

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DALAM BEBERAPA MINUMAN YOGHURT DENGAN METODE DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)

ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTINSOME YOGHURT DRINKING USING METHOD DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)

^{1*} Yettrie Simarmata, ¹ Eka Margaret Sinaga, ² Maringan Silitonga

¹Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

²Badan Pengawasan Obat dan Makanan

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Email: yettrie.simarmata@gmail.com

Abstrak. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih electron (electron donor) kepada radikal bebas untuk menghambat reaksi oksidatif. Salah satu contoh yang berpotensi sebagai antioksidan adalah yoghurt. Yoghurt merupakan pangan yang mengandung sejumlah bakteri hidup yang member efek yang menguntungkan bagi kesehatan karena memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba, antidiare serta dapat meningkatkan system kekebalan tubuh. Ada beberapa factor yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan yoghurt diantaranya suhu, kondisi penyimpanan, dan bahan tambahan yang digunakan seperti penambahan cita rasa buah-buahan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan probiotik dari minuman yoghurt dengan berbagai merk. Sampel diambil dari Pasar Swalayan yang terdapat di Kota Medan dengan 3 merk yang berbeda yang diberikode A, B, dan C. Aktivitas antioksidannya ditentukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) menggunakan spektrofotometer visible yang diukur pada panjang gelombang 516 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada dua sampel minuman yoghurt yang diberi kode A dan B termasuk dalam kategori kuat dan sampel kode C termasuk dalam kategori lemah. Minuman Yoghurt dengan merk kode A memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan minuman yoghurt merk lain (B dan C) dengan nilai IC₅₀ dari sampel kode A (80,52ml), B (90,14ml), dan C (194,81ml).

Kata Kunci: Antioksidan, Yoghurt, Spektrofotometri Visible, IC₅₀

Abstract. Antioxidants are chemical compounds that can donate one or more electrons (electron donors) to free radicals to inhibit oxidative reactions. One example that has the potential as an antioxidant is yogurt. Yogurt is a food that contains a number of live bacteria that have a beneficial effect on health because it has antioxidant, antimicrobial, antidiarrheal activity and can boost the immune system. There are several factors that can affect the antioxidant activity of yogurt including temperature, storage conditions, and additional ingredients used such as adding fruit flavors. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of probiotics from yogurt drinks with various brands. Samples were taken from supermarkets in Medan City with 3 different brands coded A, B, and C. The antioxidant activity was determined by the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method using a visible spectrophotometer measured at wavelengths. 516 nm. The results showed that there were two samples of yogurt drink coded A and B which were included in the strong category and code C samples were included in the weak category. Yogurt drink with brand code A has the strongest antioxidant activity compared to other brand yogurt drinks (B and C) with IC₅₀ values from samples code A (80.52 ml), B (90.14 ml), and C (194, 81 ml).

Keywords: Antioxidant, Yoghurt, Visible Spectrophotometry, IC₅₀

PENDAHULUAN

Pada saat ini, dunia kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas dan antioksidan[1]. Radikal bebas adalah suatu senyawa atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih electron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dapat terbentuk melalui peristiwa metabolisme sel normal, kekurangan gizi dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi dan sinar ultraviolet. Efek negative radikal bebas terhadap tubuh dapat dicegah dengan senyawa yang disebut antioksidan[2]. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah dan memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas melalui penghambatan mekanisme oksidatif. Seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas, maka penggunaan senyawa

antioksidan semakin berkembang, baik untuk makanan, minuman, kosmetik maupun untuk pengobatan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan atau radikal sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat[3]. Ada dua macam antioksidan yaitu antioksidan internal dan eksternal. Antioksidan internal adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri. Secara alami tubuh mampu menghasilkan antioksidan sendiri, akan tetapi kemampuan ini adabatasnya. Kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan alami akan semakin berkurang dan semakin tidak optimal, dengan bertambahnya usia[3], maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal yang terbentuk[3]. Saat ini beberapa penelitian menunjukkan bahwa minuman probiotik memiliki kandungan aktivitas antioksidan[4]. Probiotik adalah mikroorganismehidup yang jika diberikan dalam jumlah yang memadai akan memberikan efek menyehatkan bagi sipenerima. Tujuan menambahkan bakteri probiotik misalnya dalam makanan dan minuman adalah untuk mengurangi bakteri patogen dalam usus serta untuk menstimulasi kekebalan tubuh, seperti sediaan minuman yoghurt. Data Badan Pusat Statistik (BPS) menunjukkan adanya peningkatan impor yoghurt diIndonesia sejak tahun 2004 hingga 2008 yang menandakan bahwa masyarakat Indonesia semakin sadar untuk meningkatkan gaya hidup sehat dengan mengonsumsi minuman yoghurt[5]. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan antara lain dengan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Ferrous Ion Chelating* (FIC). Metode DPPH pengerjaannya lebih sederhana, pereaksi mudah didapat dan relative lebih murah dibandingkan dengan metode lainnya.

