

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA SARI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa blimbi* L.) DALAM BERBAGAI KONDISI PENYIMPANAN DENGAN METODE DPPH 1,1-diphenil-2-picrylhidrazil

David Darwis¹, Yenni Sri Wahyuni, Yuni Damayanti

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang

Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan

e-mail : ¹daviddarwis8@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian perbandingan aktivitas antioksidan sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) dalam berbagai kondisi penyimpanan. Sari yang diperoleh menggunakan juicer dengan rendemen 47,5 % b/v. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektivitas dari sari buah belimbing wuluh dengan berbagai kondisi penyimpanan pada suhu 15⁰C dan suhu 40⁰C. Uji antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode penghambatan radikal bebas DPPH (1,1 diphenil-2-pikryhidrazil) terhadap sari buah belimbing wuluh segar, sari buah belimbing wuluh dingin dan sari buah belimbing wuluh setelah dipanaskan. Hasil dari penelitian ini bahwa aktivitas antioksidan dari sari buah belimbing wuluh segar, sari yang dingin dan sari yang telah dipanaskan (*Averrhoa blimbi* L.) diperoleh nilai IC₅₀ berturut-turut 900ppm, 1980ppm dan 2650ppm. Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan sari buah belimbing wuluh yang segar lemah, sari buah belimbing wuluh dingin adalah lemah sedangkan sari buah belimbing wuluh yang setelah dipanaskan adalah sangat panas.

Kata Kunci : Antioksidan, belimbing wuluh, DPPH

TINJAUAN PUSTAKA

Tinjauan Botani Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Klasifikasi

Menurut Dasuki, 2009 klasifikasi buah belimbing wuluh adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Sub kingdom : Tracheobionta
 Superdivisio : Spermatophyta
 Divisio : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Sub kelas : Rosidae
 Ordo : Geraniales
 Famili : Oxilidaceae
 Genus : Averrhoa
 Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.

Nama Daerah

Nama daerah, Sumatera: Asom
 belimbing, balimbieng, balimbingan,

balimbing ; Jawa: belimbing wuluh, calincing wulet, bhalingbhing bulu ; Bali: blimbing buloh ; Sulawesi: limbi, balimbeng. lumpias, lumbetue, bainang, calene, takurela; Papua:uteke. Dalam bahasa inggris dikenal sebagai cucumber tree atau bilimbi, sedangkan dalam bahasa latin disebut *Averrhoa bilimbi* (Mulyani dan Gunawan, 2006).

Morfologi Tanaman

Belimbing wuluh merupakan tanaman berbentuk pohon kecil, tinggi mencapai 10m dengan batang yang tidak begitu besar dan mempunyai garis tengah hanya sekitar 30cm. Ditanam sebagai pohon buah, kadang tumbuh liar dan ditemukan dari dataran rendah sampai 500 M. Daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10cm, lebar 1-3 cm, warnanya

hijau, permukaan bawah warnanya lebih muda. Ciri buah belimbing yaitu buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi hingga hingga seperti torpedo, panjangnya 4-10cm. Warna buah ketika muda hijau dan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Apabila buah sudah masak, maka buah berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya mengandung banyak air dan rasanya asam. Kulit buahnya berkilap dan tipis. Biji bentuknya bulat telur, gepeng (Dalimartha dan Wijayakusuma, 2006).

Khasiat Tumbuhan

Khasiat dari buah belimbing wuluh ini adalah sebagai obat batuk, gusi berdarah, sariawan, jerawat, panu dan bisul (Mulyani dan Gunawan).

Kandungan Senyawa Kimia

Kandungan kimia buah belimbing wuluh mengandung flavonoid, steroid/triterpenoid, glikosida, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B1, dan C (Dalimartha dan Wijayakusuma).

Radikal Bebas

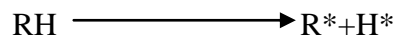
Radikal bebas adalah Suatu bentuk molekul yang tidak stabil di dalam tubuh dan mudah melakukan reaksi dengan molekul penting dalam tubuh. Molekul pada radikal bebas berupa elektron tidak berpasangan sehingga berusaha mencari pasangan elektron, namun sangat reaktif dan menimbulkan kerusakan pada molekul di sekitarnya. Radikal bebas dapat mengoksidasi sel DNA, nukleat, asam lemak tak jenuh, karbohidrat, lemak, dan protein sehingga akan menimbulkan penyakit degeneratif (Irmawati, 2013).

Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas

Mekanisme reaksi pembentukan radiakal bebas terdiri dari beberapa tahap :

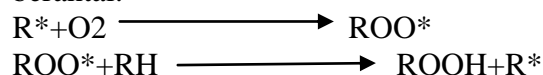
Tahap Inisiasi

Tahap inisiasi yaitu tahap awal pembentukan radikal bebas



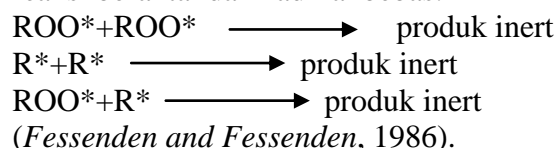
Tahap Propagasi

Pada tahap ini radiakal bebas berikatan dengan O₂ atau dengan senyawa asal itu sendiri membentuk peroksida radikal dan hidroperoksida yang dapat bereaksi dengan sesamanya sehingga menimbulkan reaksi berantai.



Tahap Terminasi

Tahap ini terjadi bila radikal bebas bereaksi dengan radikal bebas lain atau dengan molekul lain yang bersifat antioksidan, sehingga akan menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas.



Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu zat yang memiliki kemampuan untuk memperlambat proses oksidasi yang berdampak negatif di dalam tubuh. Proses oksidasi di dalam tubuh sebenarnya merupakan proses yang normal yang berguna untuk memperlancar metabolisme. Namun terkadang karena gaya hidup dan pola makan yang tidak sehat mengakibatkan produksi molekul terlalu berlebihan sehingga berpengaruh negatif pada kesehatan. Misalnya akan menimbulkan mutasi gen, merusak sel, bahkan mengakibatkan kanker, tumor, katarak, serta penyakit jantung (Irmawati, 2013).

Penggolongan Antioksidan

Proses oksidasi merupakan proses alami pada tubuh yang normal dan berlangsung secara bersinambungan untuk menjaga tubuh agar selalu sehat. Namun ternyata proses oksidasi pada metabolisme tubuh memiliki sisi negatif dengan adanya kerusakan 1%-2% sel selama proses berlangsung menjadi radikal

bebas. Di sebut dengan radikal bebas karena sel yang rusak tersebut kehilangan molekul penting sehingga mengambil molekul dari sel tubuh lain yang sehat.

Saat radikal bebas menyerang maka sel yang sehat dapat dilukai, merusak DNA dan menimbulkan penyakit. DNA sel yang rusak akan bermutasi dan berkembang dengan sangat cepat. Radikal bebas yang dihasilkan di dalam tubuh hanya berjumlah sedikit dan dapat diatasi dengan antioksidan. Namun radikal bebas yang terbanyak dihasilkan dari luar tubuh seperti asap rokok, polusi udara, pestisida yang terdapat di dalam bahan makanan dan alkohol. Tubuh yang terpapar radikal bebas dalam jangka panjang akan menimbulkan penyakit.

Antioksidan akan membantu proses pengubahan radikal bebas yang tidak stabil menjadi suatu bentuk yang lebih stabil sehingga tidak mempengaruhi sel tubuh yang sehat. Rantai pada radikal bebas akan berhenti dan proses oksidasi juga akan terhenti. Cara kerja antioksidan terbagi di dalam tiga mekanisme yaitu :

Antioksidan Primer (Endogenus)

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan mencegah terbentuknya senyawa radikal yang baru dan mengubah molekul pada radikal bebas yang sudah terbentuk menjadi tidak reaktif sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada sel tubuh. Yang termasuk di dalam antioksidan primer adalah enzim katalase, enzim superoksida dismutase (SOD) dan *glutation peroksidase* (GSH-Px).

