

BENZENA

Pharmaceutical Scientific Journal

Vol.03 No. 02 (Desember) (2024)

e-ISSN 2961-7375

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT KEDELAI EDAMAME
(*Glycine Max L.*) MENGGUNAKAN METODE PEREDAMAN RADIKAL BEBAS
DPPH (2,2-diphenyl-1- picrilhidrazyl)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST IN ETHANOL EXTRACT BARK OF EDAMAME
SOYBEAN (*Glycine Max L.*) USING DPPH FREE RADICAL REDUCTION
METHOD (2,2-diphenyl-1- picrilhydrazyl)**

Fatikhatul Putri Oktaviani ¹, Putu Yudhistira Budhi Setiawan ², Ni Putu Widayanti ³,
Ni Putu Wintariani⁴

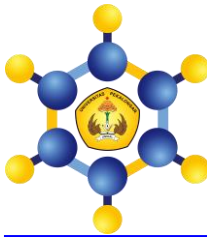
Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bali Internasional
Jl. Seroja, Gang Jeruk, Kelurahan Tonja Denpasar Utara, Bali 80239

*Email: putriioktaviani10@gmail.com

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan suatu permasalahan yang menimbulkan penyakit generatif yang dapat membahayakan tubuh, dengan begitu tubuh memerlukan untuk menetralkan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas adalah dengan memberikan antioksidan. Produksi radikal bebas berlebihan menyebabkan terjadinya stres oksidatif maka tubuh perlu mendapat tambahan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen). Antioksidan alami yang berasal dari buah-buahan dan tanaman. Tanaman kedelai edamame (*Glycine Max L.*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa isoflavon yang berfungsi sebagai antioksidan. Tujuan Penelitian ini mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1- picrilhidrazyl). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH dengan menentukan nilai *Half Maximal Inhibitor Concentration* (IC₅₀). Penentuan kadar senyawa fenol dan flavonoid dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan skrining fitokimia menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil dari penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame memiliki nilai IC₅₀ 685,39 ± 19,38 ppm. Hasil penetapan kadar flavonoid total memiliki nilai 0,35 ± 0,03 %. Hasil penetapan kadar fenol total memiliki nilai 1,34 ± 0,01 %, skrining fitokimia ekstrak kulit kedelai edamame menggunakan KLT memiliki hasil positif kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, steroid, terpenoid, dan saponin. Hasil pengujian evaluasi simplisia kulit kedelai edamame meliputi uji kadar abu total dengan hasil 5,53 ± 0,12 %, susut pengeringan dengan hasil 8,47 ± 0,11 %. Hasil pengujian evaluasi ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame meliputi uji rendemen dengan hasil 13,427 %. Kesimpulan dari pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame memiliki hasil IC₅₀ yang sangat lemah. Hasil dari evaluasi simplisia dan ekstrak memiliki hasil parameter yang sesuai standar.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Fenol Total, Flavonoid Total, *Glycine Max L.*



ABSTRACT

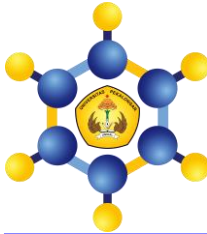
Free radicals are a problem that causes generative diseases that can harm the body, so the body needs to neutralize the damage caused by free radicals with antioxidants. Antioxidants help the body fight excessive production of free radicals, which can cause oxidative stress, so the body must receive additional antioxidants from outside the body (exogenous antioxidants), such as natural antioxidants that come from fruits and plants. The edamame soybean plant (*Glycine Max L.*) is a plant that contains isoflavone compounds, which function as antioxidants. The aim of this research is to determine the antioxidant activity of a 96% ethanol extract of edamame soybean bark using the DPPH free radical reduction method (*2,2-diphenyl-1-picrilhidrazyl*). Testing of antioxidant activity using the DPPH free radical inhibition method was calculated based on inhibitor *concentration values* (IC_{50}). Determination of levels of phenol and flavonoid compounds using UV-Vis spectroscopic photometry and phytochemical screening using thin-layer chromatography (TLC). The results of the antioxidant activity study of the ethanol extract of 96% edamame soybean bark have an IC_{50} value of $685,39 \pm 19,38$ ppm. The result of the determination of the total flavonoid level has a value of $0,3511 \pm 0,03\%$. The outcome of the concentration of total phenol level is $1,3428 \pm 0,01\%$. The results from the simplicity assessment of edamame soybean included content of total ash with a result of $5,5357 \pm 0,12\%$ and the suspension of the drying with a result of $8,4740 \pm 0,011\%$. The evaluation results of 96% of the ethanol extract of edamame soybean bark included a rendement with 13.427%. The conclusion from the antioxidant activity test of the ethanol extract of 96% edamame soybean bark has a very weak IC_{50} result. The results of the evaluation of simplisia and extracts have standard parameters, and phytochemical screening of soya skin extract edamame has positive results for secondary metabolite compounds such as flavonoids, phenols, steroids, terpenoids, and saponins.

