

POTENSI ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT BIJI DAN KULIT PETAI (*Parkia speciosa* Hassk.)

Arum Setyaningtyas¹, Indri Kusuma Dewi², Agus Winarso³

^{1,2,3}Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surakarta

Program Studi Diploma III Jamu

arumsetyaningtyas@yahoo.co.id

ABSTRAK

Biji dan kulit petai mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Tujuan penelitian yaitu mengetahui potensi antioksidan ekstrak etil asetat pada biji dan kulit petai yang dinyatakan dengan Inhibitor Concentration 50 (IC_{50}). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 518 nm. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etil asetat biji petai mempunyai potensi aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 274,702 ppm sedangkan ekstrak etil asetat kulit petai aktivitas antioksidannya tidak aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 685, 857 ppm. Aktivitas antioksidan pada biji petai disebabkan adanya antioksidan enzimatis sehingga tidak dapat terdeteksi dengan metode DPPH dan kandungan utamanya protein, karbohidrat, mineral, asam amino yang cukup tinggi. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit petai menunjukkan tidak aktif, karena senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan tidak larut dalam pelarut etil asetat. Aktivitas antioksidan yang tidak terdapat pada kulit petai disebabkan kandungan utamanya yaitu pati dan serat. Kesimpulan penelitian adalah ekstrak etil asetat biji petai memiliki aktivitas antioksidan, sedangkan ekstrak etil asetat kulit petai tidak memiliki aktivitas antioksidan.

Kata kunci: biji petai, kulit petai, antioksidan, DPPH, IC_{50}

ABSTRACT

Petai seeds and petai shell are contain flavonoids that act as antioxidants. The purpose of research is to know the potential of the ethyl acetate extract antioxidant in seeds and petaishell expressed by Inhibitor concentration 50 (IC_{50}). Testing of antioxidant activity using DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 518 nm. The results showed the ethyl acetate extract petai seeds have potential antioxidant activity weak with IC_{50} value of 274.702 ppm while the ethyl acetate extract of petai shell antioxidant activity is not active with IC_{50} values of 685, 857 ppm. Antioxidant activity in seeds due to their antioxidant enzymatic petai so it can not be detected by DPPH and the main content of protein, carbohydrates, minerals, amino acids are quite high. The antioxidant activity of ethyl acetate extracts of petai shell showed inactive, because the active compounds that function as antioxidants are not soluble in ethyl acetate solvent. The antioxidant activity which is not present in petai shell due to the content of its main substance are starch and fiber. Conclusion of the study is the ethyl acetate extract petai beans have antioxidant activity, while the ethyl acetate extract of petai shell does not have antioxidant activity.

Keywords: petai seeds, petai shell, antioxidant, DPPH, IC_{50}

1. PENDAHULUAN

Pemakaian obat tradisional dalam bentuk jamu maupun tanaman obat masih berlangsung sampai sekarang bahkan mengalami peningkatan. Pencemaran udara di sekeliling kita yang banyak mengandung radikal bebas, tanpa disadari radikal bebas akan masuk kedalam tubuh menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif. Tubuh melawan radikal bebas dengan membentuk antioksidan alami sehingga terjadi kesetimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan (*unpaired electron*). Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas yang merusak tubuh ini dinetralkan oleh senyawa antioksidan (Winarsi, 2007).

Antioksidan dapat berupa enzim, vitamin (misalnya vitamin E, C, A), dan senyawa lain seperti flavonoid, karoten, albumin, dan lain-lain (Winarsi, 2007). Antioksidan diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal protein dan lemak. Senyawa ini melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Antioksidan dapat mencegah terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, *diabetes mellitus*, aterosklerosis, gagal ginjal, insomnia, rematik dan kanker maupun menghambat proses penuaan dini (Setyowati dkk, 2013).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beberapa tanaman terbukti bermanfaat dalam melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas, hal ini dikarenakan terdapatnya senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid (Niken dalam Syamsiyah, 2011). Salah satu tanaman di

Indonesia yang memiliki aktivitas antioksidan adalah petai (*Parkia speciosa* Hassk.).