Antioksidan Sekunder (Eksogenus)

Antioksidan sekunder menghambat pembentukan senyawa oksigen reaktif dengan cara merusak pembentukannya. Mekanisme kerja dari antioksidan sekunder adalah memotong reaksi bebas dengan cara menangkap. Antioksidan sekunder di sebut juga dengan antioksidan non-enzimatik atau sistem pertahanan preventif. Yang termasuk di dalam antioksidan sekunder yaitu karoten,

vitamin C, vitamin E, flavonoid, albumin, asam urat dan bilirubin.

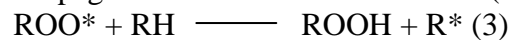
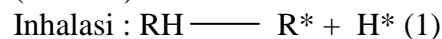
Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier memperbaiki biomolekuler rusak yang diakibatkan oleh reaksi radikal bebas. Yang termasuk di dalam antioksidan tersier adalah sistem metionin sulfoksida reduktase, dan sistem enzim DNA-repair (Irmawati, 2013).

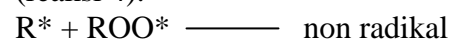
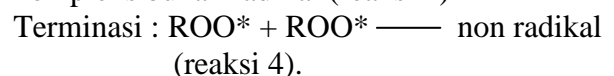
Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu di jelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1).

Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3).



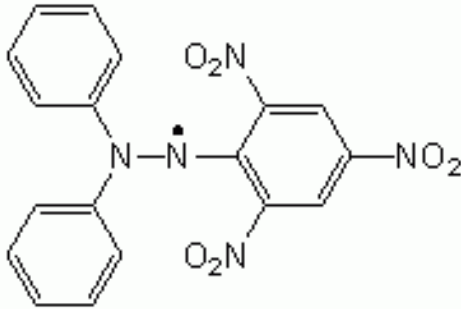
Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4)



Pengujian Antioksidan

Metode yang di gunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah sebagai berikut :

DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil)



Gambar 1. Rumus Difenil

DPPH adalah radikal bebas yang di perdagangkan, stabil pada suhu kamar dengan bentuk violet kehitaman, disimpan pada tempat gelap terlindungi dari cahaya agar tidak terjadi peristiwa oksidasi molekul (Molyneux, 2004).

- BM : 394,3 gram/mol
- Struktur : $C_{18}H_{12}N_5O_6$
- Pemerian : serbuk, warna violet dalam metanol
- Kelarutan : mudah larut dalam metanol
- Penyimpanan : freezer atau pada suhu di bawah $0^{\circ}C$

Metoda radikal DPPH merupakan metoda pengukuran aktifitas antioksidan yang hanya menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dan waktu yang singkat. Aktifitas antioksidan dari suatu senyawa ditunjukkan oleh hambatan serapan DPPH pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Pengurangan serapan DPPH berlangsung pada saat elektron sunyi menjadi berpasangan karena adanya suatu sistem pembersih radikal bebas atau antioksidan. Absorpsi menjadi menurun dan menyebabkan hilangnya warna secara stoikiometri sesuai dengan jumlah elektron yang di tangkap. Reduksi DPPH dapat diamati pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan gelombang maksimum DPPH (Molyneux, 2004).

Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi inhibisi (*Inhibition*

Concentration) atau IC_{50} (Tabel 2.1). IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan proses oksidasi sebesar 50% suatu konsentrasi sampel (ppm). Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas

Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Mailandari, 2004)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat Kuat	< 50 $\mu g/ml$
Kuat	50-100 $\mu g/ml$
Sedang	101-150 $\mu g/ml$
Lemah	>150 $\mu g/ml$

Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Spektrum UV-Vis digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan, berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm. Sumber cahaya yang untuk pengukuran sinar UV digunakan lampu hidrogen atau deuterium dan pengukuran sinar tampak digunakan lampu tungsten. Serapan cahaya oleh molekul pada daerah spektrum UV-Vis tergantung pada bentuk struktur elektronik dan molekul tersebut sehingga sering disebut spektroskopi elektronik (Dachriyanus, 2004).

Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (Berr's law) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit (Dachriyanus, 2004).

Menurut hukum Lambert, serapan (A) berbanding lurus dengan ketebalan lapisan (b) yang disinari :

$$A = k \cdot C$$

Jika konsentrasi bertambah, molekul yang dilalui berkas sinar akan bertambah, sehingga serapan juga bertambah.

