

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN VARIAN JUS DELIMA (*Punicagranatum L.*) DENGAN METODE FRAP

A. Muflihunna, Sukmawati Syarif, Dian Rahmawati

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia  
Email : amchund124@gmail.com

### ABSTRACT

A research test the antioxidant activity of pomegranate juice (*Punicagranatum L.*) with the FRAP method to measure and determine antioxidant activity. Pomegranate juice was analyzed qualitatively by using the method FRAP with FRAP reagent. Quantitatively mix with the sample solution was analyzed by FRAP method UV-VIS Spectrophotometer at a wavelength 596 nm. By using trolox as a reference standard. From the research result that sample A and sample B sample C has antioxidant activity with an total value of antioxidant activity, sample A = 6.1243  $\mu\text{mol TR/g}$  sample, sample B = 6.0913  $\mu\text{molTR/g}$  sample and sample C = 2.9651  $\mu\text{molTR/g}$  sample.

**Key words** : Pomegranate juice, antioxidant activity, FRAP, Trolox Uv-Vis Spectrophotometer.

### PENDAHULUAN

Jus adalah minuman sari buah atau sayuran yang diperoleh dari proses pemerasan sehingga akan diperoleh cairan sari buah atau sayuran. Mengonsumsi jus buah atau sayuran dianjurkan oleh *National Academy of Sciences* karena banyak mengandung senyawa kimia yang dapat menurunkan resiko penyakit degeneratif. Jus buah dan sayuran kaya akan antioksidan (Ide, 2010).

Antioksidan adalah pelindung sel tubuh agar tidak rusak oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu atom yang kehilangan pasangan

sehingga akan merusak sel-sel sehat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Radikal bebas ini dapat terbentuk dalam tubuh atau dari luar tubuh. Sel-sel yang rusak oleh radikal bebas dapat berubah menjadi sel kanker atau menyebabkan penyakit degeneratif lain (Rozaline, 2006).

Salah satu buah yang kaya akan kandungan antioksidan adalah buah delima (*Punica granatum L.*).

Pemanfaatan buah delima untuk keperluan kesehatan telah dilakukan sejak lama, karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini dibuktikan berdasarkan publikasi jurnal tentang aktivitas antioksidan buah delima antara lain yaitu, pameran antivirus, antioksidan, antidiabetik, antidiare, anti kanker dan aktivitas antiproliferatif (Dkhal *et al*, 2013), ekstrak buah delima selektif menghambat pertumbuhan sel-sel kanker payudara, prostat dan usus (Adhami *et al*, 2009), dan efek aterosklerotik yang telah dikonfirmasi (Weerakkody *et al*, 2012).

Tanaman delima (*Punica granatum L.*) pada kulit buah mengandung alkaloid pelletierine, granatin, betulic acid, ursolic acid, isoquercitrin, resin, triterpenoid, kalsium oksalat dan pati. Kulit akar dan kulit kayu mengandung sekitar 20% elligatanin, dan 0,5% - 1% senyawa alkaloid. Daun mengandung alkaloid, tannin, kalsium oksalat, lemak, sulfur, peroksidase. Jus buah mengandung asam sitrat, asam galat, glukosa, fruktosa, maltose, vitamin (A dan C), mineral dan tannin (Utami, 2008).

Seiring berjalannya waktu penelitian tentang buah delima (*Punica granatum L.*) telah berkembang dan memberikan hasil yang baik tentang

efek farmakologinya. Hal inilah yang mendasari perlunya dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan jus delima (*Punica granatum L.*) dengan metode FRAP.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan yaitu, batang pengaduk, gelas kimia (*Pirex*), kuvet, labu Erlenmeyer (*Pirex*), labu ukur (*Pirex*), mikropipet (*Dragonlab*), setrifuge (*OneMed 0508-1*), spektrofotometer UV-Visible (*Apel PD 303 UV*), tabung reaksi (*Pirex*), tabung sentrifuge (*Pirex*), timbangan analitik (*Acis AD-600H*).