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Metode DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang akan diujikan dengan melihat kemampuannya dalam menangkap radikal bebas DPPH. Sumber radikal bebas dari metode ini adalah senyawa 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). Prinsip dari uji ini adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenil pikrilhidrazil (Molyneux, 2004). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah IC_{50} (*inhibition concentration*). IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50% (Kurniawati dalam Wahyu, 2014)

Tujuan penelitian untuk mengetahui potensi aktivitas antioksidan biji dan kulit petai yang dibuat dalam bentuk ekstrak etil asetat menggunakan metode DPPH (1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil).

2. PELAKSANAAN

- a. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Jamu Politeknik Kesehatan Surakarta. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Juni 2015.
- b. Populasi pada penelitian ini adalah ekstrak etil asetat pada biji dan kulit petai yang dibuat di Laboratorium Jurusan Jamu Politeknik Kesehatan Surakarta. Biji dan kulit petai diperoleh dari Desa Kwadungan Kerjo Karanganyar.
- c. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etil asetat pada biji dan kulit petai masing-masing sebanyak 100 mg.
- d. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil Pengukuran	Skala
Uji aktivitas anti oksidan dengan metode DPPH	Uji aktivitas anti oksidan dengan metode DPPH adalah uji untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat pada biji dan kulit petai menggunakan radikal bebas yang stabil DPPH dalam larutan metanol, dan untuk mengetahui biji dan kulit petai apakah berpotensi menangkap radikal bebas DPPH.	Mengamati nilai absorbansi yang terbaca dalam spektrofotometri UV-Vis kemudian menghitung nilai IC ₅₀	Nilai IC ₅₀	Ordinal

3. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif non eksperimental dengan studi korelasional yaitu suatu desain yang digunakan untuk mengkaji pengaruh antara variabel.

Tahap pelaksanaan penelitian

- a. Pembuatan simplisia biji dan kulit petai
Hasil berat simplisia biji dan kulit petai pada tabel 1 :

Tabel 1. Hasil Berat Simplisia Biji dan Kulit Petai

Simplisia	Berat Bahan Basah (gram)	Berat Bahan Kering (gram)	Berat Serbuk Sampel (gram)
Biji Petai	1000	252	100
Kulit Petai	1000	260	100

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui berat basah biji petai sebesar 1000 gram menghasilkan berat simplisia sebesar 252 gram. Berat basah kulit petai sebesar 1000 gram menghasilkan berat simplisia sebesar 260 gram. Hasil simplisia biji dan kulit petai kemudian digunakan sebagai sampel serbuk simplisia masing-masing sebesar 100 gram.

- b. Pengukuran kadar air serbuk simplisia biji dan kulit petai

Cawan porselin dipanaskan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama 1 jam, kemudian cawan porselin dimasukkan dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang. Sampel 1-2 gram (W1) ditimbang dalam

cawan porselin yang sudah diketahui beratnya. Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 4-6 jam. Setelah masuk oven dididindingkan dalam desikator selama 15 menit dan dilanjutkan penimbangan (W2). Perlakuan di ulangi hingga berat konstan (Legowo dkk, 2007).

Kadar air dihitung berdasarkan bobot kering (*dry basis*) dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%DB)} = \frac{W3}{W2} \times 100\%$$

Keterangan :
W1 = Bobot sampel awal (gr)
W2 = Bobot sampel kering (gr)
W3 = selisih bobot/ kehilangan berat (gr)

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar Air Serbuk Simplisia Biji dan Kulit Petai

Sampel	Berat Serbuk (gram)	Suhu (°C)	Waktu (jam)	Hasil Pengukuran	
				Kadar Air (%)	Standart (%)
Serbuk Simplisia Biji Petai	2	100	4	4,373	<10
Serbuk Simplisia Kulit Petai	2	100	4	5,203	<10

Berdasarkan tabel 2, dapat diketahui kadar air serbuk simplisia biji petai yang diperoleh sebesar 4,373 % dan kadar air serbuk simplisia kulit petai sebesar 5,203 %, dari data di atas menunjukkan bahwa kadar air biji dan kulit petai sudah memenuhi standar <10 %.