Kedua persamaan ini digunakan dalam hukum Lambert-Beer, maka diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan lapisan :

$$A = k \cdot c \cdot b$$

Umumnya digunakan dua satuan c (konsentrasi zat yang menyerap) yang berlainan, yaitu gram per liter atau mol per liter. Nilai tetapan (K) dalam hukum Lambert-Beer tergantung pada sistem konsentrasi mana yang digunakan. Bila c dalam gram per liter, but tetapan tersebut adalah absorbitas molar (ϵ). Jadi dalam sistem yang direkomendasikan, Hukum Lambert-Beer dapat mempunyai dua bentuk :

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ g/liter atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ mol/liter}$$

Penandaan lain untuk a adalah ekstingsi spesifik, koefisien ekstingsi, dan absorpsi spesifik, sedangkan ϵ adalah koefisien ekstingsi molar (Day and Underwood, 1999).

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri ultraviolet yaitu :

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorpsi maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum dapat diperoleh dengan membuat kurva hubungan antara absorpsi dengan panjang gelombang dari satu larutan baku dengan konsentrasi tertentu.

Pembuatan kurva kalibrasi

Dilakukan dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorpsi tiap konsentrasi di ukur lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorpsi dengan konsentrasi. Kurva kalibrasi yang lurus menandakan bahwa hukum Lambert-Beer terpenuhi.

Pembacaan absorpsi sampel

Absorpsi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15-70 % jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena pada kisaran nilai absorpsi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Rohman, 2007).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Juni 2016, di Laboratorium Penelitian Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang dan Balai Besar Laboratorium Penelitian.

Metodologi Penelitian

Alat

Seperangkat alat *juicer*, timbangan digital, gelas ukur (pyrex), beaker glass (pyrex), pipet gondok, labu ukur (pyrex), pipet tetes, vial, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Buah belimbing wuluh, vitamin C, metanol, pereaksi 1, 1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH).

Pelaksanaan Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel berupa buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Palembang, Sumatera Selatan.

Pembuatan Sari Buah Belimbing Wuluh

Buah belimbing wuluh dipilih yang bagus, kondisi masih segar, dan tidak busuk, dipisahkan dengan daunnya, kemudian ditimbang 2 kg, dan dicuci dengan air bersih. Kemudian potong buah belimbing wuluh

menjadi 3 bagian. Kemudian buah belimbing wuluh di *juicer* dan di saring sehingga didapatkan sari belimbing wuluh, kemudian masukkan sari belimbing wuluh kedalam vial dan dimasukkan kedalam lemari pendingin dengan suhu 15 °C dan kedalam oven dengan suhu 40 °C.

Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1 difhenil-2-pikrihidrazil)

Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan methanol sampai 250 ml dalam labu ukur 250 ml, sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,05 mM.

Penentuan panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM di pipet dan ditambahkan dengan 0,2 ml metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap yang terlindung dari cahaya, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 516 nm.

Pembuatan Larutan Sampel Induk

Masing-masing sampel diambil sebanyak 2 ml kemudian dilarutkan dalam 100 ml metanol dalam labu ukur 100ml sehingga didapat konsentrasi larutan sampel 2 %.

Pembuatan Larutan Uji Sampel Berbagai Konsentrasi

Dipipet masing-masing sampel 5, 4, 3, 2, dan 1 ml larutan induk, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 ml dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas, didapatkan larutan uji seri konsentrasi 0,2 %, 0,16 %, 0,12 %, 0,08 %, dan 0,04 % v/v.

Pembuatan Larutan Pembanding

Ditimbang sebanyak 100 mg vitamin C lalu ditambahkan 100 ml metanol kedalam labu ukur 100 ml sehingga didapatkan konsentrasi larutan 0,1 % sambil dikocok homogen. Lalu dibuat larutan pembanding dengan konsentrasi 0,0025 %, 0,002 %, 0,0015 %, 0,001 % dan 0,0005 %.

