

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi*)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF METHANOL EXTRACT OF WULUH
LEAVES (*Averrhoa bilimbi*)**

Evi Mustiqawati¹, Suparman Supardi^{1,2}, Juniadin³

¹Politeknik Baubau, Kota Baubau, Indonesia

²Politeknik Baubau, Kota Baubau, Indonesia

³Politeknik Baubau, Kota Baubau, Indonesia

etc

ARTICLE INFORMATION

Received: 16 April 2022

Revised: 20 April 2022

Accepted: 13 Mei 2022

KEYWORD

Antioksidan, Belimbing Wuluh, Spektrofotometri UV-Vis

Antioxidants, Belimbing Wuluh, UV-Vis Spectrophotometry

CORRESPONDING AUTHOR

Nama : Suparman Supardi

Address: Jln. Lakarambau

E-mail : suparmansupardi01@gmail.com

No. Tlp : 085256761234

A B S T R A C T

Daun belimbing wuluh memiliki kandungan zat aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat dan kalium sitrat. Tanin, flavonoid dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri. Banyak tanaman mengandung antioksidan, salah satunya adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Antioksidan adalah zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa Blimbi*) dilakukan proses maserasi pada sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa Blimbi*) kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol untuk menganalisis aktivitas antioksidan yang terdapat dalam daun belimbing wuluh (*Averrhoa Blimbi*) dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-vis. Hasil dari penelitian yang telah dilakukan pada spektrofotometri Uv-vis dengan panjang gelombang 517 dan telah diinkubasi selama 30 menit menunjukkan nilai IC₅₀ pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa Blimbi*) sebesar 288.82 mg/mL. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu, sifat antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh mengandung senyawa yang bersifat sebagai antioksidan.

Belimbing wuluh leaves contain active substances such as flavonoids, saponins, tannins, sulfur, formic acid, peroxidase, calcium oxalate and potassium citrate. Tannins, flavonoids and saponins which have antibacterial activity. Many plants contain antioxidants, one of which is starfruit leaves (Averrhoa bilimbi). Antioxidants are substances that can neutralize free radicals so that atoms with unpaired electrons gain electron pairs. This study aims to determine the antioxidant activity of the methanol extract of star fruit (Averrhoa Blimbi) leaves. The maceration process was carried out on samples of star fruit leaves (Averrhoa Blimbi) and then extracted using methanol as a solvent to analyze the antioxidant activity contained in the leaves of star fruit (Averrhoa Blimbi) using methanol. UV-vis spectrophotometry method. The results of the research that has been carried out on UV-vis spectrophotometry with a wavelength of 517 and has been incubated for 30 minutes shows the IC₅₀ value of the methanol extract of starfruit leaves (Averrhoa Blimbi) of 288.82 mg/mL. The conclusion of this study is the antioxidant properties of methanol extract. Belimbing wuluh leaves contain compounds that act as antioxidants.

PENDAHULUAN

Banyak tanaman mengandung antioksidan, salah satunya adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Antioksidan adalah zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron (Kosasih *et al*, 2004). Antioksidan atau reduktor berfungsi untuk mencegah terjadi oksidasi atau menetralkan senyawa yang telah teroksidasi dengan cara menyumbangkan hidrogen atau elektron (Silalahi & Ulber, 2006).

Telah banyak penelitian tentang uji antioksidan dari berbagai macam tumbuhan salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Hasim *et al*, 2019 tentang “Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Antioksidan Dan Antiinflamasi” dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hasil penelitian menyatakan bahwa “Pengaruh Rasio Daun dan Buah Belimbing Wuluh Terhadap Kapasitas Antioksidan, Kadar Tanin dan Sifat Fisik Minuman Fungsional Jamu Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*)” yang menyatakan bahwa aktivitas daun dan buah belimbing wuluh berpengaruh terhadap suhu dan waktu (Rosa *et al*, 2021).

Berdasarkan latar belakang diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antiksidan Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) pada daerah Baubau. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak metanol pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).

METODE

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium. Eksperimental merupakan modifikasi kondisi yang dilakukan secara sengaja dan terkontrol dalam menentukan peristiwa atau kejadian, serta pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada peristiwa itu sendiri.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus tahun 2021, bertempat di Laboratorium Farmasi Universitas Haluoleo Kendari.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah alat-alat gelas seperti baker glass 500 mL, labu ukur 5 mL, gelas ukur 1000 mL, Erlenmeyer 500 mL, cawan petri, cawan porselin, wadah botol, timbangan digital (AE ADAM), laboratorium blender, spektrofotometer UV-Vis (UV-1800), aluminium foil, incubator (ecocell), rotary evaporator (steroglass strike- 300), spatula, pipet tetes, ayakan mesh 10 dan vortex

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kertas saring, metanol 96%, serbuk DPPH, daun belimbing wuluh dan serbuk vitamin C sebagai kontrol positif (pembanding).