Keywords: *antioxidants, DPPH, total phenols, total flavonoids, Glycine Max L.*

A. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri dan mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan (Yuslianti, 2018). Elektron yang tidak berpasangan tersebut yang dapat menyebabkan radikal bebas sangat reaktif yang kemudian menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat dan DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas

yang masuk ke dalam tubuh akan menyerang sel-sel yang sehat yang dapat menyebabkan kerusakan maupun kehilangan fungsi dan strukturnya (Liochev, 2013). Faktor penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas seperti penyakit *neurodegenerative* (penyakit Parkinson, penyakit Alzheimer, dan penyakit Multiple sclerosis), diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular (hipertensi), penyakit pernafasan



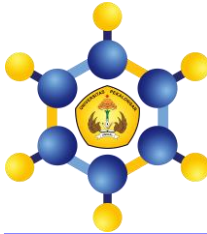
(asma), proses penuaan dini, perkembangan katarak, rheumatoid arthritis, dan bahkan kanker (kanker kolorektal, prostat, paru-paru, kandung kemih) (Phaniendra *et al*, 2015). Substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas adalah dengan antioksidan.

Antioksidan sangat diperlukan dalam tubuh, apabila radikal bebas jumlahnya berlebihan berakibat munculnya terjadinya stres oksidatif yang memicu timbulnya penyakit degeneratif. Kekurangan senyawa antioksidan tersebut dapat dipenuhi dari luar, maka tubuh perlu memperoleh tambahan antioksidan dari luar tubuh yang dapat berasal dari asupan makanan dan minuman yang dikonsumsi tiap hari (Maharani *et al.*, 2021). Antioksidan alami dapat berasal dari buah-buahan dan tanaman. Kedelai edamame (*Glycine Max L.*) adalah tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Tanaman ini sumber antioksidan alami tumbuhan karena mengandung senyawa fenolik dan polifenolik yaitu golongan flavonoid seperti isoflavon, pada kedelai edamame memiliki tiga jenis isoflavon yang berkhasiat sebagai antioksidan

seperti daidzein, glisitein, dan genistein, dimana genistein merupakan antioksidan yang paling kuat (Yulia & Wijaya., 2015).

Dalam penelitian Siddiq *et al.* (2016), hasil uji aktivitas antioksidan pada biji edamame menggunakan ekstrak etanol 96% dan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH menghasilkan data aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 177,2 ppm. Menurut Az-Zahrah (2011), hasil uji aktivitas antiradikal bebas pada kedelai menggunakan ekstrak etil asetat dan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH dan menghasilkan data aktivitas antiradikal bebas ekstrak etil asetat kedelai dengan nilai IC_{50} 211,7 ppm. Sedangkan menurut Ponnusha *et al.* (2011), hasil pengujian menggunakan metode DPPH dan menghasilkan data aktivitas antioksidan dan antimikroba dari (*Glycine Max L.*) (kedelai edamame) dengan nilai IC_{50} pada sampel ekstrak yaitu 16.48 µg/ml.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Metode DPPH memiliki keunggulan yaitu karena metode ini merupakan yang



paling mudah, uji yang dilakukan cepat, biaya yang digunakan murah dan dapat digunakan di laboratorium sederhana, terbukti bahwa metode ini akurat dan praktis (Masrifah *et al.* 2017). Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu proses reduksi atau bisa juga seperti sifat antioksidan akan memberikan atom hidrogennya pada radikal DPPH yang akan menghasilkan bentuk tereduksi DPPH yang mempunyai sifat non-radikal (Purwanti, 2019). Pemeriksaan uji antioksidan dapat dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH secara spektrofotometri *UV-Visible* yang nantinya hasil pengujian ini dapat

