





## Stabilitas Antioksidatif Ekstrak Metanolik Biji Duwet (*Syzygium cumini*) pada Berbagai Derajat Keasaman Larutan Penyangga

### *Antioxidant Stability of Methanolic Java Plum (*Syzygium cumini*) Seed Extract over Buffer Solution*

Rohadi\*, Iswoyo, Dewi Larasati

Universitas Semarang, Semarang

Corresponding author: rohadjarod\_ftp@usm.ac.id\*

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

#### Abstrak

Antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT masih banyak digunakan untuk pengawetan produk pangan berminyak. Ekstrak metanolik biji duwet (EMBD) kaya senyawa antioksidan fenolik seperti (+)- katekin, kuersetin, (+)-epikatekin, rutin, asam galat, asam elagat dan kaemferol dan bersifat antioksidan kuat terhadap penangkapan radikal bebas *1,1-diphenyl, 2-picryl hydrazyl* (RSA-DPPH) dan daya reduksi ion feri (FRAP). EMBD potensial sebagai kandidat antioksidan alami. Produk pangan tradisional berminyak seperti wajik, dodol, jenang dan geplak lazim ditambahkan bahan pengasam (*acidulant*) sebagai antijamur dan antibakteri. Namun demikian makanan tradisional tersebut sering rusak mutu karena proses tengik. EMBD potensial pengganti antioksidan sintetik untuk mencegah kerusakan minyak. Dalam penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor (derajat keasaman), 7 perlakuan (buffer pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10), 3 kali ulangan dengan variabel pengamatan nilai RSA-DPPH dan FRAP. Data terkumpul dianalisis varian (ANOVA) dan jika terdapat perbedaan yang nyata perlakuan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat keasaman (pH) larutan penyangga berpengaruh nyata terhadap stabilitas kapasitas penangkapan radikal bebas dan daya mereduksi ion feri ( $Fe^{3+}$ ) dari EMBD ( $p < 0,05$ ). EMBD potensial diaplikasikan pada proses pangan kisaran pH 6-9 dengan IC50 149-119 ppm.

**Kata kunci:** Antioksidan; ekstrak biji duwet; derajat keasaman; IC50

#### Abstract

*Antioxidant sintetic such as BHA and BHT is still used as preservation for food lipid products. Methanolic extract of Java Plum seed (MEJS) is rich of antioxidant phenolics compound such as (+)- catechine, quercetine, (+)- epicatechine, rutine, gallic acid, ellagic acid, and kaempherol. In addition, it also has the strongest radical scavenging activity of 1,1-diphenyl, 2-picryl hydrazyl (DPPH) and reduction of ferric ion ( $Fe^{3+}$ ). MEJS is potentially as source of natural antioxidant. In processing of the traditional food lipid product as such as Wajik, Dodol, Jenang and Geplak are normaly added acidulant in order as antifungi and antibacterial. Nevertheless that the traditional food above belongs evidance deterioration in quality i.e. off flavor (rancidity). MEJS has potential to replace sintetic antioxidant for prohibiting oxidative lipid damage. The experiments used the completely randomized design (CRD), one factor (acidity level), seven treatments (buffer pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, and 10) and 3 replications. The data were analysed by an analysis of variance ( $p < 0.05$ ) and the mean separate by Duncan's multiple range test. The research showed that the buffer solution had significant effect toward radical scavenging activity DPPH and ion ferric reduction ( $p < 0.05$ ). So MEJS had potential to be applied on food processing in range of pH 6-9 with IC50 149-119 ppm.*

**Keywords:** Antioxidant; Java Plum seed extract; acidity; IC50

#### PENDAHULUAN

Antioksidan sintetik *butylated hydroxyanisole* (BHA) lazim ditambahkan pada proses pangan dan efektif mencegah rusak oksidatif minyak. Namun demikian penggunaan antioksidan sintetik masih menimbulkan keraguan konsumen terhadap dampak kesehatan (Vayupharp dan Laksanalamal, 2011). BHA dikategorikan sebagai bahan yang “*reasonably*