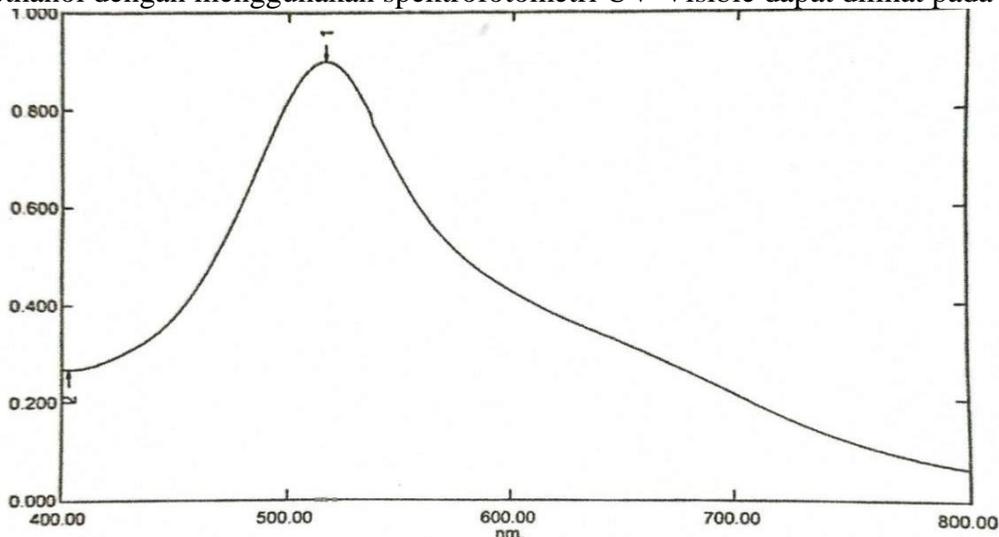
METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian metode deskriptif yaitu untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan dalam minuman yoghurt dari beberapa merek yang berbeda dengan menggunakan metode *Diphenyl-Picylhydrazyl-Radical*(DPPH).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Absorbansi Larutan DPPH

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH dengan konsentrasi 40 μ g/ml dalam pelarut methanol dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible dapat dilihat pada **Gambar 1**.



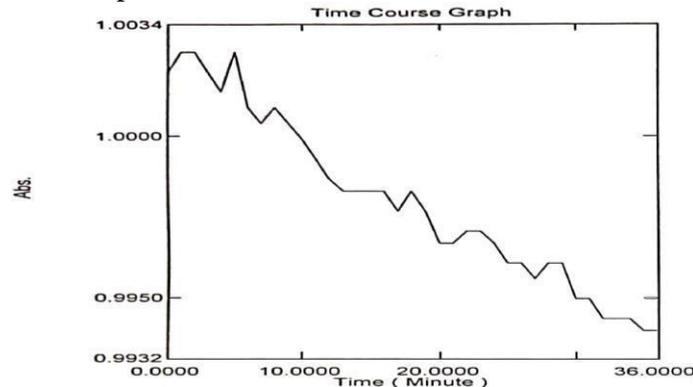
Gambar1. Kurva Absorbansi Larutan DPPH Dalam Metanol Dengan Konsentrasi 40 μ g/ml Dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Visible

Berdasarkan hasil pengukuran kurva absorbansi larutan DPPH dalam metanol dengan konsentrasi 40 μ g/ml dengan spektrofotometri UV-Visible, memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 516,50nm. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa panjang gelombang tersebut termasuk dalam kisaran panjang gelombang komplementer warna ungu yaitu pada rentang

panjang gelombang 500-560nm, dan panjang gelombang DPPH berada pada rentang panjang gelombang 515-520nm[6], sehingga panjang gelombang yang diperoleh ini dapat diterima.

