Aktivitas Antioksidan Beberapa Ekstrak Kacang Koro (*Canavalia ensiformis*) Menggunakan Uji 1,1-difenil 1,2-dipikrilhidrazil (DPPH)

Tantan Widiantara*, Yusman Taufik, Yudi Garnida, Dwi Yulianti

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Jl. Setiabudhi No. 193, Bandung 40154, Indonesia

*Penulis korespondensi: tantanwidiantara@unpas.ac.idDOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n1.16785>

Abstrak: Salah satu tanaman yang mengandung senyawa antioksidan adalah *Canavalia ensiformis*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari aktivitas antioksidan dari ekstrak *C. ensiformis* dengan pelarut yang berbeda. Penelitian ini dimulai dengan merendam tepung biji *C. ensiformis* menggunakan metanol kemudian dilakukan evaporasi pada suhu 40°C, dipartisi dengan *n*-heksana, etil asetat dan air. Semua fraksi kemudian di evaporasi, fraksi kering kemudian diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ ekstrak metanol, *n*-heksana, etil asetat dan fraksi air masing-masing sebesar 0,26; 0,22; 0,03; dan 0,27%.

Kata kunci: Aktivitas antioksidan, *Canavalia ensiformis*, uji DPPH

Abstract: One of plants that contain antioxidant compound is *Canavalia ensiformis*. The aim of the present study was to investigate the antioxidant activity from *C. ensiformis* extract with different solvent. The experiment was initiated with soaking flour of *C. ensiformis* seeds by methanol, followed by evaporation at 40°C. The extract was then partitioned using *n*-hexane, ethyl acetate and water. All fraction was then evaporated, and the dried fraction was assayed for their antioxidant activity with DPPH method. The result of the present study showed that the IC₅₀ of methanol, *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions were 0.26, 0.22, 0.03 and 0.27%, respectively.

Keywords: antioxidant activity, *Canavalia ensiformis*, DPPH assay

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif atau spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas, sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan (Halliwell & Gutteridge 2015).

Salah satu penyebab utama berbagai penyakit kronis pada manusia seperti kanker dan serangan jantung adalah stres oksidatif (Beckman & Ames 1998). Stres oksidatif disebabkan karena tidak seimbangnya jumlah antioksidan dalam tubuh dengan penyebab reaksi oksidatif seperti gugus radikal bebas (Percival 1998). Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan radikal bebas sangat reaktif yang kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas dapat masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat dan menyebabkan kerusakan tersebut berkontribusi terhadap beberapa penyakit dan menyebabkan kondisi yang biasa disebut sebagai penuaan dini (Liochev 2013).

Berdasarkan sumber perolehannya terdapat dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan

antioksidan buatan (sintetik) (Miyake & Shibamoto 1997). Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu antioksidan sintetik seperti BHT (butylated hydroxytoluene) ternyata bersifat karsinogenik dan dapat meracuni binatang (Miyake & Shibamoto 1997). Maka industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mulai mencari sumber-sumber antioksidan alami baru.

Banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami seperti teh, cokelat, rempah-rempah, biji-bijian sereal, sayur-sayuran, enzim dan protein (Sarastani dkk. 2002). Antioksidan alami dapat diperoleh dari ekstraksi jaringan hewan dan tanaman. Antioksidan alami mayoritas adalah tokoferol, flavonoids, dan asam fenolat (Gharekhani *et al.* 2012).

Salah satu tanaman yang diduga berpotensi mengandung senyawa antioksidan adalah *Canavalia ensiformis*. *C. ensiformis* merupakan tanaman polong-polongan yang pertumbuhannya merambat. Semakin bertambah umur batangnya yang merambat akan berubah menjadi berkayu (Shehan 2012). *C. ensiformis* memiliki kandungan protein yang hampir sama dengan kacang kedelai, yaitu sekitar 27,82-29,41%, dengan kandungan lemak sekitar 2,46-2,66%, dan kandungan karbohidrat sekitar 49,48%

(Nwokolo & Smartt 1996).