*anticipated to be human carcinogens*, (Departemen Kesehatan dan Pelayanan Umum, Amerika Serikat, 2016). Antioksidan alami dipandang sebagai alternatif tepat pengganti antioksidan fenolik sintetik BHA. Ekstrak metanolik biji duwet (EMBD) kaya senyawa antioksidan fenolik seperti (+)- *catechin*, *quercetin*, (+)-*epicatechin*, rutin, asam galat, asam elagat dan kaemferol dan bersifat antioksidan kuat terhadap penangkapan radikal bebas 1,1-diphenyl,2-picryl hydrazyl (DPPH) dan daya mereduksi ion feri ( $Fe^{3+}$ ) (Rohadi *et al.* 2017<sup>a</sup>; Rohadi *et al.* 2017<sup>b</sup>). EMBD sebagai kandidat antioksidan alami.

Stabilitas antioksidan terhadap proses termal dan kimia pada proses pangan dan selama penyimpanan sangat penting. Sebelum diaplikasikan pada proses pangan, kandidat antioksidan penting dikarakterisasi sifat-sifatnya. Antioksidan asam sitrat, sodium eritorbat, BHA, *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) menurun sifat antioksidannya dan terdekomposisi pada pemanasan suhu kurang dari 180 °C, namun antioksidan asam askorbat dan *prophyl galat* (PG) relatif stabil dan tahan pada pemanasan 180-200 °C (Reda, 2011). Pemanasan ekstrak teh putih (ETP) dalam oven (3 menit), mampu meningkatkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH, dengan indikator nilai IC50 dari 320 ppm (30°C) -182,5 ppm (120°C) (Rohadi dan Wahjuningsih, 2019). Stabilitas antosianin ekstrak "*Romanian Red Onion*", dilaporkan menurun tajam pada peningkatan pH dari 1-9 selama penyimpanan (Oancea dan Draghici, 2013). Dilaporkan Oancea dan Draghici, (2013) penurunan stabilitas antosianin disebabkan oleh peristiwa pencoklatan baik secara enzimatis maupun nonenzimatis.

Antioksidan bersifat sensitif terhadap proses termal dan pH lingkungan. Pemanasan suhu tinggi dapat menurunkan sifat antioksidatifnya serta merusak struktur kimia senyawa penyusunnya (Reda, 2011; Chamorro *et al.*, 2012; Hihat *et al.*, 2017). Nilai kontanta kecepatan degradasi (*k*) antosianin selama masa simpan meningkat 17 kali bilamana pH naik dari pH 1-9 (Oancea dan Draghici, 2013). Tujuan penelitian ini adalah menginvestigasi aktivitas penangkapan radikal bebas dan daya mereduksi dari EMBD pada berbagai pH larutan penyangga. Aktivitas penangkapan radikal bebas dikerjakan dengan uji penangkapan radikal bebas 1,1-diphenyl, 2-picryl hydrazyl (RSA-DPPH) dan daya mereduksi ekstrak, dengan uji reduksi ion feri (FRAP) pada suhu ruang. Diharapkan hasil riset bermanfaat untuk memilih kondisi pH aplikasi EMBD yang sesuai.

## METODE

Bahan bubuk biji Duwet varietas "Genthong" (60 mesh, kadar air < 10%). Bahan kimia meliputi: metanol > 99.5% (Merck), asam galat hidrat, asam tanat (Sigma-Aldrich, Belgium), katekin (Sigma Chemical Co. St. Louis USA), *butylated hydroxyanisole* -BHA (Sigma Chemical Co.), asam hidroklorida (HCl), fero klorida ( $FeCl_2$ ), feri klorida ( $FeCl_3$ ), amonium thiosianat,  $K_3Fe(CN)_6$ , *trichloroacetic acid* (TCA), asam tungsto-fosforik, 1,1-diphenyl 2-picrylhydracylradical (DPPH) (Sigma-Aldrich Chemical Co.), kertas saring Whatman (Whatman International, Ltd. England), Folin-Ciocalteu *reagent* dan buffer pH 4-10. Reagen kimia dan standar yang digunakan dalam kategori pro-analisis. Peralatan yang dipakai adalah timbangan analitik Shimadzu AUW 120 (Shimadzu, Kyoto Japan), a *rotary vacuum evaporator* (IKA-RV10 Basic), *freeze dryer* (Virtis SP Scientific Sentry 2.0), oven, vortex (Velp Scientifica Europe), water-bath shaker (Julabo SW 22) dan UV-Visible spectrophotometer (UV1601 Shimadzu, Japan).