B. Metode Penelitian

1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi: etanol, aquadest, asam klorida, FeCl_3 , Aluminium klorida, asam galat, pereaksi dragendorff, kinin, stigmasterol, pereaksi liebermann-burchard, plat KLT, n-heksan, etil asetat, folin-cioceltea, natrium asetat, NaOH, DPPH, methanol, kuersetin, dan serbuk simplisia kulit kedelai edamame.

2. Langkah Penelitian

a. Penyiapan simplisia

dinyatakan dengan membandingkan nilai IC_{50} sampel dan standar antioksidan yaitu kuersetin.

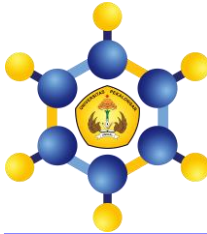
Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame (*Glycine Max L.*) menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dengan hasil yang diharapkan dapat dimanfaatkan untuk menambah pengetahuan masyarakat mengenai pengembangan kulit kedelai edamame sebagai obat tradisional yang mempunyai efek antioksidan.

Pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan, tahapan tersebut dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, dan penghaluskan & penyimpanan.

b. Evaluasi simplisia

Uji makroskopik dan mikroskopik

Kulit Edamame diperiksa secara makroskopis dan mengidentifikasi *visual* kulit dan dicatat hasil pengamatan



meliputi bagian luar, ukuran, bau, warna, dan struktur pada tanaman. Evaluasi mikroskopis untuk mengamati fragmen pengenalan dalam bentuk sel, isi sel atau jaringan pada simplisia kedelai edamame (*Glycine max* L. Merr

Uji kadar abu total

Menyiapkan simplisia sebanyak 0,5 gram dimasukan ke dalam krus silikat yang sudah ditimbang sebelum ditambahkan simplisia sebagai berat kosong dan dilakukan pemanasan dengan alat tanur pada suhu 900°C sampai menjadi abu. Setelah itu krus silikat dimasukkan ke dalam desikator lalu ditimbang hingga diperoleh bobot yang tetap dan stabil. Kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar Abu Total} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

- Uji susut pengeringan

Menyiapkan 1–2 gram simplisia kulit kedelai edamame lalu dimasukkan ke dalam krus porselin bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada oven dengan suhu 105°C selama 30 menit dan yang telah ditara. Krus porselin yang sudah berisikan simplisia kembali dimasukkan ke dalam oven dalam keadaan tutup krus terbuka dan

dipanaskan dengan suhu 105°C selama kurang lebih satu jam, kemudian timbang dan dilakukan pengulangan pemanasan dan dihitung persentasenya dengan rumus :

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 10$$

c. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol kulit kedelai edamame dilakukan dengan metode maserasi dengan cara, memasukan simplisia kulit kedelai edamame sebanyak 300 g ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% dengan rasio 1:10. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring dan filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *water bath* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental.

d. Evaluasi ekstrak

- Rendemen

Rendemen diperoleh dari persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan. Setelah didapatkan ekstrak kental dilakukan perhitungan rendemen yang diperoleh yaitu dengan rumus :



Rendemen (%) =

$$\frac{\text{Berat ekstrak kental (g)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100 \%$$

- Uji organoleptis

Pemeriksaan organoleptis ekstrak kulit kedelai edamame yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa dengan cara pengamatan yang menggunakan panca indera.

- Skrining fitokimia

Pengujian skrining fitokimia secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase gerak (n-heksan & etil asetat) dengan perbandingan (4:1) yang meliputi pemeriksaan alkaloid (pembanding senyawa kinin dengan menggunakan pereaksi semprot reagen Dragendroff), flavonoid (pembanding senyawa kuersetin dengan menggunakan pereaksi semprot reagen AlCl_3), fenol (pembanding senyawa fenolik asam galat dengan menggunakan pereaksi semprot reagen FeCl_3), dan steroid (pembanding senyawa steroid stigmasterol dengan menggunakan pereaksi semprot reagen Liebermann-burchard), sedangkan pada pengujian saponin

menggunakan pemeriksaan secara kualitatif ialah dengan cara melarutkan ekstrak yang ditambahkan air panas 10 mL di dalam tabung reaksi lalu campuran dikocok kuat secara menyeluruh selama 10 detik, positif senyawa saponin pada pengujian ini ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil yang akan terus terlihat selama lima menit tidak hilang dengan penambahan satu tetes HCl 2N.

