

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L.) dengan Menggunakan Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

Antioxidant Activity Test of Ethanol Corn Hair (*Zea mays* L.) Extract Using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Method

¹⁾Kurnia S, ²⁾Muh Yunus, ³⁾Netti Herawati
Jurusan Kimia Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya.
Email : kurniasyarifuddin@gmail.com

ABSTRAK

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol Rambut Jagung (*Zea Mays* L.) yang telah dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C. Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya persentase peredaman radikal DPPH. Ekstrak etanol rambut jagung memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding dengan vitamin C sebesar 7,73 ppm dan masuk dalam kategori sangat kuat.

Kata kunci : DPPH, Rambut Jagung, Uji Aktivitas Antioksidan, (*Zea mays* L.).

ABSTRACT

The antioxidant activity test of ethanol corn hair (*Zea Mays* L.) extract has been done by using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). As a positive control used vitamin C. The ethanol extract is obtained by maceration method. The antioxidant activity of the sample is determined by the percentage of DPPH radical reduction. Ethanol corn hair extract has higher antioxidant activity than vitamin C at 7.73 ppm and in the category of very strong.

Keywords: Antioxidant Activity Test, DPPH, Hair Corn, (*Zea mays* L.).

PENDAHULUAN

Tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif dan sangat berguna bagi kehidupan manusia. Setiap tumbuhan menghasilkan satu atau lebih senyawa bioaktif dengan aktivitas tertentu. Keberadaan senyawa metabolit sekunder sangat tergantung pada jenis tumbuhan. Hal inilah yang menyebabkan tumbuhan telah digunakan sebagai obat-obatan sejak ratusan bahkan ribuan tahun yang lalu. Senyawa aktif tersebut mempunyai manfaat yang berbeda-beda tergantung dari jenis

senyawanya, yaitu sebagai antikanker, antibakteri, antijamur maupun sebagai antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007). Radikal bebas secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan. Tingginya radikal bebas pada tubuh memicu munculnya berbagai jenis penyakit, oleh karena itu tubuh memerlukan senyawa antioksidan yang dapat

melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas sehingga sel-sel tubuh tetap terlindungi (Subiyandono, 2010). Tubuh manusia dapat menghasilkan antioksidan tetapi jumlahnya tidak mencukupi untuk menetralkan radikal bebas yang jumlahnya semakin banyak dalam tubuh, sehingga diperlukan substansi khusus untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Sulandi, 2013).

Salah satu bagian dari tanaman jagung adalah rambut jagung yang biasa dijadikan sebagai obat tradisional. Dibalik fungsinya, jagung menghasilkan limbah yang bernilai ekonomi rendah. Salah satu limbah jagung merupakan rambut jagung yang setelah diambil dari tongkolnya dibuang begitu saja. Rambut jagung merupakan sekumpulan *stigma* yang halus, lembut, terlihat seperti benang maupun rambut yang berwarna kekuningan. Rambut jagung berasal dari bunga betina dari tanaman jagung (Bhaigyabati, dkk, 2011). Kandungan rambut jagung sangat bermanfaat bagi kesehatan dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, sedangkan pemanfaatan rambut jagung ini sendiri masih sangat minim.

Kandungan Kimia rambut jagung telah dilaporkan mengandung metabolit sekunder jenis flavonoid, asam klorogenat dan senyawa fenolik lainnya. Rambut jagung kaya akan senyawa fenolik terutama flavonoid (Laeliocattleya, 2014). Flavonoid merupakan kelompok besar fitokimia yang bersifat melindungi dan banyak terdapat pada buah dan sayuran. Flavonoid sering dikenal sebagai

bioflavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Sudirman, 2011). Saat ini penelitian tentang rambut jagung belum banyak ditemukan. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam rambut jagung ini dan juga potensinya sebagai antioksidan.

Metode DPPH didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. Perubahan warna ungu DPPH menjadi ungu kemerahan atau kuning dimanfaatkan untuk mengetahui aktivitas senyawa antioksidan.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan yaitu neraca analitik, evaporator, wadah untuk maserasi, corong buchner. Alat gelas yang digunakan adalah gelas kimia, corong Buchner, pipet tetes, mikropipet, batang pengaduk, pipet ukur, labu ukur, dan botol vial berwarna cokelat beserta tutup. Alat yang digunakan untuk mengukur besarnya aktifitas antioksidan yaitu UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rambut jagung,, kertas saring biasa, aquades, pelarut organik yaitu etanol (teknis), etanol p.a, aluminium foil, kertas saring whatman, tissue, vitamin C, pereaksi FeCl_3 serta DPPH(BM 394,32).

B. Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Rambut jagung (*Zea mays* L.) dikeringkan pada suhu kamar dan tidak terkena sinar matahari

langsung. Rambut jagung kering kemudian digiling sampai halus dengan menggunakan blender. Sebanyak 508,2 gram serbuk rambut jagung di maserasi dengan etanol selama 3x24 jam kemudian, ekstrak etanol tersebut dievaporasi sampai diperoleh ekstrak etanol kental dan dilakukan pengujian dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 (flavonoid).

2. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Uji Kualitatif

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan ekstrak etanol sebagai penangkap radikal bebas. Uji pendahuluan diawali dengan mengaktifkan plat KLT pada oven selama 5 menit. Ekstrak etanol rambut jagung kemudian ditotolkan pada plat KLT. Fase diam yang digunakan adalah silika gel dengan luas 1 X 5 cm dengan jarak elusi 4 cm. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi yaitu kloroform : metanol dengan perbandingan 1:4 sebanyak 2 ml. Bercak yang terbentuk disemprot dengan pereaksi DPPH 0,2%.

b. Uji Kuantitatif

1) Pembuatan Larutan DPPH (Molyneux, 2004)

Sebanyak 2 mg DPPH (BM 394,32) dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur sampai 100 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,05 mM.

2) Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 5 mg ekstrak kental etanol dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a dalam labu ukur 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 50 ppm (larutan induk). Kemudian dengan menggunakan etanol p.a dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1;1,5; 2,5; dan 5,0 ppm.

3) Penentuan panjang gelombang serapan maksimum DPPH (Molyneux, 2004)

Sebanyak 3 mL larutan DPPH 0,05 mM dan ditambahkan dengan 3 mL etanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit, serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-600 nm.

4) Penentuan aktivitas antioksidan

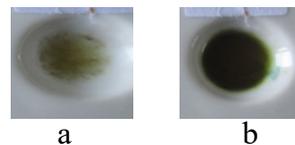
a) Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dilakukan dengan cara 3 mL larutan DPPH 0,05 mM ditambah dengan masing-masing tiga mL larutan uji konsentrasi 1;1,5; 2,5; dan 5,0 ppm. Setelah itu campuran di vortex selama 1 menit lalu Campuran didiamkan selama 30 menit. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

b) Sebagai pembanding digunakan vitamin C konsentrasi 2,5; 5,0; 10 dan 20 ppm dengan perlakuan yang sama dengan larutan uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Uji Golongan Senyawa

Pengujian dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 . Ekstrak etanol rambut jagung (kuning) ditetesi dengan pereaksi FeCl_3 berubah menjadi hijau yang ditandai dengan positif mengandung fenolik. Hasil uji pendahuluan untuk ekstrak dan perubahan yang terjadi pada pereaksi dapat dilihat pada gambar 4.1



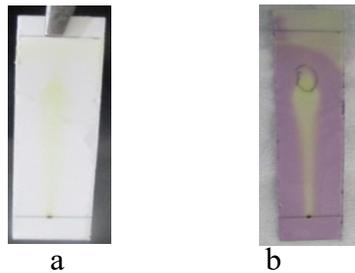
Gambar 4.1(a)Ekstrak etanol rambut jagung sebelum ditetesi FeCl_3

(b) Ekstrak etanol rambut jagung sesudah ditetesi $FeCl_3$

2. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Uji Kualitatif

Ekstrak etanol yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas antioksidan secara KLT. Hasil uji untuk ekstrak etanol rambut jagung dan perubahan yang terjadi dapat dilihat pada gambar 4.2



Gambar 4.2 Kromatogram Hasil Uji Aktivitas Antioksidan secara KLT (a) Penampakan secara visual (b) Penyemprotan dengan DPPH 0,2%

b. Uji Kuantitatif

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol rambut jagung secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), yaitu kemampuan ekstrak etanol rambut jagung dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH. Metode DPPH ini merupakan metode yang sering digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan yang didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen kepada DPPH. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif atau pembanding. Adapun absorbansi, % peredaman dan IC_{50} pada sampel dan kontrol dapat dilihat pada tabel 4.1 dan 4.2 dibawah ini.