### Pembuatan Bubuk Biji Duwet

Buah duwet segar varietas Gentong dipisahkan daging buah (*pulp*), diperoleh biji buah. Biji buah dipotong menjadi beberapa bagian dengan pisau, selanjutnya dikeringkan menggunakan pengering kabinet ( $55 \pm 5^\circ C$ ). biji kering diambil kernel dan dipisahkan dari *husk* dan kulit ari. Kernel digiling dengan penggiling biji-bijian dan diayak sehingga diperoleh bubuk biji duwet (BBD) ukuran 60 mesh berkadar air < 10%. BBD dikemas dengan



pengemas kertas semen, diwadahi dengan *plastic jars* kedap udara dan disimpan pada ruang kering dan gelap, hingga penggunaan berikutnya.

### **Proksimat BBD**

BBD dilakukan analisis proksimat yang meliputi analisis kadar air metode gravimetri, (Latimer, 2005), kadar protein total metode Kjeldhal (Latimer, 2005), kadar lemak metode Soxhlet (Latimer, 2005), kadar abu metode gravimetri (Latimer, 2005), kadar serat kasar metode hidrolisis asam dan basa juat (Latimer, 2005), dan karbohidrat metode *by difference* menurut (Latimer, 2005).

### **Ekstraksi BBD dikerjakan menurut Rohadi *et al.*, (2016) dengan modifikasi.**

Sebanyak 30 g BBD diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol : air (1:1) dengan rasio bahan:pelarut (1:10) dengan metode maserasi pada *water bath shaker* ( $40 \pm 1^\circ\text{C}/6$  jam, 100 rpm). Campuran difiltrasi dengan kertas saring Whatman, ekstrak yang diperoleh ditampung pada gelas Elenmeyer 1 liter. Residu diekstraksi dengan metode yang sama sebanyak dua kali. Ekstrak yang diperoleh dikoleksi dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* ( $55 \pm 5^\circ\text{C}$ ), sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat selanjutnya dikeringbekukan dengan *freeze dryer*, sehingga diperoleh ekstrak metanol biji duwet (EMBD). EMBD disimpan pada suhu rendah ( $-18^\circ\text{C}$ ) untuk penggunaan selanjutnya.

### **Uji Total Fenolik**

Uji total fenolik dikerjakan dengan reagen Folin–Ciocalteu menurut (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008). Secara ringkas, sebanyak dengan 0,5 mg EMBD dilarutkan dalam 1 ml metanol dan ditambahkan 0,5 reagen Folin Ciocalteu (1:1) di homogenkan, lalu dibiarkan selama 8 menit. Pada campuran ditambahkan 4,5 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2%, disimpan di ruang gelap (suhu kamar selama 60 menit), selanjutnya diukur absorbansinya (UV-1601 Shimadzu, Japan) pada  $\lambda = 765$  nm. Nilai OD diplotkan pada persamaan regresi kurva standar asam galat, sehingga dapat diketahui konsentrasi total fenolik ekstrak dan dinyatakan dengan g-GAE/g- ekstrak.

### **Uji Total Flavonoid**

Uji total flavonoid dikerjakan menurut (Ebrahimzadeh *et al.* 2008). Sebanyak 0,5 mg EMBD dilarutkan dalam 1,5 ml metanol dan ditambahkan 0,1 ml aluminium khloride 10%, 0,1 ml potasium acetat 1M dan 2,8 ml aquades dan dihomogenkan. Campuran disimpan pada suhu ruang selama 30 menit, selanjutnya ditera absorbansi/OD (UV-1601 Shimadzu, Japan) pada  $\lambda = 415$  nm. Nilai OD diplotkan pada persamaan regresi linier kurva standar (+)-*catechin*, sehingga dapat dihitung total flavonoid sebagai g-CE/g ekstrak.