- c. Ekstraksi biji dan kulit petai secara maserasi
Biji dan kulit petai setelah kering dihaluskan dengan cara diblender kemudian di ayak, hingga didapatkan serbuk halus. Serbuk biji dan kulit petai masing-masing 100 gram diekstraksi dengan pelarut etil asetat sebanyak 7,5 kalinya sampai semua serbuk terendam selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari dilakukan penyaringan sehingga diperoleh maserat. Maserat pertama ditampung, dan dilakukan remeserasi terhadap ampas dengan pelarut etil asetat sebanyak 2,5 kalinya serbuk selama 2 hari. Setelah 2 hari dilakukan penyaringan sehingga diperoleh maserat

kedua. Maserat pertama dan kedua diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental kemudian ditimbang. Hasil akhir ekstraksi diperoleh ekstrak etil asetat biji petai berbentuk kental berwarna hijau muda ketuaan yang memiliki aroma khas biji petai, sedangkan ekstrak etil asetat kulit petai berbentuk seperti serbuk berwarna putih kecoklatan yang memiliki aroma khas seperti kulit petai. Ekstrak etil asetat biji petai yang dihasilkan seberat 42,42 gram dan ekstrak etil asetat kulit petai yang dihasilkan seberat 12,87 gram.

- d. Pengukuran rendemen ekstrak
Pengukuran rendemen ekstrak diperoleh dari hasil proses maserasi merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dibagi dengan jumlah bahan sebelum dimaserasi dikali 100% (Depkes RI, 2000).
Persentase rendemen ekstrak dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Persentase rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobok simplisia (gram)}} \times 100\%$$

- e. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1 – Difenil – 2 – Pikrilhidrazil)
1. Pembuatan larutan baku DPPH 100 ppm
Pembuatan larutan baku DPPH 100 ppm dengan cara ditimbang sebanyak 10 mg DPPH kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur ad 100 ml, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan dijaga dari cahaya untuk segera digunakan.
 2. Penentuan *Operating Time*
Larutan DPPH 100 ppm diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang maksimum teoritis 517 nm dengan interval 1 menit, dimulai dari menit ke-0 hingga diperoleh serapan yang stabil.
 3. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan baku DPPH 100 ppm
Larutan DPPH 100 ppm dalam metanol diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang

gelombang 450-550 nm lalu ditentukan panjang gelombang maksimum.

4. Penyiapan sampel kerja untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa larutan kontrol negatif (DPPH), larutan kontrol positif (Vitamin C), larutan ekstrak etil asetat biji petai, dan larutan ekstrak etil asetat kulit petai.
 - a. Pembuatan dan pengukuran sampel kerja larutan kontrol negatif
Dipipet 3 ml metanol, ditambahkan 1 ml larutan DPPH 100 ppm, campuran dimasukkan dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.
 - b. Pembuatan sampel kerja pada ekstrak etil asetat biji petai dan pengukuran aktivitas antioksidan
Ditimbang ekstrak etil asetat biji petai sebanyak 100 mg kemudian larutkan dengan 100 ml metanol, hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Lalu dilakukan pengenceran sehingga diperoleh larutan sampel dengan beberapa konsentrasi (40, 60, 80, 100, 120 ppm) . Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsen-trasi dipipet 3 ml larutan sampel kemudian tambahkan 1 ml larutan DPPH 100 ppm, campuran dimasukkan dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi.
 - c. Pembuatan sampel kerja ekstrak etil asetat kulit petai dan pengukuran aktivitas antioksidan
Ditimbang ekstrak etil asetat kulit petai sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dengan 100 ml metanol, hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, lalu dilakukan pengenceran sehingga diperoleh larutan sampel dengan beberapa konsentrasi (40, 60, 80, 100, 120 ppm). Untuk

penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet 3 ml larutan sampel kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 100 ppm, campuran dimasukkan dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi.

- d. Pembuatan sampel kerja larutan vitamin C dan pengukuran aktivitas antioksidan
 Ditimbang 10 mg vitamin C dilarutkan dengan 100 ml metanol, hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm, lalu dilakukan pengenceran sehingga diperoleh larutan vitamin C dengan beberapa konsentrasi (15, 20, 25, 30, 35 ppm). Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet 3 ml larutan vitamin C lalu tambahkan 1 ml larutan DPPH 100 ppm, campuran dimasukkan dalam kuvet, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi.