Bahan yang digunakan adalah aquades, asam trikloroasetat (TCA) 10%, buffer asetat pH 3,6; etanol p.a 96%, jus Delima (*Punica granatum L.*), HCl, TPTZ, FeCl<sub>3</sub>.

### **Prosedur Kerja**

#### **Penyiapan alat dan bahan**

Alat dan bahan disiapkan sesuai dengan kebutuhan penelitian yang akan dilaksanakan.

#### **Pengambilan dan pengolahan sampel**

Pengambilan sampel jus delima (*Punica granatum L.*) dilakukan di supermarket di kota Makassar, dengan varian produk jus delima yang berbeda merek.

Pengolahan sampel jus delima (*Punica granatum L.*) dipipet jus delima kemudian di sentrifuge dan diambil supernatannya.

**Pembuatan larutan dan penentuan antioksidan total (Merujuk pada Selawa dkk, 2013 dengan beberapa modifikasi)**

**Pembuatan Larutan Pereaksi**

**Larutan Buffer Asetat pH 3,6**

Ditimbang 0,775 gram natrium asetat. Dimasukan dalam labu ukur 250 mL dan dilarutkan dengan 4 mL asam asetat pekat. Diukur pH dapar. Kemudian dicukupkan volumenya sampai batas tanda dengan aquadest.

**Larutan HCl 40 mmol/L**

Dipipet HCl pekat sebanyak 0,33 mL kemudian dimasukan kedalam labu ukur 100 mL. Dicukupkan volumenya sampai batas tanda dengan aquadest.

**Larutan TPTZ 10 mmol/L**

Ditimbang sebanyak 25 mg TPTZ kemudiandimasukan kedalam labu ukur dan dilarutkan dengan HCl pekat 40 mmol/L sebanyak 8 mL.

**Larutan asam trikloroasetat 10%**

Ditimbang sebanyak 10 gram  $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$  dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur hingga batas tanda 100 mL.

**Larutan  $\text{FeCl}_3$  20 mmol/L**

Ditimbang  $\text{FeCl}_3$  sebanyak 54 mg, kemudian dimasukan kedalam labu

ukur 10 mL dan dilarutkan sampai batas tanda dengan aquadest.

**Reagen FRAP**

Reagen FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 25 mL dapar asetat, 2,5 mL TPTZ, 2,5 mL  $\text{FeCl}_3$  kedalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya dengan aquadest sampai batas tanda.

**Larutan Standar Trolox**

Larutan stok 600 $\mu\text{M}$  dibuat dengan melarutkan 15 mg trolox dengan etanol p.a. Lalu di encerkan hingga batas labu ukur 100 mL.

**Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP**

**Penentuan Absorbansi Trolox**

Dari larutan stok 600 $\mu\text{M}$  diambil masing-masing sebanyak 0,83; 1,6; 2,5; 3,3; 4,1; 5 mL dan ditempatkan pada labu ukur berbeda dan diencerkan dengan etanol hingga 5 mL dan dihomogenkan. Konsentrasi larutan standar trolox yang terbentuk berturut-turut 100 $\mu\text{M}$ , 200 $\mu\text{M}$ , 300 $\mu\text{M}$ , 400 $\mu\text{M}$ , 500 $\mu\text{M}$ , 600 $\mu\text{M}$ . Kemudian di pipet 1 ml kedalam tabung reaksi masing-masing dari konstansi larutan trolox, tambahkan 3 mL reagen FRAP dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

## **Penentuan Absorbansi Sampel**

### **Sampel A**

5 mL jus delima masukan dalam tabung setrifuge dan ditambahkan 1 mL TCA 10% lalu disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, diambil supernatan sebanyak 1 mL. Selanjutnya untuk sampel A dibuat variasi pengenceran 1:5, 1:10, 1:14, 1:19 mL etanol untuk mendapatkan nilai absorbansi yang memenuhi nilai range dari baku pembanding, kemudian masing-masing dipipet 1 mL dan ditambahkan reagen FRAP 3 mL masing-masing sampel dibuat 3 replikasi. Di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