Penentuan Waktu Kerja (*Operating Time*)

Waktu kerja bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yang ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan[7]. Hasil analisis pengukuran waktu kerja dengan menggunakan larutan DPPH dalam methanol dengan konsentrasi 40µg/ml yang diukur selama 60menit, menunjukkan kestabilan pada menit ke-13 sampai dengan menit ke-16. Hasil penentuan waktu kerja (*Operating Time*) grafik hasil penentuan waktu kerja (*Operating Time*) dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar2. Grafik Hasil Penentuan Waktu Kerja (*Operating Time*)

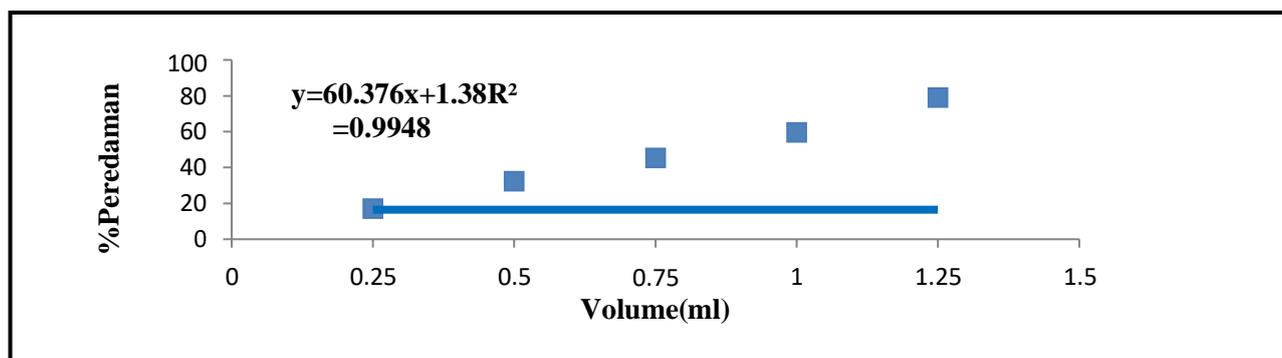
Hasil Aktivitas Antioksidan Sampel Uji

Sebelum diukur secara spektrofotometri, sampel terlebih dahulu disentri ugasi karena sampel bersifat keruh. Kegunaan dari centri fugasi ini yaitu untuk memperoleh larutan bening atau supernatant yang akan diukur kespektrofotometri. Hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi yaitu adanya penurunan absorbansi DPPH dengan penambahan sampel uji. Untuk melihat penurunan absorbansi DPPH dengan sampel uji dapat dilihat pada **Tabel**

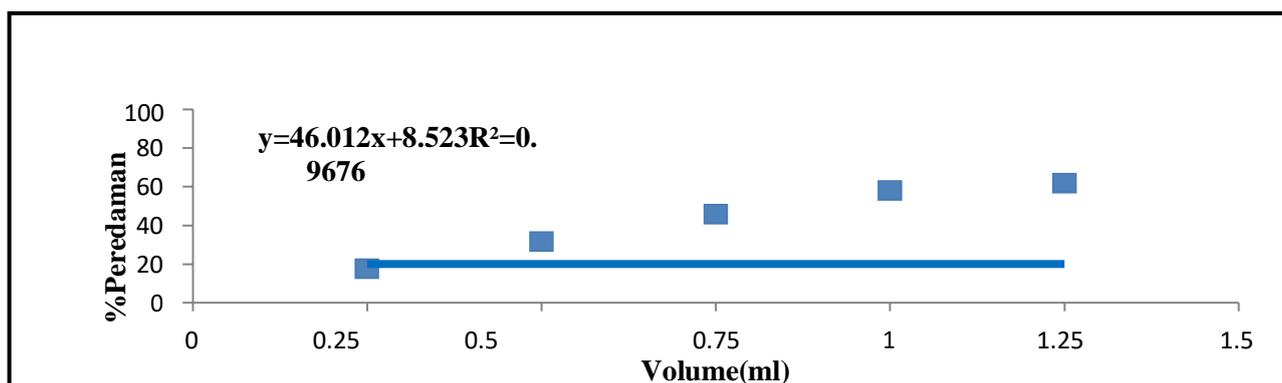
3. Bahwa semakin tinggi volume sampel yang dipipet maka semakin rendah absorbansi yang dihasilkan. Adanya penurunan absorbansi menunjukkan peningkatan kemampuan peredaman radikal bebas DPPH. Penurunan nilai absorbansi terjadi karena larutan uji menangkap DPPH dan penangkapan terjadi karena adanya senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal yang akan mereduksi DPPH membentuk DPPH-H yang tereduksi. Reaksi ini ditandai dengan adanya perubahan warna DPPH dari warna ungu berubah warna menjadi kuning ketika electron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hydrogen dari senyawa penangkapan radikal bebas[8].