Analisis data

- a) Hasil pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk menghitung persentase penangkapan radikal bebas DPPH. Dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

- % inhibisi : persentase penangkapan radikal bebas DPPH
- Abs kontrol : absorbansi DPPH
- Abs Sampel : absorbansi sampel + DPPH

- b) Persen inhibisi yang dihasilkan diploting dengan konsentrasi sampel dalam persamaan regresi linier untuk mendapat *slope* dan *intercept*.

Rumus regresi linear: $y = Bx + A$

Untuk memperoleh IC₅₀ dilakukan dengan memasukkan % inhibisi pada sumbu y=50, maka $x (IC_{50}) = \frac{y - A}{B}$ (Sudirman, 2011).

Keterangan :

- x : Konsentrasi sampel mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50%
- y : Persen inhibisi
- A : *Intercept*
- B : *Slope*

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Pengukuran Rendemen Ekstrak

Hasil rendemen ekstrak etil asetat biji dan kulit petai pada tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Biji dan Kulit Petai

Sampel	Rendemen Ekstrak (%)
Ekstrak etil asetat biji petai	41,95
Ekstrak etil asetat kulit petai	12,72

Berdasarkan tabel 4.1, dapat diketahui rendemen ekstrak etil asetat biji petai sebesar 41,95 % sedangkan rendemen ekstrak etil asetat kulit petai sebesar 12,72%.

Rendemen ekstrak yang diperoleh berdasarkan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat serbuk simplisia dikali 100% (Depkes RI, 2000). Berat sampel serbuk simplisia masing-masing 100 gram. Rendemen ekstrak etil asetat biji petai yang dihasilkan adalah 41,95% sedangkan rendemen ekstrak etil asetat kulit petai adalah 12,72%. Banyaknya senyawa aktif yang tersari dalam pelarut berpengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan. Pada ekstrak etil asetat kulit petai rendemennya lebih rendah dari ekstrak etil asetat biji petai diduga lebih

banyak senyawa aktif yang ada dalam ekstrak etil asetat biji petai dari pada ekstrak etil asetat kulit petai. Hal ini sesuai dengan dengan penelitian Sudirman (2011) tentang senyawa aktif kangkung air diduga lebih banyak yang bersifat semipolar yang ditunjukkan oleh besarnya rendemen ekstrak kasar pada pelarut etil asetat dibandingkan dengan yang bersifat polar maupun non polar.

Nilai rendemen ekstrak dibutuhkan dalam proses ekstraksi karena dapat digunakan sebagai acuan berapa banyak ekstrak yang dapat dihasilkan dari suatu sampel. Hal ini berkaitan dengan berapa banyak kandungan senyawa aktif yang dikandungnya, karena semakin besar rendemen dapat diasumsikan banyaknya kandungan senyawa aktif yang terdapat pada sampel tersebut (Romansyah,2011). Hal ini senada dengan yang dilaporkan oleh Nurhayati *et al.* (2009) dalam Romansyah (2011) bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen senyawa kimia yang terkandung di dalamnya.

b. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

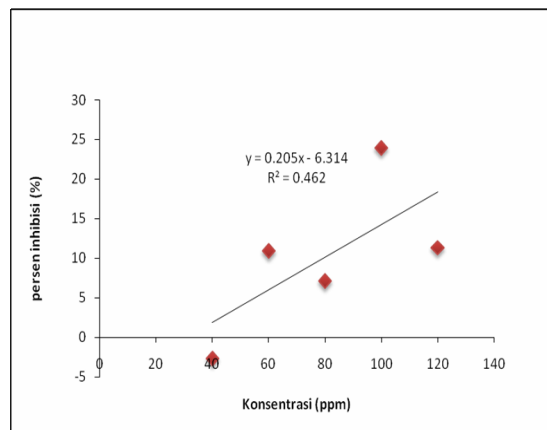
Pengujian aktivitas antioksidan dari sampel ekstrak etil asetat biji petai, ekstrak etil asetat kulit petai, dan vitamin C pada panjang gelombang 518 nm yang sudah dilakukan *scanning* panjang gelombang sebelumnya dan pada *operating time* ke-0. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat biji petai dapat dilihat pada tabel 4.2 sebagai berikut :

Ekstrak etil asetat biji petai dibuat menjadi lima seri konsentrasi, yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm.

Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etil asetat biji petai dengan persen inhibisi dapat dilihat pada gambar 4.1.

Tabel 4.2 Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Biji Petai

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Persen Inhibisi (%)	Rata-Rata Persen Inhibisi (%)	Persamaan Kurva Baku	IC ₅₀ (ppm)
Kontrol negatif	100	-	0,868	-	-	-	
Ekstrak etil asetat biji petai	40	I	0,822	5,299	-2,650	y = 0,205x - 6,314	274,702
		II	0,896	-3,226			
		III	0,909	-4,723			
	60	I	0,719	17,166	10,879		
		II	0,818	5,760			
		III	0,788	9,217			
	80	I	0,850	2,074	7,105		
		II	0,763	12,097			
		III	0,806	7,143			
	100	I	0,652	24,885	23,963		
		II	0,693	20,161			
		III	0,635	26,843			
	120	I	0,763	12,097	11,367		
		II	0,717	17,396			
		III	0,828	4,608			



Gambar 4.1 Hubungan konsentrasi ekstrak etil asetat biji petai dengan persen inhibisi

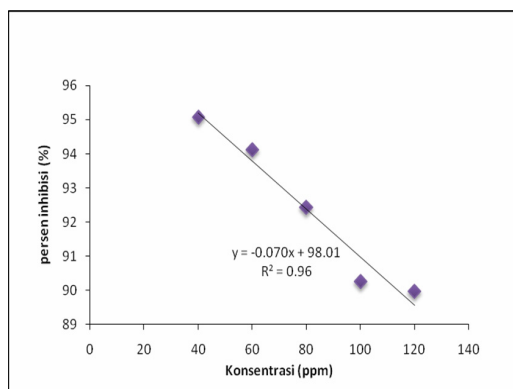
Berdasarkan hasil perhitungan persen peredaman radikal bebas dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasi dengan persen inhibisi seperti pada gambar 4.2 dan diperoleh persamaan regresi linier ekstrak etil asetat biji petai $y = 0.205x - 6.314$. Sehingga dapat diketahui nilai IC₅₀ pada ekstrak etil asetat biji petai sebesar 274,702 ppm.

Hasil perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit Petai dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Kulit Petai

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Persen Inhibisi (%)	Rata-Rata Persen Inhibisi (%)	Persamaan Kurva Baku	IC ₅₀ (ppm)
Kontrol negatif	100	-	0,868	-	-	-	
Ekstrak etil asetat kulit petai	40	I	0,038	95,622	95,084	$y = -0,070x + 98,01$	685,857
		II	0,038	95,622			
		III	0,032	94,009			
	60	I	0,079	90,899	94,125		
		II	0,039	95,507			
		III	0,035	95,968			
	80	I	0,100	88,479	92,435		
		II	0,059	93,203			
		III	0,038	95,622			
	100	I	0,083	90,438	90,246		
		II	0,076	91,244			
		III	0,095	89,055			
	120	I	0,104	88,018	89,977		
		II	0,047	94,585			
		III	0,110	87,327			

Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit petai dapat dilihat pada tabel 4.3. Ekstrak etil asetat kulit petai dibuat menjadi lima seri konsentrasi, yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etil asetat kulit petai dengan persen inhibisi dapat dilihat pada gambar 4.2 sebagai berikut :



Gambar 4.2 Hubungan konsentrasi ekstrak etil asetat kulit petai dengan persen inhibisi

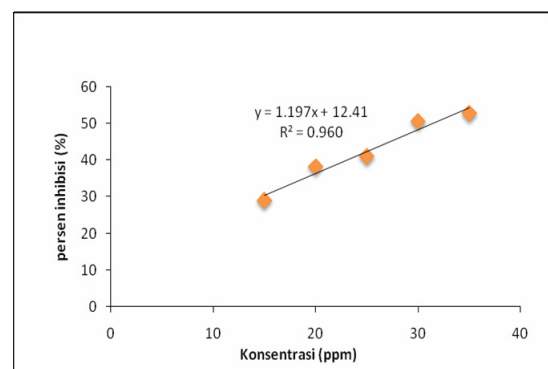
Berdasarkan grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etil asetat kulit petai dengan persen inhibisi diperoleh persamaan regresi linier ekstrak etil asetat kulit petai $y = -0.070x + 98.01$. Sehingga dapat diketahui nilai IC₅₀ pada ekstrak etil asetat kulit petai sebesar 685,857 ppm.