### **Sampel B**

5 mL jus delima masukan dalam tabung setrifuge dan ditambahkan 1 mL TCA 10% lalu disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, diambil supernatan sebanyak 1 mL. Selanjutnya untuk sampel B dibuat

variasi pengenceran 1:5, 1:10, 1:14, 1:19 mL etanol untuk mendapatkan nilai absorbansi yang memenuhi nilai range dari baku pembanding, kemudian masing-masing dipipet 1 mL dan ditambahkan reagen FRAP 3 mL masing-masing sampel dibuat 3 replikasi. Di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

### **Sampel C**

5 mL jus delima masukan dalam tabung setrifuge dan ditambahkan 1 mL TCA 10% lalu disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, diambil supernatan sebanyak 1 mL dan diencerakan dengan 5 mL etanol. Kemudian dipipet 1 mL dan ditambahkan reagen FRAP 3 mL, sampel dibuat 3 replikasi dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

## HASIL PENELITIAN

**Tabel 1.** Hasil Pengukuran Absorbansi dan Nilai Aktivitas Antioksidan Jus Delima (*Punica granatum L.*) dengan Metode FRAP

Sampel	Replikasi	Absorbansi (Y)	Aktivitas Antioksidan ( $\mu\text{M TR/ g sampel}$ )	Rata-Rata Aktivitas Antioksidan ( $\mu\text{M TR / g sampel}$ )
Sampel A	I	0,262	6,7561	6,1243
	II	0,189	5,4926	
Sampel B	I	0,214	5,8644	6,0913
	II	0,240	6,3182	
Sampel C	I	0,560	3, 2414	2,9651
	II	0,592	3,3755	
	III	0,578	2,2786	

## PEMBAHASAN

Delima merupakan tumbuhan yang kaya akan kandungan antioksidan. Manfaat dari buah delima dalam memerangi radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif telah banyak diteliti oleh para ilmuwan. Kandungan kimia dari buah delima yaitu flavonoid, polifenol dan katekin serta vitamin A dan vitamin C. Dimana senyawa-senyawa ini merupakan antioksidan kuat yang berguna mencegah berkembangnya radikal bebas dalam tubuh dan memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak. Maka dari itu dilakukan uji aktivitas antioksidan dari varian jus delima (*Punica granatum L.*) dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

Menurut Benzie dan Strain(1996), metode FRAP merupakan metode untuk mengukur aktivitas antioksidan yang didasarkan

pada kemampuan dalam mereduksi ion ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi ion ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) pada pH rendah. Dimana akan membentuk kompleks warna biru yang menandakan adanya aktivitas antioksidan pada sampel.

Penentuan nilai aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencampurkan reagen FRAP dengan sampel jus delima. Dimana dalam reagen FRAP terdapat campuran TPTZ,  $\text{FeCl}_3$  dan buffer asetat. Penambahan  $\text{FeCl}_3$  dalam reagen yaitu untuk membentuk senyawa kompleks  $\text{Fe}^{3+}$  dan memperlambat reaksi reduksi  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  yang terjadi sangat cepat oleh pengaruh cahaya. Sedangkan penambahan buffer asetat adalah karena buffer ini memiliki pH efektif dari 3,6 - 5,6 (Gholib, 2007). Dimana telah diketahui bahwa reaksi reduksi  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ terjadi pada suasana asam atau pH rendah sehingga digunakan buffer

asetat dengan pH efektif terendah 3,6.

Ou *etal*(2002) dalam Istiningrum (2013), mengatakan senyawa Fe<sup>3+</sup>-TPTZ mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel tubuh, sedangkan sampel mengandung antioksidan yang dapat mereduksi senyawa Fe<sup>3+</sup>-TPTZ menjadi Fe<sup>2+</sup>-TPTZ sehingga senyawa Fe<sup>3+</sup>-TPTZ tidak akan melakukan reaksi yang dapat merusak sel-sel tubuh.