### **Uji Total Tanin**

Uji total tanin dikerjakan menurut menurut Palici *et al.* (2005). Sebanyak 2mL dari tiap konsentrasi EMBD (0,01 - 0,001 %) dan padanya ditambahkan 1mL tungstophosphoric acid dan 17 mL larutan natriumkarbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 50%. Didiamkan selama 2 menit, kemudian ditera absorbansinya pada  $\lambda = 750$  nm. Catat nilai absorbansinya (*OD*) tiap-tiap konsentrasi selanjutnya diplotkan pada kurva standar asam tanat.

### **Penyiapan Larutan Penyangga Fosfat**

Larutan penyangga (*buffer*) fosfat berbagai pH (4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10) disiapkan sesuai prosedur Sudarmadji *et al.* (1981). Secara ringkas disiapkan larutan A dengan cara mencampurkan asam sitrat (6,008 g),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3,893 g),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (1,769 g) dan asam *diethylbarbiturat* (5,266 g) diencerkan dengan aquades sampai 1 liter. Larutan B berupa larutan 0,2 N NaOH. Untuk membuat larutan *buffer* berbagai pH sebagaimana disebutkan di atas, maka dilaksanakan dengan cara berikut: 100 mL larutan A + 15,5 mL larutan B (pH= 4), 100 mL larutan A + 27,1 mL larutan B (pH = 5), 100 mL larutan A + 38,9 larutan B (pH = 6), 100 ml larutan A + 50,6 larutan B (pH = 7), 100 ml larutan A + 63,7 ml larutan B (pH = 8), 100 ml larutan A + 72,7 ml larutan B (pH = 9) dan 100 mL larutan A + 80,8 ml larutan B (pH = 10). Larutan penyangga fosfat digunakan sebagai pelarut EMBD.

### **Uji Penangkapan Radikal Bebas dalam larutan penyangga**





Uji penangkapan radikal bebas DPPH (*radical scavenging activity-DPPH*) dalam berbagai derajat keasaman (pH) dilakukan menurut Vasi dan Austin, (2009) dengan modifikasi. Larutan 0,5 ml EMBD dari beragam konsentrasi (25, 50, 100, 200, dan 400 ppm), pada pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 digunakan sebagai sampel. Pada tiap-tiap sampel ditambah 0,5 ml larutan DPPH (100  $\mu$ M) dalam metanol, lalu dihomogenisasi pada rpm tinggi, selanjutnya campuran diinkubasi pada suhu ruang ( $37 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Setelah 15 menit, ditera nilai absorbansinya pada  $\lambda = 517$  nm. Antioksidan BHA dan vitamin C digunakan sebagai pembanding dan disiapkan kontrol (tanpa ekstrak). Eksperimen dilakukan tiga kali ulangan. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dapat dihitung dengan persamaan Vasi dan Austin (2009):

$$\text{Persentase (\%)} \text{ RSA-DPPH} = 1 - \left[ \frac{\text{Abs.sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \right] \times 100 \% \dots\dots\dots 1.$$

#### Uji Total Daya Reduksi ion feri ( $\text{Fe}^{3+}$ )

Uji aktivitas daya mereduksi ion feri ( $\text{feri}^{3+}$ ) EMBD dikerjakan menurut Vasi dan Austin, (2009). Sampel sebanyak 2,5 ml larutan EMBD, BHD dan vitamin C beragam konsentrasi (25, 50, 100, 200 dan 400 ppm), dicampur dengan 2,5 ml *buffer phosphate* (0,2 M/pH= 6,6) dan 2,5 ml potasium ferricyanide ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ , 1%. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu  $50^\circ\text{C}$  selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan 2,5 ml *trichloroacetic acid* (TCA) 10% untuk menghentikan reaksi dan disentrifugasi pada 3.000 rpm selama 10 menit. Lapisan bagian atas sebanyak 2,5 ml dicampur dengan aquades (2,5 ml) dan 0,5 ml  $\text{FeCl}_3$  0,1% dan ditera absorbansinya masing-masing sampel dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 700$  nm. Peningkatan absorbansi (OD) sebagai indikator peningkatan daya mereduksi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Proksimat BBD