Hasil perhitungan aktivitas antioksidan vitamin C sebagai kontrol positif dapat dilihat pada tabel 4.4 sebagai berikut :

Tabel 4.4 Tabel Perhitungan Aktivitas Antioksidan Vitamin C sebagai kontrol positif

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Persen Inhibisi (%)	Rata-Rata Persen Inhibisi (%)	Persamaan Kurva Baku	IC ₅₀ (ppm)
Kontrol negatif	100	-	0,868	-	-	-	
Vit. C	15	I	0,627	27,765	29,032	$y = 1,197x + 12,41$	31,403
		II	0,622	28,341			
		III	0,599	30,991			
	20	I	0,509	41,359	38,249		
		II	0,538	38,018			
		III	0,561	35,369			
	25	I	0,491	43,433	41,014		
		II	0,503	42,051			
		III	0,542	37,558			
	30	I	0,414	53,304	50,640		
		II	0,438	49,539			
		III	0,442	49,078			
	35	I	0,359	58,641	52,765		
		II	0,439	49,424			
		III	0,432	50,230			

Hasil aktivitas antioksidan vitamin C dapat dilihat pada tabel 4.4. Vitamin C dibuat menjadi lima konsentrasi yaitu 15, 20, 25, 30, dan 35. Grafik hubungan antara konsentrasi vitamin C sebagai kontrol positif dengan persen inhibisi dapat dilihat pada gambar 4.3 sebagai berikut :



Gambar 4.3 Hubungan konsentrasi vitamin C dengan persen inhibisi

Berdasarkan grafik hubungan antara konsentrasi vitamin C dengan persen inhibisi diperoleh persamaan regresi linier vitamin C $y = 1.197x + 12.41$, sehingga dapat diketahui nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 31,403 ppm.

Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat biji petai memiliki nilai IC_{50} sebesar 274,702 ppm, sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit petai memiliki nilai IC_{50} sebesar 685,857 ppm. Berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH dari Kurniawati dalam Wahyu (2014) senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat bila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat 50-100 ppm, sedang 101-250 ppm, lemah 250-500 ppm dan tidak aktif nilai IC_{50} -nya > 500 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat biji petai termasuk dalam kategori antioksidan lemah sedangkan pada ekstrak etil asetat kulit petai termasuk dalam kategori antioksidan tidak aktif. Nilai IC_{50} adalah salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50% dengan menggunakan persamaan regresi linier $y = A + Bx$ hubungan antara konsentrasi ekstrak etil asetat biji petai, ekstrak etil asetat kulit petai, vitamin C dengan persen inhibisi yaitu dengan mengganti nilai y dengan 50 (Sudirman, 2011). Semakin kecil nilai IC_{50} yang dihasilkan maka memiliki keefektifan sebagai penangkal radikal bebas yang lebih baik, dan sebaliknya (Syamsiyah, 2011).

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif yang berfungsi untuk memastikan bahwa metode yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan cukup baik dan digunakan untuk membandingkan aktivitas antioksidan dengan sampel yang di uji. Bila dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C, Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki $IC_{50} < 50$ ppm yaitu 31,403 ppm. Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etil asetat biji petai maupun ekstrak etil asetat kulit petai, hal ini dapat dilihat dari nilai IC_{50} vitamin C paling rendah dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak etil asetat biji dan kulit petai.

Vitamin C mempunyai 2 tempat abstraksi hidrogen yang terhubung secara internal, sehingga ada abstraksi lanjutan setelah abstraksi hidrogen pertama oleh radikal DPPH, hal ini

menyebabkan perbandingan stoikiometrinya 2:1, artinya 2 molekul DPPH ditangkap atau direduksi oleh 1 molekul vitamin C (Wahyu, 2014). Vitamin C dengan nilai IC_{50} 31,403 ppm menandakan sudah mampu menghambat 50% radikal bebas dari DPPH.

