

**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tebu Merah dan Tebu Hijau
(*Saccharum officinarum* L.) Menggunakan Metode DPPH
(1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)**

***Antioxidant Activity Test of Red Sugar Cane And Green Sugar Cane
Ektract (*Saccharum Officinarum* L.) Using the DPPH Method
(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)***

Nabila Indah Parawansah¹, Udrika Lailatul Qodri²

^{1,2} Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ibrahimy

¹Email: Indahnabila522@gmail.com

ABSTRAK

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman perkebunan yang penting di Indonesia untuk ketahanan pangan. Tebu merah dan tebu hijau adalah dua jenis tebu yang cukup melimpah sebagai bahan produksi gula di Jawa Timur. Komposisi kimia fenolik dan flavonoid pada tebu adalah golongan antiradikal yang dapat diteliti aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak tebu merah dan tebu hijau menggunakan metode DPPH berdasarkan nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) pada Spektrofotometri UV-Vis. Metode ekstraksi menggunakan maserasi pada ekstrak tebu dengan pelarut etanol 96% didapatkan rendemen 11,476%. Pada uji pendahuluan dilakukan dengan uji KLT analisis antioksidan. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada hasil pemisahan kromatografi yaitu pada nilai R_f 0,777 pada tebu hijau dan nilai R_f 0,775 pada tebu merah. Berdasarkan perhitungan nilai IC₅₀ ekstrak tebu hijau sebesar 24 ppm, ekstrak tebu merah sebesar 21 ppm dan perbandingan Vit C sebesar 4,4 ppm. Nilai IC₅₀ < 50 ppm menyatakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat terhadap ekstrak etanol tebu merah dan tebu hijau.

Kata kunci: Tebu (*Saccharum officinarum* L.), Ekstraksi, KLT, Antioksidan, DPPH

ABSTRACT

Sugarcane (Saccharum officinarum L.) is an important plantation crop in Indonesia for food security. Red sugarcane and green sugarcane are two types of sugarcane which are quite abundant as sugar production materials in East Java. The chemical composition of phenolics and flavonoids in sugarcane is an antiradical group whose antioxidant activity can be investigated using the DPPH method. This study aims to analyze the antioxidant activity of red sugarcane and green sugarcane extracts using the DPPH method based on the value of Inhibitory Concentration (IC₅₀) on UV-Vis Spectrophotometry. The maceration extraction method of sugarcane extract with 96% ethanol solvent obtained a yield of 11.476%. In the preliminary test, the TLC test was carried out with antioxidant analysis. Compounds that are thought to have antioxidant activity in the results of chromatographic separation are the R_f value of 0.777 in green sugar cane and R_f value of 0.775 in red sugar cane. Based on the calculation of the IC₅₀ value of green sugar cane extract of 24 ppm, red sugar cane extract of 21 ppm and the comparison of Vit C of 4.4 ppm. The IC₅₀ value < 50 ppm indicates a very strong antioxidant activity against the ethanol extract of red sugar cane and green sugar cane.

Keywords: Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), Extraction, TLC, Antioxidant, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam dan memiliki sektor pertanian dan

perkebunan yang sangat kaya. Salah satu kekayaan sumber daya alam tersebut adalah perkebunan yang berperan penting dalam perekonomian

nasional yaitu tebu (Kurniawan, 2016). Menurut data Badan Pusat Statistik Indonesia tahun 2017, luas perkebunan tebu di Indonesia sekitar 420, 15 ribu hektar. Salah satunya berada di Jawa timur dengan luas produksi tebu maksimal 1.010.447 ton dan luas tanam 193.940 Hektar. Pada provinsi jawa timur memang menjadi unggulan hingga dimana terdapat beberapa pabrik gula hampir diseluruh wilayah pengembangan tebu, salah satunya terletak di Provinsi Situbondo yang memiliki produksi tebu terbesar kedelapan di Jawa timur dengan produksi 38.304 Ton pada lahan seluas 8.140 Hektar (Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur, 2017).

