

IDENTIFIKASI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL TAUGE (*Phaseolus radiatus* L.)

Prilly Jovica Moniharapon¹⁾, Edwin de Queljoe¹⁾, Herny Simbala¹⁾

¹⁾Progam Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

The purpose of this research is to identify the active compounds as well as to know the antioxidant activity from the ethanol extract of bean sprouts. Extraction was done by maceration method using 95% ethanol. Identification of phytochemicals include identification of flavonoids, saponins, tannins, and steroids / triterpenoids. The antioxidant activity was testing using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. The results of the phytochemical identification showed that the ethanol extract of bean sprouts contain flavonoids, saponin, and triterpenoids. Antioxidant activity of ethanol extract of bean sprouts as shown from IC₅₀ value was 143.67 ppm.

Keywords: *Bean sprouts, Phytochemicals identification, Antioxidant activity.*

ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah mengidentifikasi senyawa aktif serta mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tauge. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Identifikasi fitokimia meliputi identifikasi flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Hasil dari identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol tauge mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Dan aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak etanol tauge yang dilihat dari nilai IC₅₀ sebesar 143,67 ppm.

Kata Kunci : Tauge, Identifikasi Fitokimia, Aktivitas Antioksidan.

PENDAHULUAN

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Banyak jenis tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai obat-obatan dikenal sebagai obat tradisional, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan tumbuh-tumbuhan berkhasiat dan mengetahui senyawa kimia yang bermanfaat sebagai obat.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat digunakan untuk melindungi komponen biologi seperti lipida, protein, vitamin dan DNA melalui perlambatan kerusakan, ketengikan atau perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi. Antioksidan merupakan senyawa pemberi electron (electron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, akibatnya kerusakan sel akan dihambat. Cara yang mudah untuk mencegah atau mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aktivitas radikal bebas yaitu dengan mengkonsumsi makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan (Winarsi, 2007).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul tidak stabil dan reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bereaksi

dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan electron sehingga mencapai kestabilan (Pietta, 2000). Radikal bebas dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen sel, baik komponen structural meliputi molekul-molekul penyusun membrane maupun komponen fungsional meliputi protein, enzim-enzim, dan DNA. Reaktifitas radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan yang merupakan bagian dari system kekebalan tubuh (Winarsi, 2007).

Di Indonesia, kacang hijau merupakan salah satu jenis kacang yang cukup banyak dikonsumsi masyarakat sebagai makanan fungsional. Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai kacang hijau, diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya, flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid, saponin yang berpotensi sebagai antioksidan, serta memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 95.08ppm yang tergolong kuat menurut Blois (2005) (Ratna *et al.*, 2009).

Oleh sebab itu, dalam penelitian ini dilakukan identifikasi fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tauge (kecambah kacang hijau) serta uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menghambat radikal bebas DPPH. Dan diharapkan dapat menambah pengetahuan baru mengenai tauge sebagai sumber antioksidan alami yang baru yang telah banyak dikonsumsi masyarakat sebagai bahan pangan.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tauge (*phaseolus*

radiatus L.) yang diidentifikasi oleh program studi Biologi FMIPA Unsrat dengan nomor specimen 144/UN.12.10.3/PP/2016, bahan-bahan kimia seperti etanol 95%, aquadest, asam klorida pekat, serbuk magnesium, asam asetat glasial, asam sulfat pekat, natrium klorida, besi (III) klorida, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), methanol pro analisis.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sudip, beaker glass, gelas ukur, cawan petri, corong, rak tabung, tabung reaksi, kertas saring Whatman No.42, aluminium foil, timbangan analitik, labu ukur, evaporator, oven, vortex, spektrofotometer UV-Vis, hot plate, mikropipet, pot salep.

Ekstraksi sampel

Sampel segar Tauge dibersihkan, kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk pasta. Selanjutnya sampel dimaserasi menggunakan etanol 95% sampai terendam seluruhnya kemudian ditutup menggunakan aluminium foil dan sesekali diaduk sampai sampel menjadi jenuh. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring no.42. kemudian maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dalam oven 40°C hingga didapatkan ekstrak kental tauge. Kemudian digunakan untuk identifikasi fitokimia dan uji aktivitas antioksidan.