Hasil analisis proksimat bubuk biji duwet yang digunakan sebagai sampel adalah kadar air,  $9,1 \pm 0,1$  %, lemak  $0,25 \pm 0,04$ %, protein  $3,89 \pm 0,02$ %, serat kasar  $2,14 \pm 0,07$ %, abu  $1,07 \pm 0,01$  % dan karbohidrat  $85,73 \pm 0,1$ %. Biji duwet merupakan limbah padat dari buah duwet sumber serat pangan (*dietary fiber*). Disamping kaya serat pangan, biji duwet diketahui mengandung gula sukrosa 1,68%, fruktosa 2,78% dan glukosa, 2,24 %, serta sumber kalium (K), 8813 ppm dan magnesium (Mg) 2162 ppm (Rohadi *et al.* 2016). Hasil (*yield*) ekstraksi BBD dengan pelarut metanol:air (1:1) sebesar  $12,84 \pm 0,8$ %. Hasil tersebut sedikit lebih rendah dari penelitian sebelumnya  $13,89 \pm 0,5$  % (Rohadi *et al.* 2016). Perbedaan tersebut diduga karena perbedaan tingkat kesegaran sampel. Vasi dan Austin, (2009) menyebutkan *yield* ekstraksi biji duwet dengan pelarut etanol 50% sebesar 12,96%, nilai yang tidak jauh berbeda dengan hasil tersebut.

### Senyawa Bioaktif EMBD

Hasil analisis komponen senyawa fenolik (*phenolic compound*) pada EMBD diekspresikan melalui tiga cara yaitu: 1) dengan total fenolik, yang disetarakan dengan asam galat (*gallic acid equivalent*) merujuk pada persamaan kurva standar  $y_1 = 7,145x - 0,034$   $R^2 = 0,986$ , 2) total flavonoid, yang disetarakan dengan (+)- catechin/ ((+)- *catechin equivalent*) yang merujuk pada persamaan kurva standar,  $y_2 = 0,0012x - 0,0038$ ,  $R^2 = 0,998$  dan 3) dengan total tanin, yang disetarakan dengan asam tanat (*tannic acid equivalent*), dengan merujuk pada persamaan kurva standar,  $y_3 = 0,84x + 0,031$ ,  $R^2 = 0,996$ .

Ada perbedaan hasil komponen fenolik EMBD (Tabel 1) dengan penelitian sebelumnya (Rohadi *et al.* 2016). Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan suhu maserasi dan tingkat kesegaran sampel serta perbedaan standar pada uji total flavonoid. Rohadi *et al.* (2016) melakukan maserasi pada suhu ruang ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ), dengan sampel biji duwet lebih segar, serta *quercetine* sebagai standar pada uji total flavonoid. Sementara pada riset terbaru maserasi dikerjakan pada suhu  $40 \pm 1^\circ\text{C}$  dengan (+)- *catechin* sebagai standar. Hal kini



berdasarkan pertimbangan pada penelitian sebelumnya bahwa pada biji duwet terdapat senyawa (+)- *catechin* yang melimpah, sedangkan *quercetin* sangat sedikit (*trace*). Ekstraksi senyawa fenolik dengan etanol 50% secara maserasi (50°C/6 jam), rasio bahan: pelarut (1:10) pernah dilakukan Vayuparp dan Laksanalamal, (2012) terhadap biji anggur, diperoleh *yield* 14,86±0,03% dan total fenolik 32,86±0,04% (g-GAE/100 g-GSE).