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman perkebunan penting di Indonesia. Tebu umumnya digunakan untuk memproduksi gula. Selain diproduksi sebagai gula, batang tebu dan akarnya digunakan dalam pengobatan untuk mengobati infeksi kulit dan saluran kemih, serta untuk bronkitis, kondisi jantung, batuk anemia, kehilangan produksi susu dan sembelit (Feng dkk, 2013). Duarte dkk, (2011) menyatakan bahwa pada batang tebu terdapat metabolit sekunder

diantaranya fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

Antioksidan alami diketahui menunjukkan berbagai efek biologis, termasuk aktivitas antibakteri, antivirus, anti inflamasi, anti alergi, antitrombotik, dan vasodilatasi (Zamir, 2012). Feng dkk, (2013) dalam penelitiannya melaporkan bahwa Tebu dengan kulit merah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Penelitian tersebut juga didukung oleh analisis hasil fitokimianya dengan kandungan fenolik dan flavonoid yang tinggi dalam tebu kulit merah, Sehingga hal tersebut mencerminkan bahwa tebu dengan jenis yang lain dapat berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yang baik.

Antioksidan dapat mencegah berbagai penyakit karena dapat mengatasi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas di dalam tubuh (Syarif dkk, 2015). Antioksidan juga berfungsi sebagai alat pereduksi untuk menghambat reaksi oksidatif dan menjaga sistem metabolisme tubuh (Adawiah dkk, 2015). Salah satu Mekanisme kerja senyawa antioksidan adalah mendonorkan atom hidrogen atau proton pada senyawa radikal untuk mengkompensasi kekurangan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas,

sehingga memungkinkan untuk menghambat proses reaksi berantai pembentukan radikal bebas. Hal ini membuat senyawa radikal menjadi lebih stabil (Setiawan, 2018). Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Metode DPPH (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) merupakan metode kuantitatif yang cepat, mudah, dan murah untuk mengukur aktivitas antioksidan. DPPH (1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan berdasarkan kemampuannya untuk mengais radikal bebas. Parameter yang digunakan untuk menentukan tingkat aktivitas antioksidan dari hasil uji DPPH dinyatakan dengan pertimbangan nilai IC_{50} pada konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas (Prasetyo, 2021).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penting untuk menguji aktivitas antioksidan tebu merah dan hijau yang digunakan masyarakat sebagai sumber gula. Oleh karena itu, Penelitian ini bertujuan untuk Menganalisis potensi aktivitas antioksidan ekstrak tebu merah dan tebu hijau menggunakan metode radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-

Pikrilhidrazil) berdasarkan nilai Inhibitory Comcentration (IC_{50}) pada Spektrofotometri UV-Vis dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berdasarkan nilai Rf.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan: Tebu merah dan tebu hijau, bahan lainnya adalah etanol 96% (p.a), etanol (p.a), aquadest, butanol (p.a), asam asetat glasial, Vitamin C (asam askorbat), dan DPPH.

Alat: Gelas kimia (iwaki), gelas ukur (iwaki), pipet tetes (iwaki), pipet ukur (iwaki), labu ukur (iwaki), corong (iwaki), cawan porselin (iwaki), kaca arloji (iwaki), ayakan 40 mesh (ABM), chamber (Pyrex[®]), mikropipet, oven (Memmert), plat KLT, timbangan analitik (Radwag wagi elektro niczne), rotary evaporator (IKA Rotary Evaporator RV 8V), Spektrofotometer UV-Vis (Thermoscientific Genesys ISO), dan sinar lampu UV cabinet (Ultraviolet observing cabinet uvoc-02).

Penyiapan Sampel

Pada penelitian ini Tebu merah dan tebu hijau dibersihkan terlebih dahulu, daging buah dan kulit tebu dipotong tipis-tipis. Keringkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 30-

35 C selama 24 jam. Hasil pengeringan dihaluskan menjadi bubuk dengan blender dan diayak menjadi serbuk halus. Pada proses pembuatan tebu menjadi serbuk simplisia dilakukan dan diperoleh dari UPT Materia Medika Batu Malang. Sampel serbuk tebu merah dan tebu hijau dibeli pada bulan juli 2022. Setelah diperoleh menjadi serbuk simplisia dilanjutkan pembuatan ekstraks pada Sampel.

Pembuatan Ekstrak Etanol Tebu

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi. Ekstrak etanol tebu dibuat dengan cara menimbang 100 gram serbuk tebu (*Saccharum officinalis* L.) dan merendamnya dalam 500 mL etanol 96% dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:5. Kemudian tutup dan biarkan selama 2 hari dengan sesekali diaduk setiap 2 kali 24 jam agar pelarut terlarut. Saring maserat melalui kertas saring. Kumpulkan Filtrat dengan penyaringan melalui corong. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut agar memperoleh ekstrak tebu pekat.

Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Kontrol 0,1 mM

Serbuk DPPH (BM 394.32) ditimbang hingga 3,9 mg, dilarutkan

dalam etanol p.a dalam labu ukur 100 mL, dan ditambahkan etanol hingga tanda batas. Kemudian masukkan ke dalam toples gelap.

b. Pembuatan Larutan Blanko dan Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Pipet 2 mL larutan DPPH (0,1 mM) ke dalam tabung reaksi, tambahkan sebanyak 2 mL etanol dan homogenkan. Tabung ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit (Molyneux, 2004). Lalu masukkan 3 mL ke dalam kuvet dan diukur spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500-520 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum.

c. Pembuatan Larutan Vitamin C

Serbuk vitamin C pro analisis ditimbang hingga 1 mg kemudian larutkan dengan etanol p.a, dimasukkan dalam labu ukur lalu tambahkan etanol p.a hingga 10 ml (100 ppm). Selanjutnya dibuat konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Pada setiap konsentrasi dimasukkan dalam labu ukur (10 mL) dan tambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Setiap larutan uji dipipet sebanyak 2 ml, dimasukkan dalam

tabung reaksi, tambahkan 2 mL DPPH (0,1 mM), vortex hingga homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

d. Pembuatan Larutan Ekstrak Tebu Hijau atau Tebu Merah (Larutan Sampel)

Ekstrak tebu merah atau tebu hijau ditimbang hingga 1 mg kemudian larutkan dengan etanol p.a, pindahkan dalam labu ukur lalu ditambahkan etanol p.a hingga 10 ml (100 ppm). Selanjutnya dibuat konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Pada setiap konsentrasi dimasukkan dalam labu ukur (10 mL) dan tambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Setiap larutan sampel dipipet sebanyak 2 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 2 mL DPPH (0,1 mM), vortex hingga homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya larutan sampel diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

e. Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan

dengan KLT

Membuat fase gerak sebanyak 20 ml. Dipipet butanol sebanyak 8 mL, asam asetat 2 mL, dan air 10 mL, masukkan kedalam labu ukur 10 mL, dikocok hingga homogen dan pisahkan fase air menggunakan corong pisah. Tuang kedalam wadah (Chamber) dan jenuhkan dengan kertas saring. Tujuan penjenuhan untuk menyamakan tekanan uap dari fase gerak yang digunakan untuk pemisahan yang berhasil.

Dengan menggunakan vitamin C sebagai pembanding, ambil 3 µl hasil maserasi dengan mikropipet, totolkan pada silica gel GF₂₅₄ (KLT), dan letakkan dalam wadah yang berisi fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5) yang sudah jenuh, tunggu fase gerak menyebar hingga batas yang ditentukan, keluarkan plat, keringkan plat KLT dan semprotkan larutan DPPH. Kemudian amati dengan lampu UV 254 nm, UV dan Visible dengan pembanding Vitamin C. Komponen dengan aktivitas antioksidan pada Sampel menghasilkan bercak kuning dan latar belakang ungu (Priyanto, 2018).

Analisa Data

Hasil data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah hasil kualitatif dan kuantitatif. Hasil analisis kualitatif adalah apakah komponen pigmen menghasilkan bercak kuning dan latar belakang ungu pada sampel. Hasil analisis kuantitatif disajikan dalam bentuk nilai Rf, sedangkan hasil aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (%IC₅₀) dihitung berdasarkan rumus % inhibisi.

$$\frac{\text{Absorbansi Blangko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blangko}} \times 100 \%$$

Data aktivitas dianalisis dan nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear ($y = bx + a$) dimana sumbu x mewakili konsentrasi larutan uji maupun pembanding, sedangkan sumbu y mewakili IC₅₀. Hasil data dianalisis dengan menggunakan analisis *Oneway ANOVA (Analysis of Variance)* pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha: 0,05$), dilanjutkan dengan uji tukey untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antara tebu hijau dan tebu merah. Penggunaan statistika menggunakan *software* program SPSS 26.0 *for windows evaluation Version*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menghasilkan 100 g ekstrak kental berwarna kuning, berbau khas dengan rendemen 11,76% untuk tebu hijau dan 11,98% untuk tebu merah.