Identifikasi Fitokimia

Identifikasi fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tauge. Identifikasi yang dilakukan adalah identifikasi flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, dan tanin.

Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0.5 gam ekstrak ditambahkan 2 mL etanol 95%, kemudian dipanaskan dalam penangas air sampai mendidih. Dipipet lapisan yang atas kemudian ditambahkan 2-3 tetes HCL pekat dan 0.1 gam serbuk Mg. Selanjutnya diamkan selama 3 menit, bila berubah warna menjadi merah atau kekuning-kuningan berarti menunjukkan ekstrak positif mengandung flavonoid.

Identifikasi saponin

Sebanyak 0.5 gam ekstrak ditambahkan 5 mL aquades sambil dikocok kuat selama 1 menit. Pada tabung sampel terdapat buih setinggi 3.5 cm dan bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung banyak saponin.

Identifikasi steroid/triterpenoid

Sebanyak 0.5 gam ekstrak ditambahkan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H₂SO₄ pekat sebanyak 2 tetes. Larutan kemudian dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu

Identifikasi tanin

Sebanyak 0.5 gam ekstrak ditambahkan etanol 95%. Kemudian didiamkan ± 15 menit, lalu disaring. Filtrat yang didapat dipipet dan ditambahkan 2 tetes NaCL 10% dan 3 tetes FeCL₃ 1%. Terbentuknya warna biru/hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin. (Harbone, 1987).

Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan DPPH 0.1 mM

Serbuk DPPH (BM 394,32) sebanyak 0.04 mg dilarutkan dengan methanol p.a (pro analisa) dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. volume dicukupkan dengan methanol p.a hingga tanda batas, kemudian ditempatkan dalam botol gelap.

b. Persiapan larutan uji

Ditimbang 10 mg ekstrak tauge kemudian dilarutkan dalam 10 mL methanol hingga homogen (konsentrasi 1000 ppm). Larutan uji dibuat beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Untuk membuat masing-masing konsentrasi tersebut, dipipet 100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 400 μ L, 500 μ L dari larutan induk ke dalam labu ukur 10 mL.

c. Pengujian aktivitas antioksidan

Untuk masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0.1 mM dan ditambahkan dengan methanol pro analisis sampai tanda batas, ditutup menggunakan aluminium foil, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang 37°C. Hal ini dilakukan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang diuji (Hatano et al., 1988). Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Fitokimia

Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan golongan senyawa aktif metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tauge adalah flavonoid, saponin dan triterpenoid.

Uji aktivitas antioksidan

Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning juga disebabkan karena atom N yang memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi $n-\sigma^*$. Keadaan dasar pada transisi ini lebih bersifat polar dibandingkan keadaan tereksitasi. Hal ini menyebabkan warna DPPH yang awalnya berwarna ungu menjadi DPPH-H yang berwarna kuning. Pengujian potensi antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm.

Dari hasil inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang 37°C, menunjukkan warna ungu menjadi warna ungu yang pudar, sehingga tidak menunjukkan perubahan yang seharusnya dari warna ungu menjadi kuning untuk hasil reaksi DPPH dengan sampel yang diuji. Hal ini berkaitan dengan konsentrasi yang digunakan kecil, sehingga kecil kemampuan ekstrak bereaksi terhadap radikal DPPH.

Dalam penentuan absorbansi dari tiap konsentrasi sampel, dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Menurut Kaur dan Kapoor (2002), pada panjang gelombang 517 nm, ekstrak memiliki kemampuan antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH yang merupakan radikal bebas stabil dalam larutan berair atau larutan dalam metanol serta dalam bentuk teroksidasi dengan kemampuan serapan yang kuat.