Tabel 4.1 Absorbansi DPPH, % Peredaman dan IC_{50} Pada Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L.)

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman	IC_{50} (ppm)
1	DPPH	0,292	-	
2	1	0,288	1,36	
3	1,5	0,260	10,95	7,73
4	2,5	0,246	15,75	
5	5,0	0,202	30,82	

Tabel 4.2: Absorbansi DPPH, % Peredaman dan IC_{50} Pada Vitamin C

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Peredaman	IC_{50} (ppm)
1	DPPH	0.330	-	
2	2,5	0.310	6,06	
3	5	0.285	13,63	18,09
4	10	0.252	23,63	
5	20	0.143	56,66	

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yaitu perendaman sampel dengan menggunakan pelarut organik dengan tujuan agar sampel tumbuhan tersebut mengalami pemecahan dinding sel dan membran sel sebagai akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sel akan terlarut dalam pelarut organik. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi, karena proses ekstraksi dengan cara maserasi masih mudah dilakukan dan sangat kecil kemungkinan untuk terjadi kerusakan senyawa kimia yang ada pada sampel. Dalam penelitian ini digunakan pelarut polar dengan maksud untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya serta untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak yang diperoleh. Etanol dan air mempunyai kepolaran yang hampir sama. Namun jika ditinjau dari titik didihnya pelarut etanol memiliki titik didih yang lebih rendah dari air hal ini mengakibatkan etanol lebih mudah menguap dibanding air. Oleh karena itu pelarut etanol lebih efektif digunakan dalam proses maserasi. Sehingga pada penelitian ini etanol efektif menggunakan pelarut etanol dalam proses maserasi.

1. Uji Golongan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol rambut jagung berwarna hijau kekuningan setelah ditambahkan FeCl_3 yang mengindikasikan adanya senyawa flavonoid. Senyawa fenolik termasuk tanin maupun flavonoid umumnya larut dalam pelarut polar.

1. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Uji Kualitatif

Uji aktivitas antioksidan secara KLT ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan secara kualitatif didalam ekstrak etanol rambut jagung. Ekstrak etanol rambut jagung yang telah ditotolkan dengan lempeng silika gel kemudian dielusi menggunakan fase gerak kloroform: metanol dengan perbandingan (1:4). Pengamatan secara visual dilakukan terlebih dahulu dengan melihat hasil pemisahan terhadap plat dan terlihat terdapat satu spot, spot yang berwarna kuning mempunyai noda yang besar. Uji selanjutnya dilakukan dengan penyemprotan larutan DPPH 0,2% uji aktivitas antioksidan secara kualitatif ini menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning dengan latar ungu. Terbentuknya bercak kuning setelah penyemprotan DPPH 0,2% disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen didalam ekstrak etanol rambut jagung, sehingga dapat mengakibatkan molekul DPPH dapat tereduksi yang diikuti dengan hilangnya warna ungu dari larutan DPPH.

Hasil pengamatan dalam penelitian ini didapatkan λ maksimum 517 nm. Prinsip pengukuran secara spektrofotometri visibel adalah mengukur besarnya absorbansi pemucatan warna larutan DPPH. Dari berbagai konsentrasi larutan uji diukur % peredamannya menggunakan rumus. Nilai 0% berarti larutan uji tidak

menggunakan rumus. Nilai 0% berarti larutan uji tidak mempunyai daya peredaman radikal bebas, sebaliknya nilai 100% berarti peredaman total. Secara teoritis λ maksimum untuk larutan DPPH dalam etanol adalah 517 nm, dan hasil pengamatan dalam penelitian ini adalah 517 nm. Sesuai dengan teoritis λ maksimum untuk larutan DPPH. Atas dasar tersebut, untuk selanjutnya pengukuran dilakukan pada λ maksimum 517 nm.