Pengukuran Absorbansi DPPH pada Larutan Uji dan Larutan Pembanding

Ditentukan terlebih dahulu absorbansi DPPH sebagai kontrol secara berurutan untuk masing-masing sampel uji dan pembanding sebelum direaksikan, yaitu dengan dipipet 0,2 ml metanol dan ditambahkan DPPH 0,05 mM sebanyak 3,8 ml dibiarkan selama 30 menit ditempat yang gelap dan diukur absorbansinya.

Pengukuran absorbansi DPPH pada larutan uji dan sampel dan pembanding dilakukan dengan dipipet 0,2 ml larutan uji(sampel uji sari belimbing segar, sari belimbing wuluh dingin dan sari belimbing wuluh setelah dipanaskan dan larutan pembanding yang telah disiapkan, secara berurutan masing-masing ditambahkan dengan 3,8 ml larutan DPPH 0,05 mM dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap terlindung dari cahaya.

Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi larutan uji dan larutan pembanding secara berurutan.

Penentuan Nilai Daya Hambat Radikal Bebas oleh Antioksidan pada Sampel (% Inhibisi)

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorben DPPH}) - (\text{Absorban (DPPH + Sampel)})}{\text{Absorben DPPH}}$$

Absorban kontrol = Serapan radikal DPPH 0,05 mM pada λ Maksimum.

Absorban (Sampel + DPPH) = Serapan sampel dalam radikal DPPH 0,05 mM pada λ maksimum.

Pengujian IC₅₀

Data yang diperoleh dengan terlebih dahulu membuat persamaan garis yang menghubungkan antara % inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji masing-masing sampel 0,2 %, 0,16 %, 0,12 %, 0,08 % dan 0,04 %.

IC₅₀ peroleh dengan masing-masing larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 % berdasarkan persamaan garis regresi linearkorelasi I dan K menggunakan rumus :

$$Y = a + b x$$

Dimana :

Y = Persen Inhibisi (%)

X = Konsentrasi (K)

Analisa Data

Data yang diperoleh dari alat spektrofotometri UV-Vis berupa absorbansi DPPH kontrol dan DPPH setelah direaksikan dengan larutan uji sampel dan pembanding pada berbagai konsentrasi, digunakan untuk menghitung % inhibisi. % inhibisi digunakan untuk memperoleh IC₅₀. Penyajian data dalam bentuk tabulasi, hasil dianalisis dengan membandingkan nilai IC₅₀ yang didapatkan dari pengujian antioksidan terhadap sari belimbing wuluh segar, sari belimbing wuluh dingin, dan sari belimbing wuluh setelah di oven.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Sebanyak 2 kg buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) kemudian di ambil sarinya dengan menggunakan juicer dan didapatkan sari kental 950 ml rendemen 47,5 % b/v.

Panjang gelombang DPPH 516,2 nm dengan absorban 0,3440.

Hasil pengukuran absorbasi DPPH kontrol dan DPPH setelah di reaksikan dengan sampel uji dan pembanding terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbasi setelah di reksikan dengan DPPH

Konsentrasi (%)	Sampel Segar		Sampel dingin		Sampel panas	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2
0,2		0,1157		0,1716		0,2400
0,16		0,1760		0,1782		0,2627
0,12	0,3440	0,2225	0,3400	0,2161	0,3420	0,2875
0,08		0,2832		0,2433		0,3135
0,04		0,3369		0,2627		0,3319

Keterangan :

A1 : Absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel uji/ larutan pembanding.

A2 : Absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel uji/larutan pembanding.

Hasil perhitungan persen inhibisi sampel uji dan pembanding.

Hasil perhitungan IC₅₀ dari sampel segar, sampel dingin dan sampel panas pada tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC₅₀

Zat Uji	Nilai IC ₅₀ (%)	Konversi ppm
Sampel Segar	0,090	900
Sampel Dingin	0,198	1980
Sampel Panas	0,265	2650
Vitamin C	0,004	40

Pembahasan

Buah belimbing merupakan salah satu buah yang kaya akan antioksidan. Kandungan vitamin C pada buah belimbing wuluh lebih unggul dibandingkan kandungan vitamin C pada buah jeruk (Lingga, 1990). Menurut penelitian (Lie dan Natalie, 2013) menjelaskan bahwa jus yang disimpan dalam bentuk beku akan sedikit kehilangan vitamin C dibandingkan jus jeruk yang tidak disimpan dalam keadaan beku. Penelitian ini bertujuan

untuk melihat efektivitas antioksidan dalam sari belimbing wuluh dengan berbagai kondisi penyimpanan. Buah belimbing wuluh sebanyak 2 kg, diperoleh sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) sebanyak 47,5 % (b/v).