D. Pengambilan Sampel

Daun belimbing wuluh di ambil 100 gram dalam kondisi segar. Belimbing wuluh yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari salah satu tempat di kota Baubau yaitu di Betoambari.

E. Prosedur Kerja

1. Pengelolaan Sampel

Daun belimbing wuluh yang telah dipetik, dicuci, dikeringkan di udara terbuka dengan suhu ruangan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk dan diayak kemudian hasil ayakan disimpan pada wadah tertutup untuk dipakai pada perlakuan selanjutnya (Wulan *et al*, 2019)

2. Maserasi

Sampel sebanyak 50 gram dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 100 mL selama 3 kali 24 jam sambil sesekali diaduk. Hasil ekstraksi kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat (Wulan *et al*, 2019).

3. Ekstrasi

Filtrat yang diperoleh setiap pergantian larutan digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga mendapatkan ekstrak kental dari daun belimbing wuluh (Wulan *et al*, 2019).

4. Pembuatan Larutan DPPH

Cawan porselin ditimbang Sebanyak 0,004 gr serbuk DPPH dan dilarutkan dalam metanol 10 mL. Selanjutnya larutan DPPH sebanyak 1,5 mL ditambahkan pada konsentrasi larutan ekstrak daun belimbing wuluh.

dan divortex selama 2 detik. Berubahnya warna menjadi kuning menunjukkan bahwa, masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30 C Untuk mengetahui aktivitas dari penangkal

radikal bebas tersebut di uji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm (Wulan *et all*, 2019).

5. Pembuatan Larutan Vitamin C

Dipipet 1 mL larutan DPPH kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan dengan 3 mL methanol p.a lalu ditambahkan lagi 1 mL larutan vitamin C dengan semua seri konsentrasi kemudian dihomogenkan. Setelah tercampur lalu didiamkan kurang lebih 30 menit pada tempat gelap kemudian diukur panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

6. Pengujian Larutan Kontrol DPPH dan Pengujian Sampel.

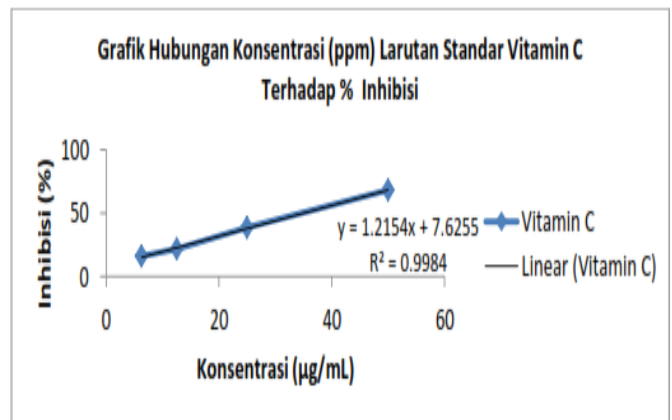
Larutan kontrol DPPH diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Setelah pengujian sampel dan pengujian kontrol, dilanjutkan pada pengujian vitamin C sebagai kontrol pembanding. Langkah pertama, cawan porselin ditimbang, vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg (0,01 gr). Kemudian, vitamin C dilarutkan dalam metanol sebanyak 10 mL, buat larutan stok dengan konsentrasi 6.25, 12.5, 25, dan 50 mg/L dengan ditambahkan masing-masing larutan dengan metanol mencapai tanda batas (5 mL), dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50 (Zakky & Wahyu, 2008).

HASIL & PEMBAHASAN

Dari penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol ini digunakan sampel daun belimbing wuluh. Lokasi sampel di ambil di salah satu kota Baubau yaitu di Kelurahan Lipu Kecamatan Betoambari.

Tabel 1. Pengukuran Nilai IC₅₀ Vitamin C

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol (Blanko)	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	6.25	0,711	0,463	16,034	34,86 ppm
	12.5	0,711	0,469	21,519	
	25	0,711	0,472	38,537	
	50	0,711	0,511	68,354	

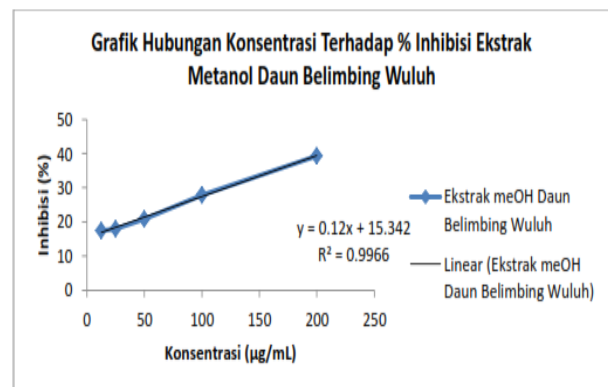


Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi Larutan Standar Vitamin C Terhadap Absorbansi