Hasil Aktivitas % Peredaman DPPH dari Sampel Uji

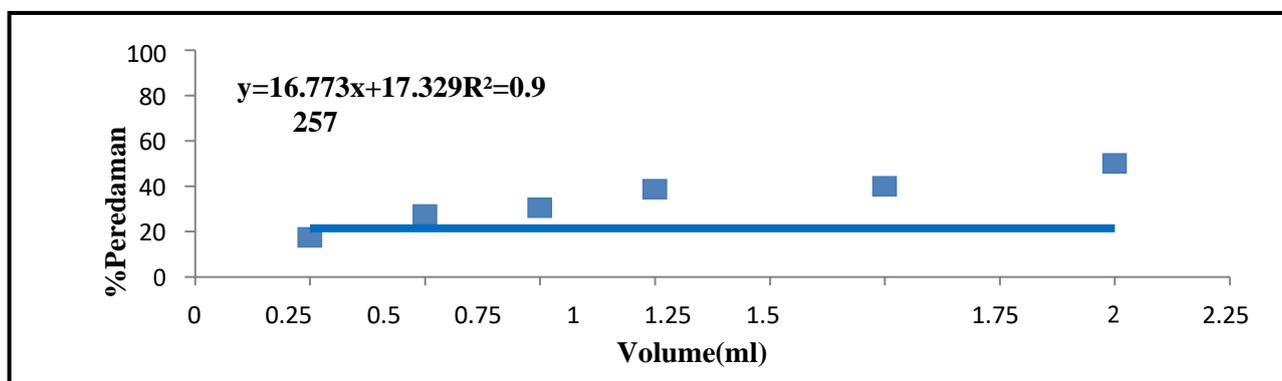
Kemampuan penurunan aktivitas antioksidan diukur pada menit ke-13 sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan larutan uji yang dihitung sebagai persen peredaman. Banyaknya volume sampel yang dipipet mempengaruhi % peredaman radikal bebas DPPH. Semakin besar volume sampel yang dipipet, maka semakin besar pula % peredaman radikal bebas DPPH yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan dari suatu sampel dinyatakan dalam persentase terhadap radikal bebas DPPH. Hal ini berarti bahwa besarnya volume sampel dapat mengakibatkan aktivitas antioksidan yang besar[9]. Hasil pengukuran absorbansi dan perhitungan aktivitas peredaman (%) serta Nilai IC₅₀ terhadap berbagai volume sampel probiotik pada minuman yoghurt dengan merek yang berbeda. Adapun pengaruh perbedaan merek pada masing masing sampel minuman yoghurt terhadap aktivitas peredaman (%) DPPH dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar3. Kurva Kalibrasi Aktivitas Peredaman(%) Minuman Yoghurt Merk A Terhadap Radikal Bebas DPPH



Gambar4. Kurva Kalibrasi Aktivitas Peredaman (%) Minuman Yoghurt Merk B Terhadap Radikal Bebas DPPH



Gambar5. Kurva Kalibrasi Aktivitas Peredaman (%) Minuman Yoghurt Merk C Terhadap Radikal Bebas DPPH