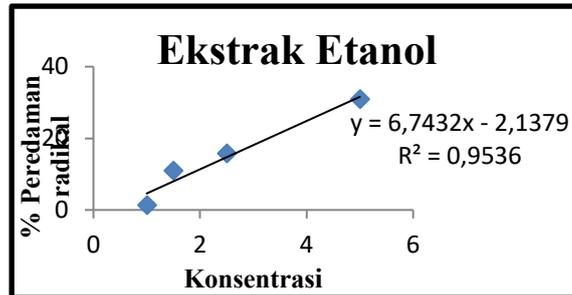
b. Uji Kuantitatif

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol rambut jagung secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), yaitu kemampuan ekstrak etanol rambut jagung dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH. Metode DPPH ini merupakan metode yang sering digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan yang didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen kepada DPPH. Dalam penelitian ini digunakan vitamin C sebagai kontrol positif atau pembanding. Untuk mengetahui seberapa besar daya peredamannya dilakukan pengukuran secara spektrofotometri visibel.

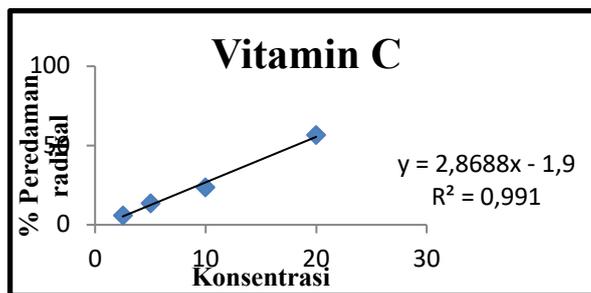
Setelah diperoleh λ maksimum selanjutnya dilakukan analisis terhadap sample dengan cara mereaksikan larutan DPPH dengan ekstrak etanol dan vitamin C. Aktivitas antioksidan diukur dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH. Hal ini terjadi sebagai akibat dari larutan

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan. Ketika larutan DPPH direaksikan dengan zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogen dalam hal ini senyawa antioksidan, maka senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan DPPH dari warna ungu menjadi kuning. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning ini disebabkan karena adanya reaksi yang menyebabkan pembentukan ikatan antara nitrogen dari radikal DPPH dan atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa antioksidan untuk membentuk DPPH sehingga tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil yaitu DPPH-H (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Molyneux, 2004).

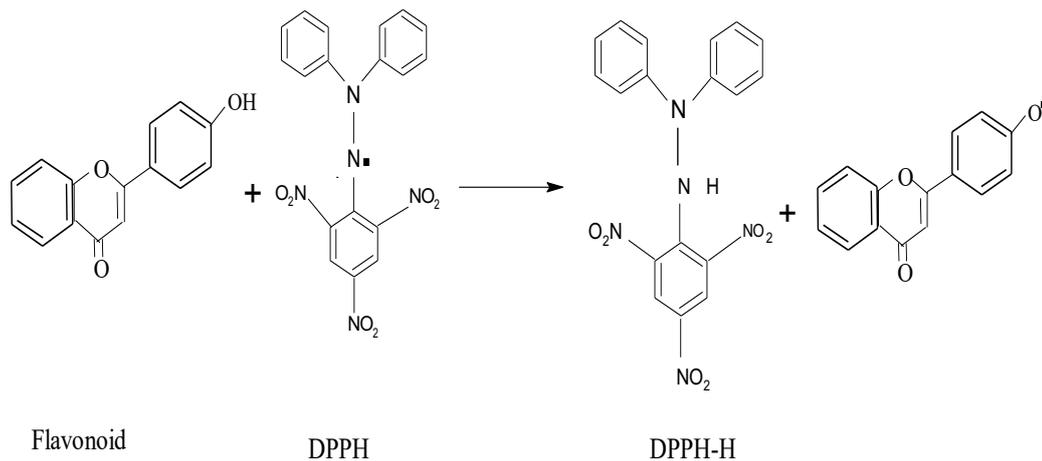
Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak etanol serta vitamin C sebagai pembanding dapat dinyatakan dengan parameter IC_{50} (inhibition concentration) yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC_{50} ini dapat diperoleh dari persamaan regresi linier antara konsentrasi ekstrak etanol dengan persentase penangkapan radikal bebas dari masing-masing konsentrasi. Berdasarkan (Grafik 4.4 dan 4.5) hasil pengukuran dan perhitungan persen peredaman radikal bebas tersebut kemudian dibuat grafik yang menghubungkan antara persen peredaman (sumbu Y) dan konsentrasi (sumbu X) pada masing-masing sampel sehingga didapatkan persamaan regresi li



Gambar 4.4. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan Pengikatan Radikal Bebas DPPH Ekstrak Etanol Rambut Jagung



Gambar 4.5. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan Pengikatan Radikal Bebas DPPH Vitamin C.