Tabel 1. *Phenolic compound* pada EMBD

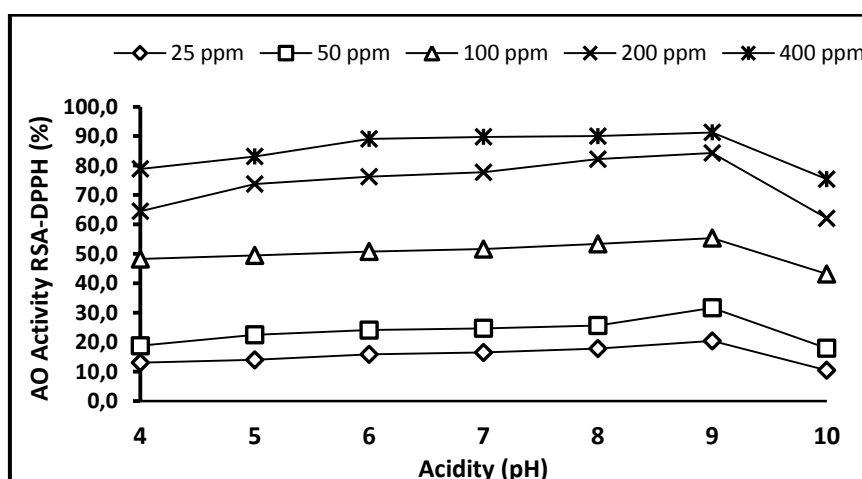
Pelarut	<i>Phenolic compound</i>		
	Total fenolik (g-GAE/ 100 g)	Total flavonoid (g-CE/ 100 g)	Total tanin (g-TAE/ 100 g)
Metanol:air (1:1)	34,73 ±0,3	7,12±0,17	29,81 ±0,15
Metanol:air (1:1)*	45,98±0,25	2,28±0,07**	26,90±0,10

Keterangan: \* Rohadi *et al.* (2016), \*\*quercetin equivalen (QE)

### Penangkapan radikal DPPH

Uji penangkapan radikal bebas DPPH EMBD secara *in vitro* pada berbagai derajat keasaman (pH) larutan penyangga disajikan pada Gambar 1. Terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh derajat keasaman (pH) larutan penyangga terhadap nilai RSA-DPPH EMBD ( $p < 0,05$ ). Pada Gambar 1 terlihat bahwa pada konsentrasi EMBD yang sama, semakin tinggi pH larutan penyangga (pH 4-9), menunjukkan kemampuan ekstrak menangkap radikal bebas yang semakin meningkat, namun kemudian menurun tajam pada pH = 10 (larutan basa).

Hasil riset tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas EMBD pada kondisi asam (*acidic*) lebih baik dibandingkan dengan kondisi basa (*basic*). Hal ini sejalan dengan hasil riset yang dilakukan Oancea dan Draghici, (2013) yang menyatakan bahwa pada kondisi asam yang kuat stabilitas ekstrak *anthocyanin* lebih baik dibanding pada kondisi basa. *Anthocyanin* merupakan salah satu senyawa dalam kelompok flavonoid. Pada EMBD diketahui melimpah senyawa (+) - *catechin*, *quercetin* dan *rutin* yang juga merupakan senyawa kelompok flavonoid (Rohadi *et al.* 2017<sup>b</sup>). Wood *et al.* (2002) melaporkan bahwa ekstrak kulit *Pinus radiata* memiliki aktivitas antioksidan 13-17 kali lebih efektif dibanding vitamin C dan ekstrak kulit anggur serta 2-3 kali lebih efektif dibanding ekstrak biji anggur ketika dalam suasana basa (*basic*) dengan metode *nitroblue tetrazolium* (NBT). Perbedaan tersebut diduga disebabkan perbedaan kuantitas dan keragaman komponen senyawa bioaktif, daya larut dan metode uji (Wood *et al.* 2002).





Gambar 1. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH EMBD (%) pada berbagai derajat keasaman (pH) larutan penyangga. Terdapat perbedaan signifikan nilai RSA-DPPH pada tingkat pH yang berbeda pada konsentrasi ekstrak yang sama ( $p < 0.05$ ).