C. ensiformis mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, glikosida sianogenik, terpenoid, alkaloid dan asam tanat. Sehingga biji *C. ensiformis* harus melalui proses pemasakan sebelum dikonsumsi (Udedibie & Carlini 1998). *C. ensiformis* mengandung senyawa fenolik dan flavonoid sehingga berdasarkan kandungan tersebut, menyebabkan *C. ensiformis* berpotensi memiliki aktivitas antioksidan, yang bersifat sebagai penangkal radikal bebas yang sangat efektif (Doss *et al.* 2011).

BAHAN DAN METODE

Penepungan

Sebanyak 2000 gram biji *C. ensiformis* ditimbang dan direndam menggunakan air dengan perbandingan 1:4 menggunakan alat sirkulasi berpengaduk selama empat jam. Kemudian kulit ari dipisahkan dan lakukan pengecilan ukuran. Kemudian dikeringkan menggunakan tunnel dryer dengan suhu 60°C selama tujuh jam. Biji yang telah kering selanjutnya dilakukan proses penepungan dan pengayakan dengan ukuran ayakan sebesar 80 mesh.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 700 gram tepung biji *C. ensiformis* ditimbang, kemudian dimaserasi menggunakan 1200 mL metanol selama 24 jam sebanyak tiga kali. Ekstrak metanol disaring dan pisahkan, kemudian diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40°C. Ekstrak metanol pekat kemudian dipartisi dengan pelarut air suling (1:1) dan pelarut *n*-heksana (1:2) sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Ekstrak *n*-heksana (lapisan atas) dipisahkan, sedangkan air suling (lapisan bawah) dipartisi kembali menggunakan pelarut etil asetat (1:2). Selanjutnya ekstrak etil asetat dan ekstrak air suling dipisahkan. Semua ekstrak dipekatkan dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C.

Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 1 mL DPPH dipipet dan tambahkan dengan metanol sampai 5 mL. Semua fraksi dibuat variasi konsentrasi. Setiap sampel diukur dengan volume yang sama, ditambahkan 1 mL DPPH dan kemudian ditambahkan dengan metanol sampai volumenya 5 mL. Inkubasi pada suhu 37°C. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Blanko yang digunakan adalah sampel metanol tanpa penambahan DPPH. Persentase inhibisi pada radikal DPPH dapat dihitung dengan persamaan (1), sedangkan nilai IC₅₀ dihitung dengan persamaan (2).

$$\text{Persentase peredaman} = \left(\frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \right) \times 100\% \quad \dots (1)$$

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{ax} \quad \dots (2)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penepungan Biji *C. ensiformis*

Sebanyak 1435 gram tepung *C. ensiformis* diperoleh dari 2000 gram biji. Persen randemen dari tepung *C. ensiformis* sebesar 75,77%. Sebagai alternatif tanaman dapat dikeringkan sebelum dilakukan proses ekstraksi. Proses pengeringan harus dilakukan dalam kondisi terkendali untuk menghindari terjadinya perubahan kimia yang terlalu banyak. Pengeringan harus dilakukan dengan cepat dan tidak menggunakan suhu tinggi. Setelah benar-benar kering, tanaman dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama sebelum dilakukan analisis (Harbone 1984).

Ekstraksi dan Fraksinasi *Canavalia ensiformis*

Persen randemen setiap fraksi ditunjukkan pada Tabel 1. Cara ekstraksi yang tepat bergantung pada tekstur dan kandungan air dari bahan tanaman yang akan diekstraksi. Secara umum, pelarut yang digunakan diharapkan dapat menghentikan reaksi pada jaringan tanaman, seperti mencegah terjadinya oksidasi enzimatis atau hidrolisis. Penggunaan etanol panas merupakan cara yang paling baik. Alkohol merupakan pelarut yang paling baik pada ekstraksi awal (Harbone 1984). Ekstrak metanol yang telah dipekatkan kemudian dipartisi menggunakan pelarut aquades (polar), pelarut *n*-heksana (non-polar) dan pelarut etil asetat (semi-polar).