Absorbansi Vitamin C telah diukur, kemudian dilakukan penetapan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Pengukuran Nilai IC₅₀ Daun Belimbing Wuluh

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol (Blanko)	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
Daun Belimbing Wuluh	12.5	0,711	0,587	17,440	288,82 ppm
	25	0,711	0,584	17,862	
	50	0,711	0,563	20,816	
	100	0,711	0,513	27,848	
	200	0,711	0,432	30,241	



Gambar.2. Grafik Hubungan Konsentrasi ppm Larutan Uji Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh

Dari penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol ini digunakan sampel daun belimbing wuluh. Lokasi sampel di ambil di salah satu kota Baubau yaitu di Kelurahan Lipu Kecamatan Betoambari. Waktu pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari jam 07:00 WITA.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan vitamin C dan antioksidan terhadap sampel ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi*). Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan larutan uji, pembuatan larutan DPPH, pembuatan larutan vitamin C (control positif), pengukuran larutan pembanding lainnya.

1,1 defenil 2 pikrilhidrazil (DPPH) adalah radikal bebas yang stabil yang digunakan untuk mengevaluasi peredaman radikal bebas pada bahan alami. Prinsip reaksi metode ini adalah DPPH akan teroksidasi oleh proses donasi hydrogen oleh hydrogen electron sehingga senyawa akan berubah violet kekuningan dengan perubahan intensitas sebanding dengan jumlah electron yang akan diikuti penurunan absorbansi DPPH yang dapat dipertimbangkan antioksidan atau penangkapan radikal. Semakin besar penurunan absorbansi DPPH maka semakin kuat pula aktivitas antioksidan. Perubahan warna DPPH akibat reaksi dengan antioksidan.

Pengukuran absorbansi vitamin C dilakukan dengan konsentasi yang berbeda-beda yaitu 6.25, 12.5, 25, dan 50 dengan panjang gelombang 517 nm. Pengukuran absorbansi ini menggunakan absorbansi kontrol (blanko) 0.711. Dari hasil pengukuran absorbansi vitamin C dengan panjang gelombang 517 diperoleh nilai absorbansi maksimum 0.463 dengan nilai %inhibisi sebesar 16.034.

Pengukuran absorbansi dan %inhibisi sampel ekstrak metanol daun belimbing wuluh dilakukan untuk melihat nilai absorbansi maksimum dan nilai %inhibisi dari sampel. Pengukuran ini dilakukan dengan konsentrasi 12.5, 25, 50, 100, dan 200 dengan panjang gelombang 517 nm. Pengukuran absorbansi ini menggunakan absorbansi kontrol (blanko) 0,711 nm. Dari hasil pengukuran nilai absorbansi sampel dengan panjang gelombang 517 nm diperoleh nilai absorbansi maksimum 0,587 dan nilai %inhibisi sebesar 17,440.

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena pada penggunaan panjang gelombang 517 nm ini sudah dapat menghasilkan antioksidan yang kuat. Pengukuran absorbansi vitamin C dan sampel ekstrak metanol daun belimbing wuluh ditunjukkan dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9984 untuk vitamin c nilai (r) 0,9966 untuk ekstrak metanol daun belimbing wuluh ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan

tersebut linear. Perhitungan nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linear. Perhitungan IC_{50} untuk vitamin C diperoleh sebesar 34.89 ppm, dan pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh nilai IC_{50} diperoleh 288,82 ppm. Pada tingkat kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh berada pada tingkat yang lemah karena nilai IC_{50} yaitu 288.82 ppm. Ini dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah sifatnya yang mudah rusak bila terpapar cahaya, suhu tinggi, dan pengeringan.

Suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat kuat, nilai IC_{50} berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya dikategorikan kuat, nilai IC_{50} berada diantara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya dikategorikan sedang nilai IC_{50} berada diantara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya dikategorikan lemah sedangkan apabila nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah.

Pada ekstrak metanol daun belimbing wuluh tidak terjadi perubahan warna dikarenakan aktivitas antioksidannya sangat lemah. Dimana semakin besar penurunan absorbansinya maka semakin kuat antioksidannya.

PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil uji aktivitas ekstrak metanol daun belimbing wuluh dimana ekstrak tersebut memiliki nilai IC_{50} sebesar 288.82 mg/mL. Sifat antioksidan ekstrak metanol daun belimbing wuluh termasuk golongan antioksidan sangat lemah.

Adapun keterbatasan dalam penelitian ini yaitu waktu menunggu bahan dalam waktu yang lumayan lama.