Aktivitas antioksidan EMBD yang dinyatakan dengan IC50 tampak pada Tabel 2. Terdapat perbedaan yang signifikan pengaruh derajat keasaman (pH) larutan penyangga terhadap nilai IC50 ( $p < 0,05$ ). Terjadi peningkatan nilai IC50 secara landai (*slightly*) dari 186 ppm (pH=4), 163 ppm (pH=5), 148.8 ppm (pH=6), 144 ppm (pH=7), 135 ppm (pH=8) dan 119 ppm (pH=9) seiring dengan peningkatan derajat keasaman (pH=4 – 9), kemudian IC50 turun tajam menjadi 201 ppm (pH=10). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa sampel (EMBD) yang larut pada suasana sedikit asam hingga sedikit basa (pH = 6-9) lebih cocok ekstrak flavonoid. Hal ini sejalan dengan pendapat Wood *et al.* (2002) bahwa sampel yang mudah larut dalam suasana basa (pH = 8) lebih cocok untuk ekstrak yang mengandung flavonoid.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan (IC50) EMBD pada berbagai derajat keasaman larutan penyangga ditera dengan metode RSA-DPPH (ppm)

Sampel	Derajat keasaman larutan penyangga (pH)						
	4	5	6	7	8	9	10
EMBD	186	163	148.8	144	135	119	201

Perbedaan aktivitas antioksidan EMBD pada berbagai derajat keasaman (pH) sebagaimana terlihat pada Tabel 2 diduga karena perbedaan daya larut ekstrak. Pada riset ini tampak bahwa aktivitas antioksidan EMBD yang larut pada pH sedikit asam (pH= 6) sebesar IC50 = 148.8 ppm tidak jauh berbeda dengan yang larut pada pelarut pH netral (air distilasi) IC50 = 144 ppm.

#### Uji Total daya reduksi

Uji aktivitas antioksidan daya mereduksi ion feri ( $Fe^{3+}$ ) EMBD secara *in vitro* pada berbagai derajat keasaman (pH) larutan penyangga disajikan pada Gambar 1. Daya mereduksi ion feri lazim digunakan sebagai salah satu metode uji aktivitas antioksidan sebuah ekstrak tumbuhan atau antioksidan sintetik (Vasi dan Austin, 2009). Secara umum daya mereduksi ion feri EMBD semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi (pada pH yang sama). Namun demikian terdapat perbedaan yang signifikan daya mereduksi ion feri EMBD pada beragam pH larutan penyangga ( $p < 0,05$ ). Pola aktivitas antioksidan daya mereduksi EMBD pada berbagai pH larutan penyangga sebangun dengan aktivitas penangkapan (*scavenging*) radikal DPPH.

Data-data dari hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa sifat antioksidatif EMBD dihasilkan oleh kapasitas antioksidan dalam penangkapan (*scavenging*) radikal bebas dan daya mereduksi ion feri sebagai salah satu katalisator terjadinya oksidasi (Brewer, 2011). Hasil ini memperkuat hasil penelitian yang dilakukan Rohadi *et al.* (2016) bahwa ekstrak biji duwet memiliki kapasitas antioksidan yang kuat dalam menangkap radikal bebas dan daya mereduksi dan Zhang dan Lin, (2009) bahwa kemampuan antioksidan ekstrak biji duwet disebabkan kandungan tanin yang tinggi. Daya larut ekstrak (sampel) pada berbagai pH larutan penyangga berperan penting dalam pengukuran aktivitas antioksidan (Wood *et al.* 2002). Diduga sifat fisik daya larut EMBD berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan pada berbagai pH larutan.