Larutan standar yang digunakan pada pada uji aktivitas antioksidan ini adalah trolox. Trolox biasa digunakan sebagai standar positif dalam uji antioksidan. Trolox merupakan analog dari vitamin E yang merupakan antioksidan kuat. Menurut Davies *et al*

(1988), perbedaan dari trolox dan vitamin E yaitu pada pergantian rantai samping hidrokarbon dengan gugus COOH.

Penentuan kandungan total aktivitas antioksidan jus delima dilakukan pada panjang gelombang maksimum 596 nm pada spektrofotometer Uv-vis sehingga didapatkan nilai berupa absorbansi. Nilai absorbansi dari pengukuran sampel A, sampel B dan sampel C dimasukkan kedalam persamaan linear  $y = a + bx$ . Dimana telah diperoleh nilai a dan bx dari kurva baku larutan standar trolox yaitu,  $y = 0.001x - 0.122$ . Nilai aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\text{Aktivitas antioksidan} \left( \frac{\mu\text{MTR}}{\text{gsampel}} \right) = \frac{V_{\text{sampel}}(\text{ml}) \times [\text{sampel}] \times fp \times 10^{-3}}{B_{\text{obotsampel}}(\text{g})}$$

Sampel A untuk replikasi pertama, absorbansi sampel adalah 0,262 dengan aktivitas antioksidan sebesar 6,7561 μM TR/gr sampel dan replikasi kedua, absorbansi sampel adalah 0,189 dengan aktivitas antioksidan sebesar 5,4926 μM TR/gr sampel. Dengan nilai aktivitas antioksidan rata-rata dari sampel A sebesar 6,1243 μM TR/gr sampel. Sampel B untuk replikasi pertama,

absorbansi sampel adalah 0,214 dengan aktivitas antioksidan sebesar 5,8644 μM TR/gr sampel dan replikasi kedua, absorbansi sampel adalah 0,240 dengan aktivitas antioksidan sebesar 6,3182 μM TR/gr sampel. Dengan nilai aktivitas antioksidan rata-rata dari sampel B sebesar 6,0913 μM TR/gr sampel. Sampel C untuk replikasi pertama, absorbansi sampel adalah 0,560 dengan aktivitas

antioksidan sebesar 3,2414 $\mu$ M TR/gr sampel dan replikasi kedua, absorbansi sampel adalah 0,592 dengan aktivitas antioksidan sebesar 3,3755 $\mu$ M TR/gr sampel, dan replikasi ketiga, absorbansi sampel adalah 0,578 dengan aktivitas antioksidan sebesar 2,2786 $\mu$ M TR/gr sampel. Dengan nilai aktivitas antioksidan rata-rata dari sampel C sebesar 2,9651 $\mu$ M TR/gr sampel.

Cukup tingginya nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan menunjukkan bahwa dalam sampel jus delima kandungan senyawa kimia masih terjaga dengan baik setelah melewati proses pengolahan dan pemasaran. Kandungan senyawa kimia dalam jus delima terbukti bertanggung jawab sebagai antioksidan yang baik.