Pada penelitian ini uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak etil asetat biji dan kulit petai yang menggunakan etil asetat sebagai pelarut yang hanya dapat menyari senyawa yang bersifat semi polar. Sedangkan pada penelitian sebelumnya uji aktivitas antioksidan pada biji dan kulit petai yang dilakukan menggunakan pelarut etanol 30% yang merupakan pelarut dengan kepolaran lebih tinggi daripada pelarut kloroform yang merupakan pelarut non polar (Amarnath, 2004). Hasil penelitian Amarnath (2004) menggunakan ekstrak etanol 30%, uji aktivitas antioksidan pada biji dan kulit petai senyawa antioksidan dalam biji dan kulit petai cenderung bersifat polar.

Aktivitas antioksidan yang terdapatkan pada ekstrak etil asetat biji petai disebabkan karena adanya kandungan flavonoid, asam askorbat, fenol dan turunannya (Mohammed *et al* dalam Amarnath, 2004). Aktivitas antioksidan yang terdapat pada biji petai juga dapat disebabkan oleh adanya antioksidan yang bersifat enzimatis yang tidak dapat terdeteksi dengan metode DPPH, yaitu superoksida dismutase (SOD). Jenis SOD tersebut, yaitu Fe-SOD dan Zn-SOD yang terdapat pada kloroplas serta Mn-SOD yang terdapat pada mitokondria dan peroksisom (Winarsi 2007). Menurut Suvachittanant dan Pothirakit (1988) dan Mohamed *et al* (1987) dalam Amarnath (2004) pada biji petai kandungan utamanya adalah zat protein, karbohidrat, mineral, asam amino yang cukup tinggi sehingga menghasilkan kadar antioksidan yang tidak cukup tinggi.

Dari studi literatur menunjukkan bahwa tanaman petai mengandung senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan alami (Amarnath, 2004). Biasanya senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenol karena mempunyai gugus hidroksi yang terdistribusi pada pada posisi ortho dan para terhadap gugus -OH dan -OR. Perubahan warna DPPH terjadi karena adanya senyawa yang dapat

memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,2-difenil-2-pikrilhidrazin) (Purwaningsih, 2012).

Pada ekstrak etil asetat kulit petai aktivitas antioksidannya tidak aktif, karena senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan tidak larut dalam pelarut etil asetat yang digunakan sehingga tidak mampu mendonorkan atom H pada DPPH. Tidak adanya aktivitas antioksidan yang terdapat pada kulit petai juga dapat disebabkan oleh kandungan utamanya yaitu pati dan serat. Hal ini sesuai dengan penelitian Gan dan Latiff (2011) yang menunjukkan bahwa kulit petai terdiri dari pati dan serat. Hasil penelitian Amarnath (2004) menunjukkan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan tidak ditemukan pada di kulit petai.

5. KESIMPULAN

- a. Rendemen ekstrak etil asetat biji petai sebesar 41,95% sedangkan ekstrak etil asetat kulit petai sebesar 12,72%.
- b. Ekstrak etil asetat biji petai memiliki aktivitas antioksidan dan ekstrak etil asetat kulit petai tidak memiliki aktivitas antioksidan.
- c. Ekstrak etil asetat biji petai lebih berpotensi sebagai antioksidan lemah, dengan nilai IC_{50} sebesar 274,702 ppm dibandingkan ekstrak etil asetat kulit petai yang antioksidannya tidak aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 685,857 ppm.

SARAN

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak biji dan kulit petai dengan fraksinasi pelarut dari polar, semipolar, dan nonpolar untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari biji dan kulit petai agar diperoleh nilai IC_{50} yang maksimal.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi kandungan kimia misalnya alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin dari ekstrak etil asetat biji dan kulit petai untuk mengembangkan penelitian pada ekstrak etil asetat biji dan kulit petai.