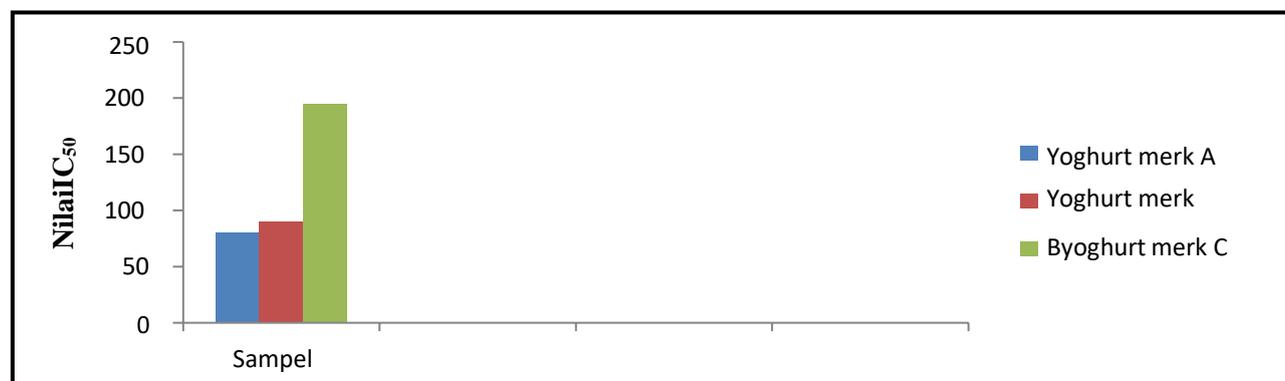
Gambar 3, 4, dan 5 menunjukkan kenaikan persentase peredaman dengan adanya peningkatan volume sampel dari senyawa antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan menghasilkan hubungan antara volume sampel dan % peredamannya. Persen peredaman adalah kemampuan suatu sampel untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan volume sampel. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi volume sampel yang dipipet, maka semakin tinggi pula persen peredaman yang dihasilkan.

Analisis Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Efektivitas suatu sampel untuk menangkal radikal bebas dari metode DPPH dinamai dengan IC₅₀. Pengertian dari IC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Hasil Nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel uji dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel1. Nilai Aktivitas Antioksidan(IC₅₀)

| Sampel Uji | Nilai IC ₅₀ |
|----------------|------------------------|
| Yoghurt Merk A | 80,52ml |
| Yoghurt Merk B | 90,14ml |
| Yoghurt Merk C | 194,81ml |

**Gambar6.** Diagram Blok Nilai Aktivitas Antioksidan (IC₅₀)

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan kelompok sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50, kelompok kuat IC₅₀ antara 50-100, kelompok sedang jika nilai IC₅₀ 101-150, dan kelompok lemah jika nilai IC₅₀ antara 150-200(Molyneux,2004). Berdasarkan pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa sampel yoghurt merk A termasuk dalam kategori kelompok kuat karena memiliki nilai IC₅₀ 80,52ml, sampel yoghurt merk B termasuk dalam kategori kuat karena memiliki nilai IC₅₀90, 14ml, dan sampel yoghurt merk C termasuk dalam kategori lemah karena memiliki nilai IC₅₀194,81ml. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel yoghurt merk A memiliki nilai IC₅₀ lebih kecil dibandingkan dengan nilai IC₅₀ sampel yoghurt merk B dan sampel yoghurt merk C, yang artinya yoghurt merk A memiliki daya aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada yoghurt merk B dan yoghurt merk C. Semakin tinggi nilai IC₅₀ maka semakin lemah aktivitas antioksidannya begitu sebaliknya, semakin rendah nilai IC₅₀ yang diperoleh maka semakin kuat aktivitas antioksidannya.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ada dua sampel minuman yoghurt, yaitu merk A dan merk B termasuk dalam kategori kuat dan sampel minuman yoghurt C termasuk dalam kategori lemah. Minuman yoghurt dengan merk A memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan minuman yoghurt merk lain (merk B dan merk C) dengan nilai IC₅₀ dari sampel yoghurt merk A(80,52ml), B(90,14ml), dan C(194,81ml). Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel yoghurt. Antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan minuman yoghurt merek lain (merk B dan merk C) dengan nilai IC₅₀ dari sampel yoghurt merk A(80,52ml), B(90,14ml), dan C(194,81ml). Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel yoghurt.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Widjaya, A. (1996). Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan. Forum Diagnosticum.Vol. 4. Hal 1-6.
- [2] Halliwell, B. (2012). Free Radical and Antioxidant: Updating a Personal View, Nutrition Review, 70, 257-265
- [3] Sari, Ayu Nirmala.(2015). Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. 1(1): 63-68
- [4] Silalahi, J. (2006). Makanan Fungsional. Penerbit : Kanisius. Yogyakarta. Hal 40, 47-48.
- [5] Fessenden, R. J. dan J. S. Fessenden.(1982).Kimia Organik. Erlangga. Jakarta
- [6] Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin J. Sci. Technol., Vol. 26(2): 211-219.

-
- [7] Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal.419, 425.
- [8] Setioningsih, ety, dkk. Pembuatan Minuman Probiotik dari Susu Kedelai dengan Inokulum Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, dan Lactobacillus acidophilus. Surakarta: UNS, 2004.
- [9] Dudonné, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M. &Mérillon, J.M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry.57(5): 1768-1774. September 2010.