Pengukuran aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel ini dibuat beberapa konsentrasi yaitu 0,2, 0,16, 0,12, 0,08, dan 0,04 %. Pengujian efek antioksidan dari sari buah belimbing segar pada konsentrasi 0,2, 0,16, 0,12, 0,08, dan 0,04 menunjukkan adanya nilai persen inhibisi secara berturut-turut adalah 66,36%, 48,83%, 35,31%, 17,67% dan 2,06%, terhadap sari belimbing wuluh dingin pada konsentrasi 0,2, 0,16, 0,12, 0,08, dan 0,04 % berturut-turut adalah 49,52 %, 44,69 %, 36,44 %, 28,44 % dan 22,73 %, terhadap sari buah belimbing wuluh yang sudah di oven pada konsentrasi 0,2 %, 0,16 %, 0,12 %, 0,08 % dan 0,04 % berturut-turut adalah 29,82 %, 23,18 %, 15,93 %, 8,33 %, dan 2,95 %.

Dari hasil perhitungan persen inhibisi, didapatkan bahwa sari buah belimbing wuluh yang segar mempunyai persen inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan sari buah belimbing wuluh yang dingin dan yang sudah di oven. Selanjutnya dari perhitungan persen inhibisi masing-masing hasil sampel kemudian dihitung IC_{50} . Untuk menentukan IC_{50} dari masing-masing sampel, dengan memasukkan nilai hasil perhitungan kedalam persamaan linier dengan konsentrasi (ppm) sebagai absis (X) dan nilai persentase inhibisi sebagai ordinat (Y), nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat persen inhibisi sebesar 50 % dengan persamaan $Y = aX + b$. Nilai IC_{50} sari buah belimbing wuluh yang segar, sari buah belimbing yang dingin dan sari buah belimbing wuluh yang sudah di oven secara berturut-turut adalah 0,090 %, 0,198 % dan 0,265 % terdapat pada lampiran 5 yang sudah dikonferensikan dalam ppm.

Dari perhitungan IC_{50} masing-masing sampel di atas, sari buah belimbing wuluh yang segar mempunyai IC_{50} yang lemah dibandingkan dengan sari buah belimbing wuluh yang dingin, sedangkan pada sari buah belimbing wuluh yang sudah di oven

mempunyai IC_{50} terendah tetapi sari buah belimbing wuluh dingin masih tergolong antioksidan lemah. Hal ini ditentukan berdasarkan tabel data penelitian (Armala, 2009) sebagai berikut.

Tabel 4. Tabel data IC_{50} (Armala)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat Kuat	< 50 $\mu\text{g/ml}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g/ml}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g/ml}$
Lemah	>150 $\mu\text{g/ml}$

Dari hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan dapat diketahui bahwa sari buah belimbing wuluh yang segar memiliki nilai IC_{50} yang lemah, dari pada sari buah belimbing wuluh yang sudah di masukkan dalam lemari pendingin dan di dalam oven hal ini di karenakan konsentrasi vitamin C sari buah belimbing wuluh selama pengolahan mengalami penurunan. Oleh karena itu, semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu pasteurisasi dan penyimpanan, penurunan kadar vitamin C terlihat semakin besar (Kusuma, 2007). Hal ini membuktikan bahwa, pada penyimpanan di bawah suhu ruangan sangat dianjurkan dalam penyimpanan sari buah, karena mempengaruhi kandungan kimia dalam bahan, seperti yang dikemukakan (Lie dan Natali, 2013) menjelaskan bahwa jus jeruk yang di simpan dalam bentuk beku akan sedikit kehilangan vitamin C di bandingkan jus jeruk yang tidak di simpan dalam keadaan beku. Kecepatan degradasi vitamin C sangat tergantung pada kondisi penyimpanannya (Wariya, 2010).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian perbandingan efektivitas antioksidan sari buah belimbing wuluh dalam berbagai kondisi penyimpanan dengan metode DPPH 1,1-diphenil-2picrylhidrazil maka dapat di simpulkan bahwa :