6. REFERENSI

- _____. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- _____. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- _____. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jilid 2. Jakarta Departemen Kesehatan RI
- _____. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI
- _____. 2012. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. Volume 1. Jakarta : Badan Pengawas obat dan Makanan Republik Indonesia
- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Buku ke-2. Jakarta: Salemba Medika
- Amarnath, B., 2004. *A Study On Antioxidant Nature of Petai (Parkia speciosa)*. [Thesis]. National University Of Singapore. Singapore
- Arikunto, Suharsimi. 2006. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Jakarta. Rineka Cipta
- Bernasconi, G. Gerster, H. Hauser, H. Stauble, H. Schneiter, E. 1995. *Teknologi Kimia Bagian 2*. Edisi pertama. Jakarta: PT. Pradaya Paramita
- Dewi I,K dan Rusita Y,D. 2014. *Buku Petunjuk Praktikum Analisis Instrumen*. Surakarta: Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Surakarta
- Ernawati, A. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Sarang Semut (Myrmecodiapendens Merr. & Perry) dan Ekstrak Daun Sirsak (Annonamuricata Linn.) dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrilhidrazyl)*. [Karya Tulis Ilmiah]. Akademi Farmasi Nasional. Surakarta
- Fairus, B. Dara, A. Firmansyah, H., 2013. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Petai (Parkias speciosa) Sebagai Antioksidan Alami untuk Meningkatkan Kualitas Karkas Ayam Broiler*. [Laporan Akhir]. Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Karadag, A. Ozcelik B. Saner, S. 2009. *Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities, Food Analytical Methods*. Vol.2:41-60
- Kusuma, N.D. 2010. *Aktivitas Antioksidan Fraksi-Fraksi Ekstrak Metanolik Daun Ceremai (Phyllanthusacidus (L.) Skeels) terhadap Radikal Bebas 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH)*. [Skripsi]. Universitas Setia Budi. Surakarta
- Legowo, A. Nurwantoro. Sutaryo. 2007. *Buku Ajar Analisis Pangan*. Semarang : Universitas Diponegoro
- Marliana, Eva. 2012. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (Cordylinefruticosa (L) A. Cheval.* [Jurnal]. *Mulawarman Scientifie* Vol 11 (1). Universitas Mulawarman. Samarinda
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology* Vol. 26 (2): 211-219
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung : Alfabeta
- Notoatmojo, S. 1993. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Notoatmojo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Cetakan Kedua. Jakarta: Rineka Cipta
- Purwaningsih, S. 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (Cerithidea obtusa)*. [Jurnal]. *Ilmu Kelautan* Vol. 17 (1) 39-48. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Putri, W.S. 2013. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (Garcinia mangaostana L.)*. [Jurnal]. Universitas Udayana. Bali
- Romansyah, Y., 2011. *Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidan Karang Lunak Sarcophyton Sp. Alami dan Transplantasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Soewoto, H. 2001. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Setyowati, W. A. E. Ariani, S. R.D., Ashadi., Mulyani, B., 2013. *Analisis Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan dan Anti infertilitas Kontrasepsi Kulit Buah Durian (Duriozibethinus Murr.) Varietas Petruk*. [Laporan Akhir]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Sudirman, S. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kangkung Air (Ipomoea aquatic Forsk.)*. [Skripsi]. Jurusan perikanan dan ilmu kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Sugiyono, 2010. *Metode Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta
- Sugiyono, 2012. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta
- Sunanto, H. 1995. *Budidaya Petai dan Aspek Ekonominya*. Cetakan Ketiga. Jakarta: Kanisius
- Syamsiyah, I. N. 2011. *Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Herba Tempuyung (Sonchus arvensis L.) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH)*. [Karya Tulis Ilmiah]. Akademi Farmasi Nasional. Surakarta
- Tobing, Tetty. VWL. 2013. *Studi Pemanfaatan Ekstrak Kulit Petai (Parkia speciosa) sebagai Antioksidan Alami*. [Thesis]. Universitas Negeri Medan. Medan
- Wahyu, I. 2014. *Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Mete (Anacardium Occidentale L.) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil)*. [Karya Tulis Ilmiah]. Akademi Farmasi Nasional. Surakarta
- Winahyu, I. P., 2007. *Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Petai (Parkia speciosa Hassk) secara In-Vitro*. [Skripsi]. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius