering kemudian dideteksi dengan sinar UV 254 nm dan disemprot menggunakan larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Terbentuknya noda warna biru kehitaman, hijau, hijau kehitaman atau biru kehijauan menunjukkan adanya kandungan tanin (Yuda dkk., 2017).

Uji KLT pada saponin dilakukan dengan cara ekstrak biryani ditotolkan pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub>. Kemudian dilakukan elusi menggunakan eluen kloroform – metanol – air (64 : 50 : 10). Setelah lempeng kering kemudian dideteksi dengan sinar UV 254 nm dan disemprot dengan anisaldehyd - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (p), dipanaskan dengan oven pada suhu 110°C selama 5-10 menit. Terbentuknya noda warna biru, violet dan kadang-kadang kekuningan menunjukkan adanya saponin (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Uji KLT pada terpenoid dilakukan dengan cara ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, ditotolkan pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub>. Lempeng silika gel GF<sub>254</sub> dimasukkan dalam bejana berisi eluen n-heksana: etil asetat (4:6) yang telah jenuh. Dielusi sampai batas jarak pengembangan lalu dikeringkan. Penampak bercak yang digunakan yaitu KMnO<sub>4</sub>, positif mengandung triterpenoid apabila muncul noda berwarna kuning, coklat, lembayung (Harbone, 1987)

Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara in vitro dengan metode DPPH. Mula-mula dibuat larutan baku induk 1000 ppm. Sepuluh miligram asam askorbat dimasukkan labu takar 10 ml dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Selanjutnya dari larutan baku induk 1000 ppm diambil masing-masing 0,2; 0,8; 1,4; 2,0; dan 2,6 ml dan dimasukkan labu ukur 10 ml yang berbeda dan ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas kemudian dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar 1000 ppm asam askorbat yakni 20, 80, 140, 200, dan 260 ppm. Dipipet 4,0 ml larutan DPPH 0,07 mM ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang masing-masing deret berisi 50 µl. selanjutnya diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah diinkubasi, ditambahkan 1 ml trikloro acetic acid (TCA) selanjutnya diaduk dengan alat sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifugasi selanjutnya diambil seksama 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 ml akuades dan 0,5 ml FeCl<sub>3</sub> 0,1%. Larutan didiamkan sesuai *Operating Time* (OT) dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Sebagai blangko digunakan metanol p.a. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan asam askorbat dengan berbagai konsentrasi. Ekstrak etanol bumbu biryani dibuat larutan baku induk 10000 ppm. Dari larutan baku induk tersebut dibuat deret larutan dengan konsentrasi 1000, 3100, 5200, 7300, 9400 ppm. Dari deret tersebut dapat dibuat persamaan garis regresi liniernya dan dihitung nilai

EC<sub>50</sub>. Untuk sampel ekstrak biryani dipipet 4,0 ml DPPH 0,07 mM selanjutnya ditambahkan 50 µl sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diaduk dengan vortex ± 1 menit, diinkubasi 40 menit, diukur absorbansi dengan spektrofotometri UV-Vis. Larutan didiamkan sesuai *Operating Time* (OT) dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam bumbu biryani dan mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bumbu biryani secara *in vitro*.

Skrining fitokimia senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol bumbu biryani dilakukan secara kromatografi lapis tipis (KLT). Fase diam yang digunakan adalah lempeng silika gel G 60 F254. Hasil uji KLT ditunjukkan pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol Bumbu Biryani**