Gambar 4.6 Reaksi Antara Radikal DPPH Dengan Flavonoid (Widyaningsih, 2010).

Adapun nilai IC_{50} dari vitamin C yang digunakan sebagai pembanding pada penelitian ini adalah 18,09. Hal ini berarti bahwa dengan konsentrasi 18,09 ppm dapat menghambat proses oksidasi DPPH sebesar 50 %, karena nilai IC_{50} rata-

rata pada vitamin C < 50 (ppm) maka vitamin C yang digunakan termasuk dalam antioksidan yang sangat kuat. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian-penelitian yang lain, salah satunya hasil penelitian (Haryoto dkk, 2007) tentang hasil nilai IC_{50}

dari vitamin C mendapatkan nilai IC_{50} sebesar 3,72 ppm. Sebagaimana kita ketahui bahwa semakin kecil nilai IC_{50} yang didapatkan semakin bagus aktivitas antioksidannya. Hal ini disebabkan karena asam askorbat sangat mudah teroksidasi menjadi asam L-dehidroaskorbat. Asam askorbat dan asam L-dehidroaskorbat masih mempunyai keaktifan sebagai vitamin C. Namun asam L-dehidroaskorbat bersifat sangat labil dan dapat mengalami perubahan menjadi L-diketogulonat. L-diketogulonat yang terbentuk sudah tidak memiliki keaktifan vitamin C lagi (Sari, 2014). Oleh karena itu nilai IC_{50} yang didapatkan dalam penelitian ini lebih besar yaitu 18,09 ppm. Asam askorbat sebagai pembanding dalam penelitian ini, disebabkan senyawa ini memiliki daya meredam radikal bebas yang baik. Oleh karena itu asam askorbat dapat digunakan untuk membandingkan daya meredam radikal diantara senyawa-senyawa peredam radikal bebas (Haryoto dkk, 2007).

Seperti yang dikemukakan oleh Molyneux (2004) bahwa secara spesifik skala kapasitas antioksidan yaitu kuat ($50 \text{ ppm} < IC_{50} < 100 \text{ ppm}$), sedang ($100 \text{ ppm} < IC_{50} < 150 \text{ ppm}$), lemah ($150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200 \text{ ppm}$), dan sangat lemah ($IC_{50} > 200 \text{ ppm}$).

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Ekstrak etanol rambut jagung memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Nilai IC_{50} ekstrak etanol rambut jagung yaitu 7,73 ppm dan tergolong sebagai antioksidan lebih kuat

dibanding vitamin C yang digunakan.

B. Saran

Dari penelitian yang dilakukan terhadap rambut jagung (*Zea mays* L.) disarankan perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan berbagai metode serta memurnikan senyawa antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhaigyabati, T. T. Kirithika, J. Ramya, and K. Usha. 2011. Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of Various Extracts of Corn Silk (*Zea mays*. L). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*; 2(4): 986-993.
- Haryoto., Santoso, Broto dan Nugroho, Hafid. 2007. Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang *Shorea acuminatissima* dengan Metode DPPH. *Jurnal ILMU DASAR*. Vol. 8 No. 2. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Laeliocattleya, Rosalina Ariesta. 2014. Potensi senyawa bioaktif rambut jagung (*zea mays* l.) Hasil fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut organik untuk tabir surya alami. Vol. 15 No. 3. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Malang.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarinn *J. Sci. Technol.*, 26 (2) : 211-219.

- Sari, Kristanti Novita. 2014. Kandungan Serat, Vitamin C, Aktivitas Antioksidan dan Organoleptik Keripik Ampas Brokoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) Panggang. Skripsi. Universitas Diponegoro Semarang.
- Subiyandono. 2010. *Uji aktivitas antioksidan Ekstrak Camelia sinensis, Hibiscus sabdariffa, dan Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl. Secara Spektrofotometri dengan DDPH.* Jurusan Farmasi Poltekes DEPKES Palembang. Palembang.
- Sudirman, S. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (Ipomoea aquatic forsk.).* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.
- Sulandi, Aji. 2013. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (cayratia trifolia) Dengan Metode Dpph (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).* Pontianak : Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Widyaningsih, Wahyu. 2010. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (Gynura procumbens) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).* ISBN:978-979-18458-2-3. Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas:* Kanisius. Yogyakarta.