Ativitas antioksidan dari sari buah belimbing wuluh yang segar, yang dingin dan

yang sudah di masukkan dalam oven (*Averrhoa blimbi* L.) diperoleh nilai IC₅₀ berturut-turut adalah 90 ppm, 1980 ppm dan 2650 ppm. Maka dari data tersebut kondisi penyimpanan yang berbeda dapat mempengaruhi efektivitas antioksidan dari sari belimbing wuluh.

Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dengan uji konsentrasi vitamin C, aktivitas antioksidan serta tehnik pasteurisasi dengan metode lain pada sari buah belimbing wuluh.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, R. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ansel, H. C 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV. Terjemahan Dari Introduction of Pharmaceutical Dosage From*. Oleh Farida Ibrahi. Universitas Indonesia Press. Jakarta: 214-215.
- Atang. 2009. *Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L)*. <http://togakita.Com/khasiat/belimbing-wuluh-averrhoa-belimbi-1.html>. Diakses tgl 1 maret 2009.
- Asami, D.K., Hong. Y. J., Barret. D. M & Mitchell A., 2003. *Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marion berry, Strawberry, and corn Grown Using Conventioanl, Organic, and Sustainable Agricultural Practices*, J Agric Food Chem.
- Cahyadi,W.2006. *Kesehatan Bahan Tambahan Makanan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Dasuki,U. 1991. *Sistematika Tumbuhan Tinggi*. Pusat Universitas Ilmu Hayati. Bandung: ITB
- Dalimartha, S. 2008. *36 Resep Tumbuhan Obat untuk menurunkan Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang : Universitas Andalas.
- Fessenden dan fessenden.1986. *Kimia Organik Edisi ke tiga*. Jakarta: Erlangga.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, diterjemahkan Oleh K.Padmawinata. Bandung: ITB press
- Irmawati, L. 2013. *Pengaruh Senam Lansia Terhadap Tekanan Darah Pada Lansia penderita Hipertensi di Desa Leyangan Kec. Uggaran Timur*. Skripsi. Semarang. STIKES Ngudi Waluyo.
- Irmawati. 2013. *Keajaiban Antioksidan*. Jakarta : Padi Hal 1,7,9.
- Lingga, P. 1995. *Bertanam Belimbing*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lie, H dan Natalie. 2013. *Kinetika Penurunan Vitamin C dalam Jus Jeruk Keprok Selama Penyimpanan*. *Jurnal Kimia ISSN : 1987-0427* Hal. 5-1 2013 Surabaya : Universitas Surabaya.
- Molyneux, P. 2004. "The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl picrilhidraziyl (DPPH) For Estimating Antioxiidan Activitas. *J. Sci Technol.*,MarApr, Vol.26.
- Majewska D., M. Tarasewicz, D. Szczerbin, T. Karamucki, J. Sales. 2009. *Physicocchemical characteristics, proximate analysis and mineral compositon of ostrich meat as influenced by muscle*. *Food Chemistry* 117:207-211.
- Okawa, M., J. Kinjo, T. No hara, M. Ono. 2001. *Modifikasi Method DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl) Radical Seavenging Activity of Flavonoid Obtained from Some Medical Plants*. *Biol. Bull* 24 (10) : 1202 -1205.
- Tranggono,R.I., dan Latifah,F. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta : Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama Hal 76-77.
- Underwood, A. L. , Day, R. A. , 1999. *Analisa Kimia Kuantitatif*, (Edisi IV) , Jakarta : Erlangga
- Wariya, C. 2010. *Vitamin C Retention And Acceptability of orange (Citrus nobilis var. Microcarpa) Juice During Stroge In Refrigerator*. *Jurnal Agrisauns* Vol. 1 No. 1 ISSN : 2086-7719 Ham 51-52 Maret 2010 Yogyakarta : Universitas Marcu Buana.

Wijayakusuma, H. 2006. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta : Penebar Swadaya.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*, Kanisius. Yogyakarta.