

**KANDUNGAN BETA KAROTEN DAN AKTIVITAS PENANGKAPAN
RADIKAL BEBAS TERHADAP DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil)
EKSTRAK BUAH BLEWAH (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L.)
SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL**

**BETA CAROTENE CONTENT AND FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF
CANTALOUPE (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L.) EXTRACT AGAINST
DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) USING UV-VISIBLE
SPECTROPHOTOMETRY METHOD**

Aprilia Kusbandari*), Hari Susanti

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H., Janturan, Warungboto, Umbulharjo, D.I. Yogyakarta 55164

Received May 23, 2016; Accepted September 2, 2016

ABSTRACT

*Cantaloupe (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L.), a fruit containing some compounds, have activity to protect human body from free radical. The beta carotene (provitamin A) was recognized as antioxidant compound. Antioxidants could protect the body from cardiovascular damage caused by free radical. The aims of this study was to determine the levels of beta carotene and antioxidant activity (IC_{50}) from *Cucumis melo* var. *cantalupensis* L. extract using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Cantaloupe was extracted using n-hexan-acetone-methanol ratio (2: 1: 1). Identification of beta carotene was performed using 25% antimony trichloride reagent followed by TLC and UV-Vis spectrum test compared with beta carotene as standard. The content of beta carotene and free radical scavenging activity was measured spectrophotometrically at 425 nm. The beta carotene level of cantaloupe was 3.171 ± 0.150 %. The antioxidant activity, presented as IC_{50} value of cantaloupe extract, was 12.137 ± 0.44 μ g/mL and the antioxidant activity of standard beta carotene was 2.15 ± 0.172 μ g/mL. The cantaloupe extract contained beta carotene compounds but the antioxidant activity of extract was lower than beta carotene standard.*

Keywords: cantaloupe, beta carotene, DPPH

ABSTRAK

Blewah (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* L.) merupakan buah yang banyak mengandung senyawa yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Buah ini mengandung beta karoten (provitamin A) yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan menangkap radikal bebas tubuh dan menjaga sistem kardiovaskuler dan melindungi usus besar dari kanker. Penelitian ini bertujuan mengetahui kadar beta karoten dan mengetahui aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak blewah (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* L.) dengan menggunakan metode DPPH (1,1–difenil–2–pikrilhidrazil). Blewah diekstraksi dengan menggunakan n-hexan-aseton-metanol dengan perbandingan (2:1:1). Identifikasi beta karoten dilakukan dengan pereaksi antimon triklorida 25%, uji KLT dan uji spektra UV-Vis dengan pembanding standard beta karoten. Kadar beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas diuji metode spektrofotometri pada 425 nm.

*Corresponding author: Aprilia Kusbandari
Email: kusbandari80@yahoo.com

Data yang diperoleh diolah secara statistik. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak blewah diperoleh kadar $3,171 \pm 0,150$ %, menghasilkan IC_{50} $12,137 \pm 0,44$ $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} beta karoten standardt sebesar $2,15 \pm 0,172$ $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak blewah mempunyai aktifitas penangkapan radikal bebas lebih rendah dibandingkan standardnya.

Kata kunci: blewah, beta karoten, DPPH

PENDAHULUAN

Beta karoten merupakan pigmen organik berwarna kuning, oranye atau merah oranye yang dapat terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, ganggang, beberapa jenis jamur dan bakteri (Dutta, 2005). Beta karoten dapat larut dalam lemak, tidak larut dalam air, mudah rusak karena teroksidasi pada suhu tinggi. Beta karoten dapat dipercaya dapat menurunkan risiko penyakit jantung dan kanker. Beta karoten banyak terdapat di aprikot, tomat, mangga, wortel dan pepaya. Konsumsi beta karoten sebanyak 50 mg tiap hari dalam menu makanan dapat mengurangi risiko terkena penyakit jantung (Kosasih and Setiabudi, 2004).

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Halliwell and Gutteridge, 2007). Radikal bebas dapat terbentuk melalui peristiwa metabolisme sel normal, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi dan sinar ultraviolet. Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif karena radikal bebas dapat merusak makromolekul lipid membran sel, DNA, dan protein (Valko *et al*, 2006).

Antioksidan dalam pengertian biologis adalah semua senyawa yang dapat meredam dan atau menonaktifkan serangan radikal bebas dan ROS atau *Reactive Oxygen Species* (Halliwell and Gutteridge, 2007). Antioksidan dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan dapat menurunkan risiko

terjadinya penyakit kronis seperti kanker dan jantung koroner (Amrun *et al*, 2007).