Tabel 1. Persen rendemen fraksi *C. ensiformis*

Fraksi	Berat Fraksi (gram)	Rendemen (%)
Metanol	44,4332	6,35
<i>n</i> -Heksana	13,9850	2,00
Etil asetat	0,1687	0,02
Air suling	22,3722	3,20

Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi sampel atau standar yang dapat menghambat 50% aktivitas pemerangkapan DPPH. IC₅₀ terendah artinya memiliki kapasitas antioksidan tertinggi. IC₅₀ digunakan untuk mengkategorikan aktivitas antioksidan dari sampel yang dibandingkan dengan standar. Sampel yang mengandung nilai IC₅₀ kurang dari 0,005% termasuk kedalam antioksidan yang sangat kuat, 0,005-0,010% termasuk kedalam antioksidan kuat, 0,011-0,015% termasuk kedalam antioksidan medium, sedangkan nilai IC₅₀ lebih besar dari 0,015% termasuk kedalam antioksidan lemah (Blois 1958).

Aktivitas antioksidan fraksi *C. ensiformis* ditunjukkan pada Gambar 1 s.d. Gambar 4. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari

Gambar 1. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak metanol

Gambar 2. Grafik aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksana

Gambar 3. Grafik aktivitas antioksidan fraksi etil asetat

Gambar 4. Grafik aktivitas antioksidan fraksi air suling

aktivitas antioksidan fraksi *C. ensiformis* berkisar antara 0,03-0,27%. Nilai IC_{50} dari fraksi metanol, *n*-heksana, etil asetat dan air suling *C. ensiformis* berturut-turut adalah sebagai berikut 0,26%; 0,22%; 0,03%; dan 0,27%.

Fraksi etil asetat dari *C. ensiformis* memiliki nilai IC_{50} terendah, diduga karena senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat adalah golongan senyawa semipolar seperti senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki banyak gugus hidroksi. Gugus hidroksil ini yang berperan dalam menetralkan senyawa radikal. Aktivitas antioksidan dari semua fraksi *C. ensiformis* dikategorikan kedalam jenis antioksidan lemah karena nilai IC_{50} lebih besar dari 0,1 % yang merupakan antioksidan yang lemah, kemudian nilai antara 0,05 % s.d. 0,1 % merupakan kuat dan nilai di bawah 0,05% merupakan antioksidan yang kuat.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat dari *C. ensiformis* memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu 0,03% dan semua fraksi dari *C. ensiformis* dapat dikategorikan sebagai antioksidan lemah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Kemenristekdikti melalui Hibah penelitian Produk Terapan dimana penelitian ini bisa terselasaikan
2. Universitas Pasundan Fakultas Teknik Program Studi Teknologi pangan serta FMIPA Unpad
3. Dikdik Kurnia, Ph.D. dan Eti Aprianti, M.Si.
4. Supriatin, S.T. dan Dwi Yulianti, S.T.

DAFTAR PUSTAKA

- Beckman, K.B. & Ames, B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*. 78(2): 547-581.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200.
- Doss, A., Pugalenth, M. & Vadivel, V. (2011). Antioxidant activity of raw and differentially processed under-utilized tropical legume *Canavalia ensiformis* L. DC seeds, South India. *The IIOAB Journal*. 2(8): 27-32.
- Gharekhani, M., Ghorbani, M. & Rasoulnejad, N. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolic and flavonoid compounds from *Eucalyptus camaldulensis* Dehn leaves as

- compared with ultrasound-assisted extraction. *Latin American Applied Research*. 42(3): 305-310.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M. (2015). *Free radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. USA.
- Harborne, J.B. (1984). Methods of plant analysis. In *Phytochemical Methods* (pp. 1-36). Springer. Dordrecht.
- Liochev, S.I. (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 60: 1-4.
- Miyake, T. and Shibamoto, T., 1997. Antioxidative activities of natural compounds found in plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(5): 1819-1822.
- Nwokolo, E. & Smartt, J. (eds). (1996). *Food and Feed from Legumes and Oilseeds*. Chapman & Hall. London.
- Percival, M. (1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 1998; NUT031 1/96 Rev. 10/98
- Sarastani, D., Soekarto, S.T., Muchtadi, T.R., Fardiaz, D. & Apriyantono, A. (2002). Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak biji atung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 13(2): 149-156.
- Shehan, C.M. (2012). Plant Guide for Jack Bean (*Canavalia ensiformis*), USDA-Natural Resources Conservation Service, Cape May Plant Materials Center.
- Udedibie, A.B.I. & Carlini, C.R. (1998). Questions and answers to edibility problem of the *Canavalia ensiformis* seeds—a review. *Animal Feed Science and Technology*. 74(2): 95-106.
-