DAFTAR PUSTAKA

- 13 Bahriul P., Rahman N., dan Anang W.M. Diah. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1- Difenil-2pikrilhidrazil. *J. Akademika Kim.* 3(3): 368-374. ISSN 2302-6030
- Dalimartha, S., 2008. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5. Pustaka Bunda, Jakarta, Indonesia, hal. 6-8.
- Departemen Kesehatan RI, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat

- Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., & Sudir, M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M (Smith) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaci Science Research*, 1(2).
- Hasim, Arifin YY, Andrianto D, Faridah DN. 2019. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Ibrahim, N., dan I. Yusriadi, 2014. Uji Efek Antipiretik Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Burm.F. Nees.) Dan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*). *Online Jurnal of Natural Science*, 3(3): 257- 268.
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157-164.
- Jin L, Zhang Y, Yan L, Guo Y. 2012. Phenolic Compound and Antioxidan Activity of Bulb Extract of Six Lilinum Species to China. *Molecules* 17:9361- 9378.
- Juniarti dkk 2009 “Kandungan Senyawa Kimia Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Dan Atioksidan (1,1-diphenyl-2- pikrilhidrazil) Dari Ekstrak Daun Saga (*Abrusprecatorius L.*)” Bagian Kimia Fakultas Kedokteran, Universitas YARSI, Jakarta 10510, Indonesia. *MAKARA, SAINS, VOL. 13, NO. 1, APRIL: 50-54*
- Kikuzaki, H.M., Hisamoto, K., Hirose, K., Akiyama, H., dan Taniguchi. 2002. Antioxidants properties of ferulic acid and its related compound. *Journal Agring. Food Chemistry*. 50 (7), 2161-2168
- Kikuzaki, H.M., Hisamoto, K., Hirose, K., Akiyama, H., dan Taniguchi. 2002. Antioxidants properties of ferulic acid and its related compound. *Journal Agring. Food Chemistry*. 50 (7), 2161-2168
- Kosasih, E.N., Setiabudhi, T., dan Heryanto, H. (2004). Peranan Antioksidan pada Lanjut Usia. Jakarta: Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia. Hal. 56- 57, 65-66.
- Maryani, H., L. Kristiana, (2004). Tanaman Obat Untuk Influenza. Agromedia Pustaka, Jakarta, Indonesia, hal. 17-18
- Middleton, E., Kandasawami, C., Theoharides, T.C. 2000. The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for infllamation heart disease, and cancer. *Phrarmacological reviews*. 52(4), 674-751.
- Muhammad QB, Wardatun S, Miranti M. 2013. Optimasi Ekstraksi Senyawa Flavonoid Total Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurnal Farmasi. FMIPA UNPAK, Bogor*.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.
- Putra, W.S., 2016. *Kitab Herbal Nusantara*. Katahati, Yogyakarta, Indonesia, hal.61
- Rahman, N., Marliyati, Sri A., Damanik, M.R.M., Anwar Faisal. 2015. Toksisitas Ekstrak Etanol Takokak (*Solanum torvum*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor.
- Rastuti, U., dan Purwati., 2012. Uji Antioksidan Ekstrak Daun Kalba (*Albizia falcataria*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil) dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekundernya. *Molekul*, 7(1): 33-42.
- Robinson, T, 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi Edisi Keenam*. Penerbit ITB, Bandung, Indonesia, hal 156-158.
- Rosa JA., Rina RF., Teti S. 2021. Kapasitas Antioksidan , Kadar Tanin dan Sifat Minuman Fungsional Jamu Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *Jurnal Inovasi Teknik dan Edukasi Teknologi*. Universitas Negeri Malang.
- Sayuti, K., R. Yenrina, 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press, Padang, Indonesia, hal. 1-81.
- Silalahi, Ulber. 2006. *Metode Penelitian Sosial*. Bandung: Unpar Press
- Suharto, M.A.P., H.J. Edy dan J.M. Dumanauw. 2016. Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dari ekstrak metanol batang pisang ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum L.*). *Jurnal Sains*. 3(1):86-92.
- Susanti, E. Y., 2016. Pengaruh Pemberian Sari Belimbing Wuluh(*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Wanita Hiperglikemia. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Valsan, A., Raphael, R.K. 2016. Pharmacognostic profile of *Averrhoa bilimbi* Linn. Leaves. *South Indian Journal of Biological Science* 2(1):75-80. DOI:10.22205/sijbs/2016/v2/i1/100347.
- Wijayakusuma H, 2000. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta : Penebar Swada.
- Wulan, Yudistira A, Rotinsulu H. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Mimosa Pudica Linn. Menggunakan Metode Dpph. *Jurnal Farmasi MIPA*. Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Yuliarti, N., 2009. *A to Z Food Supplement*. Andi Offset, Jakarta, Indonesia, hal.105.
- Zakky, C., & Wahyu, U. (2008). *Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak 70 % Biji Jengkol (Archidendron Jiringa)*.