Blewah merupakan tanaman satu keluarga dengan melon, labu dan mentimun. Blewah mengandung kadar air lebih dari 90%. Selain itu juga mengandung serat, vitamin C, kalium dan pro vitamin A. Blewah mengandung betakaroten 2,029 mg/100 g, kalium 267 mg/100 g dan vitamin C 36,7 mg/100 g, serat 0,9 g/100 g. Betakaroten yang terkandung dalam blewah akan dirubah menjadi provitamin A. Selain itu blewah juga mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, polifenol, asam malonat dan saponin. Data ilmiah tentang analisis kandungan blewah masih terbatas. Kandungan blewah dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan daya tahan tubuh, menguatkan fungsi ginjal dan limfa, juga menurunkan tekanan darah. Betakaroten berperan dalam fungsi faal tubuh seperti penglihatan, defferensiasi sel, kekebalan, pertumbuhan dan perkembangan, reproduksi serta pencegahan kanker dan penyakit jantung (Sunarjono and Ramayulis, 2012).

Metode pengujian aktivitas pengkapan radikal bebas dapat dilakukan secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Uji kualitatif digunakan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa antioksidan. Hal ini dapat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas dan dapat juga menggunakan uji tabung dengan antimon triklorida dengan konsentrasi 25% dengan terjadi perubahan warna menjadi biru. Metode dapat memisahkan campuran antioksidan yang kompleks sekalipun. Sedangkan uji kuantitatif dapat dilakukan dengan penambahan DPPH sebagai pereaksi. Pada metode DPPH, antioksidan bereaksi dengan larutan DPPH sehingga dihasilkan DPPH tereduksi yang ditandai dengan perubahan

warna ungu menjadi kuning. Pertimbangan dari metode tersebut karena pada uji pendahuluan aktivitas penangkapan radikal bebas dengan menggunakan pereaksi DPPH sampel mampu menangkap radikal bebas DPPH yang ditandai dengan pengurangan intensitas warna ungu dari DPPH. Faktor lain dipilihnya metode DPPH karena metode ini merupakan metode yang relatif mudah dan sederhana dalam pengerjaannya (Prakash *et al*, 2001).

Sehubungan dengan keterangan di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui seberapa besar kandungan beta karoten dalam blewah dan apakah blewah mempunyai aktifitas penangkapan radikal bebas (antioksidan).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daging buah blewah, standard beta karoten, DPPH, antimon triklorida, etanol p.a., heksana p.a., aseton p.a., aquadestilata.

Sedangkan alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak blewah adalah peralatan gelas, neraca, blender, magnetik stirer, corong pisah, corong Buchner. Untuk mengidentifikasi beta karoten digunakan kromatografi lapis tipis, lampu UV 254 nm, spektrofotometer UV-VIS Pharmaspec UV-1700 Shimadzu.

Pembuatan ekstrak

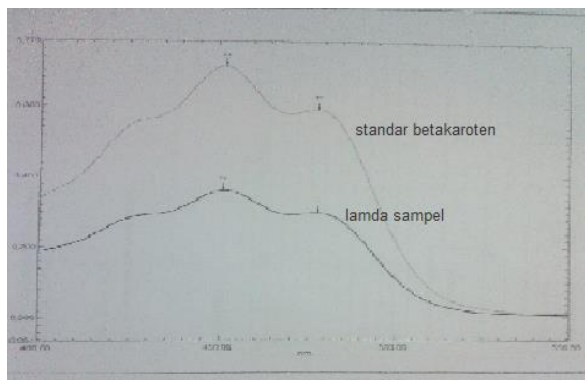
Pembuatan ekstrak blewah dilakukan dengan maserasi dengan menggunakan enyari heksana:aseton:etanol (2:1:1 v/v). Filtrat (maserat) kemudian ditambah dengan 10,0 ml aquadest dan diekstraksi menggunakan corong pisah sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan polar diekstraksi lagi hingga diperoleh filtrat jernih. Lapisan non polar yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan sampai didapat ekstrak kering. Ekstrak tersebut dilarutkan dalam 10,0 ml etanol p.a. untuk ditetapkan kadar dan dilakukan uji penangkapan radikal bebas.