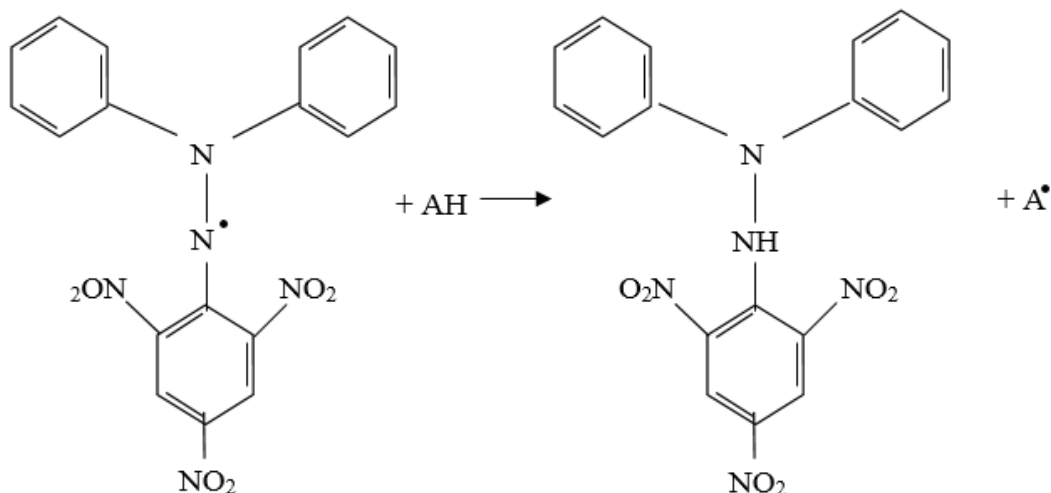
Jenis Uji	Sampel	Rf	Warna Noda Pada Penampak Bercak
Flavonoid	Baku Kurkumin	0,84	Kuning
	Ekstrak	0,89	Kuning
Fenolik	Baku Kurkumin	0,74	Coklat
	Ekstrak	0,78	Coklat
Tanin	Ekstrak	0,55	Biru Kehitaman
Saponin	Ekstrak	0,52	Hijau Lembayung
Steroid/Terpenoid	Ekstrak	0,79;0,53	Ungu
Alkaloid	Ekstrak	0,23	Coklat

Hasil keseluruhan identifikasi menggunakan KLT memberikan hasil bahwa ekstrak etanol bumbu biryani mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan alkaloid. Hal ini ditunjukkan dari nilai Rf dan warna noda yang terbentuk dari penampang bercak

Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar antioksidan ekstrak etanol bumbu biryani menggunakan metode *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH). DPPH adalah suatu senyawa kimia yang berupa radikal nitrogen organik yang tidak stabil dan membeikan warna ungu jika dilarutkan dalam alkohol. DPPH diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH lebih sering digunakan karena mempunyai keuntungan antara lain pengerjaannya lebih sederhana, sensitifitasnya tinggi, waktu yang dibutuhkan relatif cepat dan akurat.

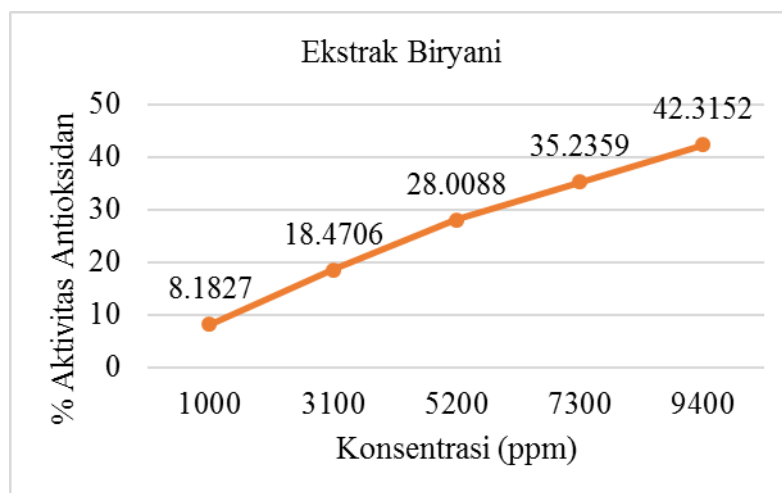
Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak etanol bumbu biryani dengan menggunakan baku pembanding vitamin C. Baku pembanding vitamin C diperlakukan sama seperti ekstrak etanol bumbu biryani untuk menghasilkan absorbansi antara 0,2 hingga 0,8. Selama pengujian aktivitas antioksidan menggunakan labu takar yang tertutup rapat dari cahaya dan didinginkan. Alasan tertutup rapat untuk mencegah adanya pengaruh cahaya selama terjadi reaksi peredaman radikal DPPH oleh ekstrak maupun baku vitamin C. Alasan pendinginan dikarenakan sifat dari DPPH yang tidak stabil pada kondisi temperatur kamar.

Pengujian kemampuan antioksidan meredam radikal bebas dengan metode DPPH didasarkan pada kemampuan suatu antioksidan dalam menurunkan intensitas warna ungu dari radikal DPPH. Keberadaan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan (AH) dalam mereduksi radikal DPPH ditunjukkan dengan reaksi sebagai berikut :