Uji Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif (Kromatografi Lapis Tipis)

Hasil Kromatografi Lapis Tipis sinar UV 254 nm menunjukkan pada ekstrak tebu Merah terbukti memiliki 3 bercak noda dengan nilai Rf 0,194; 0,513; dan 0,777, sedangkan kromatografi ekstrak tebu Hijau memiliki 3 bercak noda dengan nilai Rf 0,225; 0,502; dan 0,775 menggunakan fase gerak (eluen)butanol: asam asetat glasial: aquades dengan perbandingan 4:1:5. Hasil menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan aktivitas antioksidan, dengan Rf 0,777 untuk ekstrak tebu merah dan 0,775 untuk ekstrak tebu hijau, yang diketahui memiliki perubahan warna yang dihasilkan dari pemisahan kromatografi diatas. Tabel 4 menunjukkan nilai Rf rata-rata dari kromatografi lapis tipis sampel ekstrak tebu merah dan tebu hijau. Pada penelitian sebelumnya, hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan

bahwa ekstrak tebu hijau dan tebu merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai Rf antara 0,6-0,9 (Priyanto, 2018).

Tabel 1. Hasil Nilai Rata-Rata Rf dari Sampel

Sampel	Noda (sinar UV 245 nm)	Nilai Rf (cm)	Reaksi Warna Dengan DPPH	Keterangan
Tebu Hijau	1	0,225	Tidak ada warna	-
	2	0,502	Tidak ada warna	-
	3	0,775	Kuning (latar ungu)	+
Tebu Merah	1	0,194	Tidak ada warna	-
	2	0,513	Tidak ada warna	-
	3	0,777	Kuning (latar ungu)	+

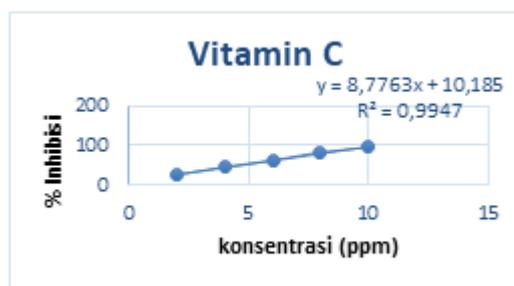
Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk membantu menentukan daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai serapan yang diukur dengan spektrofotometer UV-Visible. Berdasarkan studi literatur, DPPH menunjukkan daya serap yang kuat pada panjang gelombang antara 515-520 nm (Molyneux, 2004). Sebagai hasil perolehan panjang gelombang maksimum yang dihasilkan adalah pada panjang gelombang 515 nm.

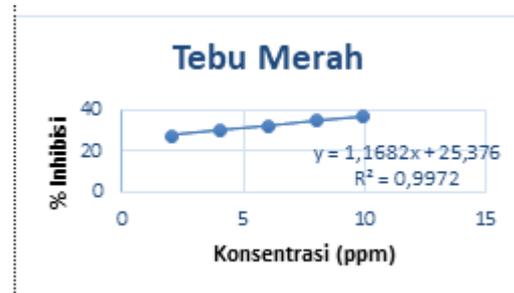
Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Hubungan antara konsentrasi ekstrak tebu hijau dan tebu merah serta

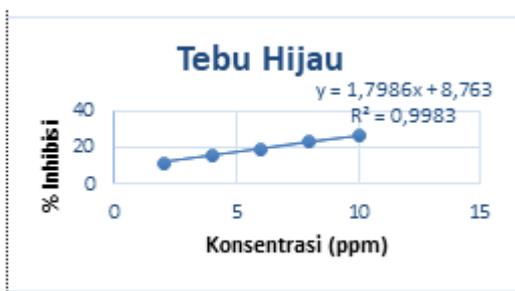
% inhibisi ditunjukkan pada Gambar 6,7 dan 8. Hasil yang diperoleh untuk konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan nilai % inhibisi. Semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi laju penghambatan. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang lebih tinggi, lebih banyak antioksidan dalam sampel, berpotensi mengurangi aktivitas radikal bebas DPPH. Berdasarkan hasil korelasi antara konsentrasi dan % inhibisi adalah R adalah sebesar 0,990-0,999.