Tabel I. Hasil uji penangkapan radikal bebas DPPH oleh beta karoten

No.	% Penangkapan radikal bebas DPPH konsentrasi (µg/mL)					Persamaan regresi linier	r hitung	IC ₅₀ (µg/mL)	Rata-rata±SD (µg/mL)
	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0				
1	27,144	39,957	52,443	63,626	68,078	y=21,1x + 8,034	0,975	1,99	2,150±0,172
2	31,813	39,957	47,774	52,117	59,066	y=13,3x + 19,47	0,989	2,30	
3	32,139	42,237	46,363	53,529	58,523	y=12,8x + 20,93	0,987	2,27	
4	29,316	39,305	48,100	54,506	60,586	y=15,5x +15,26	0,987	2,24	
5	31,053	40,608	51,900	64,604	69,055	y=20,0x +11,44	0,983	1,93	

Tabel II. Hasil uji penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak blewah

No.	% Penangkapan radikal bebas DPPH konsentrasi (µg/mL)					Persamaan regresi linier	r hitung	IC ₅₀ (µg/mL)	Rata-rata±SD (µg/mL)
	17,5	15,0	12,5	10,0	7,5				
1	65,728	60,832	46,756	38,923	31,824	y= 4,244x - 6,719	0,9801	12,8310	12,137±0,443
2	67,564	58,140	49,939	44,920	34,639	y= 3,162x +11,506	0,9906	12,1709	
3	72,460	63,647	53,856	44,431	32,681	y= 3,951x + 4,026	0,9974	11,6358	
4	70,379	63,647	49,939	41,738	31,457	y = 3,990x +1,554	0,9917	12,1411	
5	74,051	65,728	54,590	42,840	27,173	y = 4,666x - 5,556	0,9875	11,9070	



Gambar 1. Overlay spektra lambda larutan betakaroten dan larutan uji

Identifikasi beta karoten

Identifikasi beta karoten dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, metode *Carr-Price* (Andarwulan and Koswara, 1992). Selain itu dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dilakukan dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak heksana:aseton:etanol (1:1:4 v/v), arah elusi menaik, detektor bercak UV 254.

Penetapan kadar beta karoten

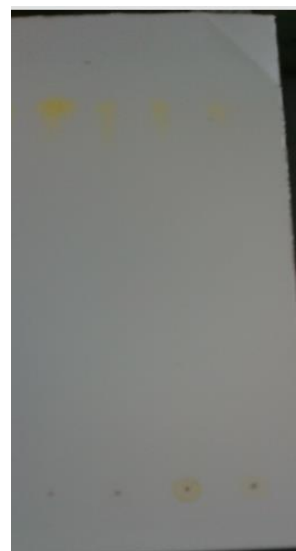
Penetapan kadar beta karoten dilakukan dengan :

Penentuan operating time. Sebanyak 1,0 ml larutan standard diamati serapannya selama 90 menit pada panjang gelombang 452 nm.

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum. Sebanyak 1,0 ml standard beta karoten diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 350-600 nm.

Pembuatan kurva baku. Larutan standard beta karoten dibuat beberapa seri konsentrasi dan dibaca serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum. Data yang diperoleh dipergunakan untuk mendapat persamaan regresi linier.

Pembacaan serapan ekstrak. Sebanyak 1,0 ml ekstrak buah blewah dalam etanol p.a. dibaca serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh. Serapan



Gambar 2. Hasil uji KLT. Fase diam: Silica gel F₂₅₄; fase gerak: heksana:aseton:etanol (1:1:4 v/v)

yang diperoleh dipergunakan untuk menghitung kadar beta karoten menggunakan persamaan regresi linier dari kurva baku beta karoten standard.

Uji aktifitas penangkapan radikal bebas (Susanti, 2010)

Penangkapan radikal bebas DPPH oleh ekstrak etanol buah blewah diukur dengan mengukur penurunan serapan larutan DPPH pada panjang gelombang 516 nm dengan adanya ekstrak. Serapan DPPH 0,15 mM dibaca sebelum ditambah ekstrak dan setelah 30 menit ditambah ekstrak.

Analisis data

Data yang diperoleh adalah % *Effective Scavenging* dan konsentrasi senyawa uji kemudian diolah menggunakan analisis regresi linier untuk mendapatkan konsentrasi penangkapan radikal 50% (IC₅₀). Aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung dengan:

$$\% \text{ penangkapan} = \frac{A_{\text{neg}} - A_s}{A_{\text{neg}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{neg} = Absorbansi kontrol negatif

A_s = Absorbansi sampel

(Susanti, 2010)