Dari hasil pengukuran, diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan nilai persen inhibisi. Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004). Hasil uji

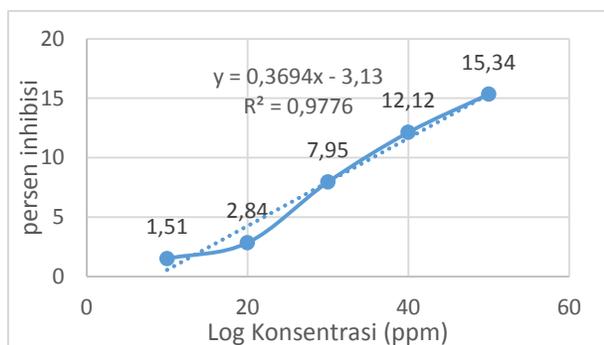
aktivitas antioksidan yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tauge

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata-rata	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
10	0.520	1.51%	
20	0.513	2.84%	
30	0.486	7.95%	143.67
40	0.464	12.12%	
50	0.447	15.34%	

Berdasarkan hasil yang diperoleh, pengukuran persen inhibisi pada ekstrak tauge mengalami peningkatan pada konsentrasi 10 sampai 50 ppm, dan pada konsentrasi 50 ppm memiliki persen inhibisi yang paling tinggi yaitu sebesar 15.34 ppm. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak tauge menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas.

Kurva hubungan konsentrasi sampel terhadap persen inhibisi sebagai persen penghambatan radikal bebas DPPH dari ekstrak tauge dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1. Kurva Hubungan Konsentrasi dan Persen Inhibisi Ekstrak Tauge (*Phaseolus radiatus* L.)

Kurva di atas diperoleh dengan menggunakan regresi linear pada aplikasi pengolah data microsoft excel 2013. Koefisien y pada persamaan linear bernilai 50 merupakan koefisien IC₅₀, sedangkan koefisien x pada persamaan linear ini merupakan konsentrasi ekstrak, dimana x yang diperoleh merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal DPPH. Nilai R² menggambarkan linieritas konsentrasi terhadap % inhibisi. Nilai R² yang mendekati + 1 (bernilai positif) menandakan bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak, semakin meningkat pula aktivitas antioksidannya. Hal ini berkaitan dengan jumlah senyawa metabolit sekunder yang terlarut di dalam ekstrak dan memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil perhitungan IC₅₀ menunjukkan bahwa ekstrak tauge memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 143.67 ppm yang secara spesifik menurut klasifikasi Blois (2005) ini tergolong antioksidan dengan kemampuan sedang karena bernilai 100-150 ppm. semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Hal ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ratna *et al.*, (2009) yang dalam pengujiannya terhadap ekstrak etanol kacang hijau menunjukkan persen inhibisi yang tergolong kuat sebesar 95.08 ppm. Hal ini tentu sangat berpengaruh oleh perbedaan konsentrasi yang dilakukan dalam penelitian ini, dimana pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 10-50 ppm sedangkan pada penelitian terhadap kacang hijau dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 25-500

ppm. Persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi.

Pada penelitian ini ekstrak tauge didapatkan dengan menggunakan metode maserasi. Dari sampel tauge sebanyak 1,5 kg, dihaluskan dengan menggunakan blender hingga mendapatkan sampel berbentuk pasta dengan berat 517.6 g tauge, dilarutkan dalam 1 L pelarut etanol 95%, dan dilanjutkan dengan proses evaporasi serta dioven hingga memperoleh hasil ekstrak kental tauge sebanyak 57,31 g.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian, maka dapat disimpulkan ekstrak tauge memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Dan untuk hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak tauge dengan konsentrasi 50 ppm memiliki aktivitas penangkal radikal bebas paling tinggi. Untuk hasil IC_{50} dari ekstrak tauge yaitu 143,67 ppm yang tergolong memiliki kekuatan sedang karena berkisar 100-150 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengujian aktivitas antioksidan dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Blois MS. 2005. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181: 1191-1200 Bogor.

Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.

Kaur C, Kapoor HC. 2002. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of some Asian Vegetables. *International Journal of Food and Technology*. 2002.37.153-161.

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*. 26: 211-219.

Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1035–1042.

Ratna Djamil, dkk. 2009. *Penapisan Fitokimia, Uji BSLT Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. Jakarta. Hal 65-71.

Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius, pp: 82-77, 105-9, 147-55.