Gambar 1. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan % inhibisi Standar Vitamin C



Gambar 2. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak etanol Tebu Merah



Gambar 3. Kurva Hubungan Antara Konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak etanol Tebu Hijau

Hasil menunjukkan ekstrak tebu hijau dan tebu merah memiliki Aktivitas antiradikal bebas yang diperoleh dari ekstrak tebu hijau yaitu 24 ppm, aktivitas antiradikal bebas yang diperoleh dari ekstrak tebu merah yaitu 21 ppm, sedangkan nilai IC₅₀ untuk vitamin C terbukti sebesar 4,4 ppm. Senyawa dengan nilai IC₅₀ dibawah 50 ppm, kuat (50 ppm-100 ppm), sedang (100 ppm-150 ppm), dan lemah (150 ppm-200 ppm) adalah pemulung atau antioksidan yang sangat ampuh (Wanita dkk, 2018).

Tabel 2. Hasil aktivitas antiradikal bebas

Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀	Keterangan
Tebu Merah	20,45	21 ppm	Kuat
Tebu Hijau	24,55	24 ppm	Kuat
Vitamin C	4,42	4,4 ppm	Sangat Kuat

Hasil uji one way ANOVA ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara ekstrak tebu hijau, tebu merah dan

vitamin C ($P=0,000$). Hasil uji lanjutan dengan menggunakan tukey HSD untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antara tebu merah, tebu hijau dan vitamin C. Berdasarkan pada tabel 6 menunjukkan hasil tebu hijau menunjukkan IC₅₀ yaitu 21 ppm lebih rendah dari tebu merah secara signifikansi ($p<0,05$), Sedangkan vitamin C sebagai kontrol menunjukkan IC₅₀ paling rendah dibandingkan tebu hijau dan tebu merah 4,4 ppm secara signifikansi ($p<0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dua sampel dan kontrol terdapat perbedaan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, disimpulkan bahwa pada uji KLT senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada hasil pemisahan kromatografi memiliki nilai R_f sebesar 0,777 untuk tebu hijau, dan nilai R_f 0,775 untuk tebu merah. Sedangkan disisi lain, ketika aktivitas antioksidan diperiksa, ditemukan bahwa ekstrak tebu hijau dan tebu merah menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dalam hal nilai IC₅₀ yaitu ekstrak etanol tebu merah 21 ppm dan ekstrak etanol tebu hijau 24 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, A., Sukandar, D. & Muawanah, A. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Nam-Nam. *Jurnal Kimia Valensi*, 130-136.
- Dinas Perkebunan Tebu Provinsi Jawa Timur, 2017. Luas Area dan Jumlah Perkebunan Tebu.
- Duarte-Almeida, J. M., Salatino, A., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2011). *Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Culms and Sugarcane (Saccharum officinarum L) Products*. *Food Chemistry*, 125(2), 660-664.
- Feng, S., Z. Luo, Y. Zhang, Z. Zhong, dan B. Lu. 2013. Phytochemical contents and antioxidant capacities of different parts of two sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) cultivars. *Food Chemistry*. 151:452–458.
- Kurniawan, B. P. Y. 2016. Keunggulan Komparatif dan Kompetitif Gula Tebu Besuki Raya: Sebuah Pengembangan Analisis Kebijakan. Prosiding.
- Molyneux, P. 2004. *The use of the stabel free radicat diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *Songklanakarinn Journal science and technology*.
- Prasetyo Eko, Naelaz Zukhruf Wakhidatul Kiromah, Titi Pudji Rahayu. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinnus L.*) Dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, Vol. 08, No.01, Februari 2021, hal: 75-82.
- Priyanto, A., Islamiyati, R., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Pada Batang Tebu Hijau Dan Batang tebu Merah Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*. Volume 2(1).
- Setiawan F, Oeke Yunita dan Ade Kurniawan. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana* vol. 2 No. 2.
- Syarif, R. A., Muhajir, hgnuM., Ahmad, A. R., & Malik, A. 2015. Identifikasi Senyawa Antioksidan dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Etanol Daun *Cordia myxa L.* *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1).
- Zamir dkk, 2012. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh mutagenesis in vivo dan in vitro dalam tebu (*Saccharum officinarum L.*) *African journal of biotechnology* vol. 11(54), pp. 11686-11692.