## KESIMPULAN

Stabilitas aktivitas antioksidan EMBD dipengaruhi oleh pH larutan penyangga. Aktivitas antioksidan EMBD kuat pada kisaran pH= 6-9, namun menurun tajam pada pH tinggi. EMBD sebagai sumber antioksidan alami sesuai untuk diaplikasikan pada produk pangan yang sedikit asam – sedikit basa dengan nilai IC50 tertinggi (pH=9) sebesar 119 ppm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami sampaikan ucapan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan selaku Pengguna Anggaran (PA) yang telah memberikan pendanaan untuk penelitian skema PTUPT kepada kami sehingga dapat membantu memperkuat *road map* penelitian kami. Kami sampaikan pula terima kasih kepada mahasiswa Munashikhah, Nur Hidayah, Khilda Noor Itsnaini dan Anies Dwi Rahmawati sebagai asisten peneliti, sehingga penelitian dapat diselesaikan tepat waktu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Brewer, M.S. 2011. Natural Antioxidant: Source, Compounds, Mechanisms of Action and Potential Application. *Comprehensive Reviews. Food Science and Food Safety* 10: 221-247.
- Chamorro, S., GonI, I., Viveros, A., Hervert-Hernandez, D., dan Brenes, A., 2012. Changes in polyphenolic content and antioxidant activity after thermal treatments of grape seed extract and grape pomace. *European Food Research Technololy*, 234(1):147–155. DOI 10.1007/s00217-011-1621-7.
- Ebrahimzadeh, M A., Pourmorad, F. dan Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian Corn Silk. *Turk Journal Biology*, 32: 43-49.
- Hihat, S., Remini, H. dan Madani, K. 2017. Effect of oven and microwave drying on phenolic compounds and antioxidant capacity of coriander leaves. *International Food Research Journal*, 24(2): 503-509.
- Latimer, G.W, Jr. 2005. AOAC official methods of analysis. 18th ed. Maryland: AOAC International.
- Oancea, S. dan Draghici, O. 2013. pH and Thermal Stability of Anthocyanin-based Optimised Extracts of Romanian Red Onion Cultivars. *Czech J. Food Sci.*, 31(3): 283–291.
- Palici, I., Tita, B., Ursica, L. dan Tita, D. 2005. Method for Quantitative Determination of Polyphenolic Compounds and Tannins from Vegetal Products. *Acta Universitatis Cibiniensis Seria F. Chemia*, 8:21-32.
- Reda, S.Y. 2011. Evaluation of antioxidants stability by thermal analysis and its protective effect in heated edible vegetable oil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(2):475-480 DOI: 10.1590/S0101-20612011000200030.
- Rohadi, Sri Raharjo, Iip Izul Falah, dan Umar Santoso, 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Duwet (*Syzygium cumini* Linn.) Pada Peroksidasi Lipida Secara in Vitro, *Jurnal Agritech*, 2016, 36(1): 30-37.
- Rohadi, Raharjo, S., Falah, I.I., dan Santoso, U., 2017<sup>a</sup>. Methanolic extract of Java Plum (*Syzygium cumini* Linn) Seed as natural antioxidant on lipid oxidation of oil-in water emulsions. *International Food Research Journal*, 24(4):1636-1643.
- Rohadi, Santoso, U., Raharjo, S., Falah, I.I., 2017<sup>b</sup>. Determination of Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Methanolic Extract of Java Plum (*Syzygium cumini* Linn. (Skeel) Seed. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 13(1): 9-20.
- Rohadi dan Sri Budi Wahjuningsih, 2019. Pengaruh Suhu Pemanasan Pada Ekstrak Teh (*C. sinensis* Linn.) Jenis Teh Putih Terhadap Stabilitas Sifat Antioksidatifnya. *Jurnal*





- Industri Hasil Perkebunan, 14(1): 41-49.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi, 1981. *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- US Department of Health and Human Services, 2016. *The Fourteenth Report on Carcinogens (RoC)*: <http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc>. [29/12/2016].
- Vayupharap, B. dan Laksanalamal, V. 2012. Recovery of Antioxidant from Grape Seeds and its Application in Fried Food. *Journal Food Process Technology*, 3(4):1-6.
- Vasi, S. dan Austin, A. 2009. Antioxidant Potential of *Eugenia jambolana* Lam. seeds. *Journal of Biological Sciences* 9 (8): 894-898.
- Wood, J.E., Senthilmohana, S.T., dan Peskin, A.V. 2002. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*, 77:155-161. <http://www.elsevier.com/locate/foodchem>.
- Zhang, L.L., dan Lin, Y.M. 2009. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. *African Journal of Biotechnology*, 8(10):2301-2309.