**Gambar 1. Reaksi antara DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Molyneux, 2004)**

Penambahan senyawa yang mempunyai kemampuan aktivitas antioksidan dapat menurunkan intensitas warna ungu dari radikal DPPH. Berkurangnya intensitas warna ini menggambarkan penurunan konsentrasi DPPH yang diberi senyawa uji dibanding dengan absorbansi larutan kontrol. Pada rentang konsentrasi percobaan, peningkatan aktivitas antioksidan sebanding dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak etanol bumbu biryani maupun baku vitamin C. Molekul DPPH yang tersisa dapat dibaca serapannya oleh spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  maks 514 nm ditandai dengan berkurangnya atau hilangnya warna ungu dari radikal DPPH (namun diharapkan masih berupa warna kuning pucat yaitu warna golongan pikril) (Molyneux, 2004). Kurva aktivitas antioksidan rata-rata dari bumbu biryani adalah sebagai berikut :



**Gambar 2. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bumbu Biryani**

Nilai  $EC_{50}$  didapat melalui perhitungan dari persamaan regresi linier. Persamaan ini menunjukkan hubungan antara konsentrasi senyawa uji atau sampel (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) dari suatu seri pengukuran. Harga  $EC_{50}$  berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Semakin besar nilai  $EC_{50}$  maka, kemampuan suatu senyawa yang bersifat sebagai antioksidan semakin kecil. Dari data di atas dibuat persamaan regresi linier untuk masing-masing replikasi dan  $EC_{50}$  sebagai berikut :

**Tabel 2. Persamaan Regresi Linier dan EC<sub>50</sub> Ekstrak Bumbu Biryani**

No	Pers. Regresi linier	EC <sub>50</sub> (ppm)	Rata- rata EC <sub>50</sub>
1.	Y = bx + a Y = 0,0037x + 4,9374 R = 0,9977	12179,0811	
2.	Y = bx + a Y = 0,0046x + 4,1475 R = 0,9952	9967,9348	11147,4527
3.	Y = bx + a Y = 0,0038x + 7,0777 R = 0,9801	11295,3421	

Sebagai pembanding adanya aktivitas antioksidan digunakan baku pembanding vitamin C. Hasil persamaan regresi linier baku pembanding dan dihitung EC<sub>50</sub> seperti di bawah ini :

**Tabel 3. Persamaan regresi linier dan EC<sub>50</sub> baku Vitamin C**

No	Pers. Regresi linier	EC <sub>50</sub> (ppm)	Rata- rata EC <sub>50</sub>
1.	Y = bx + a Y = 0,1924x + 11,5134 R = 0,9762	200,0343	
2.	Y = bx + a Y = 0,2098x + 9,4412 R = 0,9847	193,3213	196,2719
3.	Y = bx + a Y = 0,2113x + 8,6993 R = 0,9847	195,4600	

Berdasarkan persen aktivitas antioksidan yang diperoleh, ekstrak etanol bumbu biryani dengan konsentrasi 9400 bpj dapat memberikan persen peredaman sebesar 42,31%, dengan nilai EC<sub>50</sub> sebesar 11147,4527. Hal ini berkaitan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol bumbu biryani maka diperoleh persen aktivitas antioksidan yang semakin meningkat. Dari hasil EC<sub>50</sub> ekstrak etanol bumbu biryani jauh lebih kecil dibandingkan baku vitamin C, hal ini menunjukkan kemampuan peredaman radikal bebas ekstrak etanol bumbu biryani masih kecil.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol bumbu biryani mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan alkaloid. Ekstrak etanol bumbu biryani dengan konsentrasi 9400 bpj dapat memberikan persen peredaman sebesar 42,31%, dengan nilai EC<sub>50</sub> sebesar 11147,4527.

## DAFTAR PUSTAKA

- Halliwell, B and Gutteridge, J. M.C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*. 3<sup>rd</sup> Edition. New York: Oxford University Press
- Harborne, JB. 1987. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira. Bandung: ITB Press
- Hernani dan Rahardjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Cetakan I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Marliani, L. 2012. Aktivitas Antibakteri dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan PKM: Sains, Teknologi, dan Kesehatan. Bandung. Hal. 1-6.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrilhidrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. J. Sci. Technol. **26** (2): 211- 219.
- Sargowo, D., 2005, *Peran Lipid dan Oksidasi Lipoprotein pada Patogenesis Aterosklerosis*.
- Wardhani, L. K. dan Sulistyani, N. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Etil Asetat Daun Binahong (Anredera scandens(L.) Moq) Terhadap Shigella flexeri Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Jurnal Ilmiah Kefarmasian 2(1):14

- 
- Yuda P.E., Cahyaningsih, E., Winariyanthi N. L. 2017. *Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (Euphorbia hirta L.)*. Medicamento. 3(2): 61-70.
- .Yurttas, H.C., Schafer, H.W. and Warthesen, J.J. (2000). Antioxidant activity of nontocopherol hazelnut (*Corylus spp.*) phenolics. *Journal of Food Science* 65: 276280.