IC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan untuk menurunkan serapan sebesar 50% dari awal. Hal ini dapat ditentukan dengan persamaan garis regresi antara % penangkapan vs konsentrasi. Semakin kecil harga IC₅₀ maka semakin besar aktifitas penangkapan radikal bebasnya (antioksidan). Untuk pembandingan senyawa digunakan standard beta karoten.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam uji kualitatif dengan menggunakan antimon tikioksid terjadi perubahan warna dari oranye menjadi biru. Hal ini membuktikan bahwa sampel mengandung karotenoid. Senyawa karotenoid dengan antimon trioksid melalui jalur *Anhydroretinil* (Anhydrovitamin A) yang membentuk kompleks trigonal bipiramidal geometri yang mengelilingi atom antimon (Synnove, 2008). Kompleks ini menghasilkan perubahan warna dari kuning oranye menjadi biru yang tidak stabil (bertahan selama lebih kurang 10 detik). Selain itu dilakukan uji kemiripan spektra. Pada uji ini spektra standard beta karoten memiliki 2 puncak yaitu pada panjang gelombang 452,10 nm dan 478,20 nm sedang ekstrak memiliki 2 puncak yaitu pada panjang gelombang 450,20 nm dan 477,60 nm (Gambar 1).

Oleh karena spektra standard beta karoten mirip dengan spektra larutan ekstrak blewah, maka disimpulkan bahwa ekstrak mengandung beta karoten. Menurut Upstone (2000), perbedaan panjang gelombang sebesar 1-2 nm masih dapat diterima. Selain itu uji kualitatif juga dilakukan dengan kromatografi lapis tipis, adanya beta karoten ditunjukkan dengan adanya *spot* (titik) pada kandungan sampel yang mempunyai harga faktor retardasi (R_f) yang sama dengan standard beta karoten (Sumar, 2010). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 ditunjukkan standard beta karoten muncul satu spot dengan harga R_f spot standard beta karoten adalah 0,87. Harga R_f pada spot larutan sampel berturut-turut adalah 0,87; 0,87; dan 0,86. Kadar senyawa beta karoten dalam sampel sebesar

3,171±0,150% dengan CV sebesar 4,74. Aktivitas antioksidan standard beta karoten dan ekstrak blewah terlihat pada penurunan serapan DPPH. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Pada Tabel 1 dan 2 terlihat bahwa ekstrak blewah memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang lebih rendah dibandingkan standard beta karoten. Hal ini terlihat pada harga IC₅₀ beta karoten 2,15±0,172 µg/mL < IC₅₀ ekstrak blewah 12,137±0,443 µg/mL. Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa menangkap radikal DPPH, semakin kecil IC₅₀ maka semakin besar kemampuan senyawa untuk menangkap radikal bebas. Standard beta karoten memiliki potensi antioksidan lebih besar dibandingkan ekstrak blewah.

Kemampuan larutan ekstrak dalam menangkap radikal bebas DPPH dilihat dari berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH setelah ditambahkan sampel. Pengurangan intensitas warna tersebut disebabkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan oleh sampel, sehingga terbentuk senyawa DPPH tereduksi yaitu 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil yang berwarna kuning stabil (Susanti, 2010).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak blewah diperoleh kadar 3,171±0,150% b/b menghasilkan IC₅₀ 12,137±0,44 µg/mL dan nilai IC₅₀ beta karoten standard sebesar 2,15±0,172 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah penelitian Internal tahun anggaran 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Koswara S., 1992. Kimia Vitamin, Institut Pertanian Bogor.
Amrun, M., Umiyah, Umayah, E., 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan

- Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari daerah Jember. Berk. Penel. Hayati, 13, 45-50.
- Halliwell, B., Gutteridge, J., 2007. *The chemistry of free radical and related 'reactive species' In Free Radical in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Kosasih, E., Setiabudi, T., 2004. *Peran Antioksidan pada Lanjut Usia*. Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia.
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E., 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories, Analytical Progress.
- Rohman, A., Gandjar, I.G., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar.
- Sharma, S.K., Le Maguer M., 1996. Lycopene in Tomatoes and Tomato pulp Fractions. *Ital J Food Sci*, 2, 107–113.
- Sumar, H., 2010. *Kimia Pemisahan*. PT. Remaja Rosdakarya.
- Sunarjono, H. Ramayulis, R., 2012. *Timun suri dan blewah*. Penebar Swadaya.
- Susanti, H., 2010. Daya Antioksidan Ekstrak etanol herba urang- Aring (*Eclipta alba* L. Hassk.) secara *in vitro* dengan metode DPPH. *Prosiding, Seminar Nasional Kosmetika*.
- Synove, L.J., 2008. *Blue Carotenoid*. ARKIVOC, Norwegian University of Science and Technology.
- Upstone, S.L., 2000. *Encyclopedia of Analytical Chemistry R.A. Meyers: Ultraviolet/Visible Light Absorption Spectrophotometry in Clinical Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J., 2006. *Free radical, metal and antioxidant in oxidative stress induced cancer*. *J.Chem-BioI*, 160, 1-40.