Perbedaan nilai aktivitas antioksidan pada setiap sampel, dipengaruhi oleh jumlah konsentrasi jus delima dalam sampel yang berbeda-beda dan juga dari sumber produk serta bahan baku yang digunakan yaitu, sampel A dan B merupakan produk minuman impor dengan komposisi minuman mengandung jus buah delima asli sedangkan untuk sampel C merupakan produk minuman lokal dengan komposisi minuman mengandung konsetrat buah delima.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Semua sampel ujimemiliki aktivitas sebagai antioksidan.
2. Total aktivitas antioksidan tertinggi berturut-turut yaitu, sampel A = 6,1243 $\mu$ M TR/gr sampel, sampel B =6,0913 $\mu$ M TR/gr sampel dan sampel C =2,9651 $\mu$ M TR/gr sampel.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhamin, M., Khan,N., Mukthar, H. 2009. *Cancer Chemoprevention by Pomegranate : Laboratory and Clinical Evidence*. Nutr Cencer. 61(6). 811-815
- Apak R., Kubilay G., Birsen D., Mustafa O. , Saliha E.C. , Burcu B. , K. Işıl B.and Dilek O. 2007. *Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assay applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay*. Molecules 12:1496-1547.
- Beedetti, M, G., Foster, A, L., Vantipalli, M, C. 2007. *Trolox Enhances the Anti-Lyprphoma Effects Arsenic Trioxide, While Protecting Against Liver Toxicity*. Leukimia. 21: 2117-2127.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. *The ferricreducing ability of plasma (FRAP) as a measurement of 'antioxidant power' : the FRAP assay*. Analytical Biochemistry 239:70-76.

- Corwin, J. Elizabeth. 2008. *Buku Saku Patofisiologi*, ed. 3. ECG : Jakarta.
- Cos, P., Hemans, N., Calomme, M. 2003. *Comparative Study of Eight well-known Polyphenolic antioxidant*. JPharm Pharmacol. 55 1291-1297.
- Davies, J., Forni, G., Willson, L. 1988. *Vitamin E Analogue Trolox C. E.S.R and Pulse-radiolysis Studies of Free-radical Reactions*. Biochemistry J. 225. 513-522
- Diaz, M., Moscat, J., Maria, T. 2007. *p62 at the Crossroads of Autophagy, Apoptosis and Cancer*. Elsevier Inc. 137 (1001-1004).
- Dkhil, A., Al-Quraishy, S., Abdel, M. 2013. *Effect of Pomegranate (Punica granatum L.) Juice and Methanolic Peel Extract On Testis of Male Rats*. Pakistan J Zool. 45(5). 1343-1349
- Evira, D. 2013. *The Miracel of Friuts*. AgroMedia Pustaka : Jakarta
- Gholib, G., Rohman, A. 2007. *Kima Farmasi: Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Harmanto, N. 2007. *Jus Herbal*. Alex Media Komputindo : Jakarta
- Ide, P. 2008. *Gaya Hidup Penghambat ALZHEIMER*. Alex Media Computindo: Jakarta.
- Ide, P. 2010. *Health Secret of Pepin*. Alex Media Computindo: Jakarta.
- Istiningrum, R. 2013. *Analysis of Antioxidant Capacity on Ingredients og Lotek Menu by Ferric Reducing*. Eksakta. 13(1-2). 40-48.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI-Press: Jakarta.
- Rozaline, H. 2006. *Terapi Jus Buah dan Sayur*. Niaga Swadaya: Jakarta
- Rukmana, R. 2003. *Delima*. Kanisuis: Yogyakarta.
- Selawa W., Runtuwene M., Citraningtyas G. 2007. *Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (Andredera cordifolia (Ten.)Steenis)*. Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi.Vol 2(1):2302 – 2493
- Simiati, M. I. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Garcinia lateriflora Blume Var. Javanica Boerl. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Dari Fraksi yang Aktif (skripsi)*. Universitas Indonesia: Depok.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Kanisius : Yogyakarta
- Sudjadi. 2010. *Kimia Analisis Farmasi*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Taddini, B., Juliano, C., Piu, L. 2000. *Resveratiol Inhibition of Lipid Peroxidation*. Free Radical Res. 33: 105-114.
- Utami, Prapti. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Agromedia:



Jakarta.

Weerakkody, W. A. P., Jayakody, J. A. L. P. 2012. *Bioactive Properties of Fruit Juice Pomegranate (Punica granatum L.) Grown In Dry Regions of Sri Lanka*. Tropical Agricultural Research. 23(4). 370-375

Widyastuti, Niken .2010. *Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan METODE CUPRAC, DPPH, DAN FRAP serta korelasinya dengan fenol dan flavanoid pada enam tanaman (skripsi)*. Institut Pertanian Bogor : Bogor