Uji fenol total

Kurang lebih 0,2 gram ekstrak, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, lalu ditambahkan 25 mL metanol p.a, aduk selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Setelah itu saring ke dalam labu ukur sebanyak 25 mL, tambahkan metanol p.a melalui penyaring. Selanjutnya larutan pembanding ditimbang kurang lebih 10 mg, lalu dilarutkan di dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol sampai tanda. Selanjutnya membuat seri pengenceran larutan pembanding dengan kadar berturut-turut 15, 30, 50, 70, 100, 150, 200, $\mu\text{g/mL}$.



Prosedur pipet pada masing-masing larutan uji diambil 1 mL dan dimasukkan kedalam wadah yang sesuai tambahkan 5,0 mL enceran Folin-Ciocalteu, diamkan selama 8 menit. Tambahkan 4,0 mL NaOH 1% dan di inkubasi selama 1 jam. Ukur serapan masing-masing larutan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 730 nm. Lakukan pengukuran blangko dengan cara yang sama, tanpa penambahan larutan uji. Setelah itu hitung kadar dari larutan yang telah diuji dengan rumus. Perhitungan kadar fenol total menggunakan rumus:

$$\% = \frac{Cp \times V \times f}{W} \times 100$$

- Uji flavonoid total

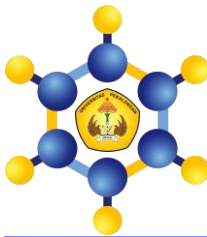
Menimbang kurang lebih 0,2 g ekstrak, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, lalu tambahkan 25 mL etanol p.a, aduk selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Setelah itu saring ke dalam labu ukur sebanyak 25 mL, tambahkan etanol p.a melalui penyaring. Selanjutnya larutan pembanding

ditimbang kurang lebih 10 mg, lalu dilarutkan di dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda. Selanjutnya membuat seri pengenceran larutan pembanding dengan kadar berturut-turut 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL

Prosedur pipet secara terpisah 0,5 mL larutan uji dan masing-masing seri larutan pembanding ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan pada masing-masing 1,5 mL etanol p.a, 0,1 mL AlCl 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M dan 2,8 mL aquadest. Kocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum. Lakukan pengukuran blangko dengan cara yang sama, tanpa penambahan aluminium klorida. Setelah itu hitung kadar dari larutan yang telah diuji dengan rumus. Perhitungan kadar flavonoid total menggunakan rumus:

$$\% = \frac{Cp \times V \times f}{W} \times 100$$

e. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH



- Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH disiapkan dengan menimbang 15,8 mg serbuk DPPH, kemudian dilarutkan dalam labu takar 100 mL dengan metanol hingga tanda batas, lalu diukur. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan cara sebanyak 1,0 mL DPPH 0,4 mM ditambah 4,0 mL metanol, kemudian campuran divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Campuran larutan ini diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 450-550 nm.

- Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit kedelai edamame
- Sejumlah sampel tertentu ditambahkan dengan 1,0 mL DPPH 0,4 mM dan 3,950 mL metanol. Campuran tersebut selanjutnya divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Campuran selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm dengan blanko yang digunakan adalah metanol. Pengukuran absorbansi juga dilakukan terhadap kontrol yang

terdiri atas 1,0 mL DPPH dan 4,0 mL metanol. Senyawa pembanding yang digunakan dalam ini adalah kuersetin yang sudah diketahui sebagai antioksidan. Presentase penangkapan radikal bebas oleh sampel dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A_0 : absorbansi kontrol (tidak mengandung ekstrak / fraksi uji)

A_1 : absorbansi sampel uji atau senyawa pembanding.

Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH ini adalah IC_{50} , yaitu konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk menangkap radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan membuat suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan konsentrasi senyawa uji dengan persen aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH.

C. Hasil dan Pembahasan

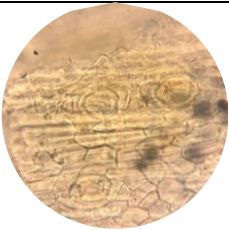
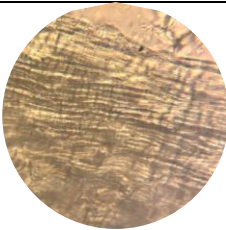
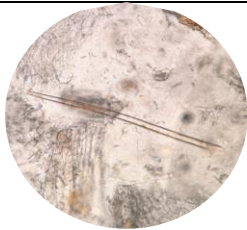
Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Dari hasil determinasi diketahui bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini yakni benar tanaman kedelai edamame (*Glycine Max L.*). Bagian kulit yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit yang segar sesuai dengan usia waktu panen, berwarna hijau yang terbebas dari tanaman yang busuk, hama penyakit dan hewan seperti ulat, yang nantinya tanaman yang telah

dikeringkan kemudian di jadikan simplisia serbuk halus yang akan digunakan untuk di maserasi dengan pelarut etanol 96% dan pengujian evaluasi simplisia parameter spesifik dan parameter non-spesifik. Simplisia yang didapatkan dilakukan pengujian parameter spesifik (uji mikroskopik dan uji makroskopik), hasil pengujian mikroskopik dan makroskopik dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2

Table 1. Hasil pengujian makroskopik simplisi kulit kedelai edamame

Pengamatan Makroskopik	Hasil Pemeriksaan	
	Tanaman Segar	Serbuk Simplisia
Bentuk	Permukaan tidak rata dan berbulu tipis	Serbuk
Aroma	Tidak berbau	Bau khas
Rasa	Tidak berasa	Tidak berasa
Warna	Hijau	Hijau muda

Tabel 2. Hasil pengujian mikroskopik simplisi kulit kedelai edamame

			
Epidermis atas dengan stomata	Berkas pengangkut dengan penebalan tipe spiral	Sklerenkim	Rambut penutup

Hasil uji kadar abu total simplisia sebesar 5,53% yang dapat disimpulkan bahwa simplisia kulit kedelai edamame sudah memenuhi syarat standarisasi yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia (FHI), yakni kadar abu total tidak lebih dari 16,6% maka simplisia kulit

kedelai edamame mengandung rendahnya mineral internal & eksternal dan cemaran bahan anorganik pada sampel. Hasil kadar abu total simplisia kulit kedelai edamame dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Kadar Abu Total Dan Susut Pengeringan Simplisia Kulit Kedelai Edamame

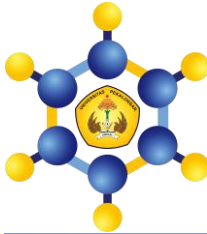
Uji	Sampel	Kadar (%)			Rerata $\pm$ SD (% b/b)
		I	II	III	
Susut pengeringan	Simplisia	8,38	8,60	8,43	8,4740 $\pm$ 0,11
Susut pengeringan	Simplisia	8,38	8,60	8,43	8,4740 $\pm$ 0,11

Hasil susut pengeringan simplisia sebesar 8,47% yang dapat disimpulkan bahwa simplisia kulit kedelai edamame sudah memenuhi syarat standarisasi yang tercantum dalam Farmakope Herbal Hasil ekstraksi etanol 96% kulit kedelai edamame menggunakan metode maserasi menunjukkan hasil rendemen sebesar 13,427 % yang dimana hasil rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% dan semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Kemenkes RI, 2017). Hasil rendemen

Indonesia (FHI) mengenai kadar nilai susut pengeringan yakni tidak lebih dari 10%, maka simplisia kulit kedelai edamame memiliki nilai mutu simplisia yang baik tidak ditumbuhi jamur.

Terdapat hubungan dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga jika jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung di dalam sampel semakin banyak (Hasnaeni et al., 2019). Hasil nilai rendemen ekstrak kulit kedelai edamame dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak kulit kedelai edamame



Uji	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen % (b/b)
Rendemen	300	40,282	13,427

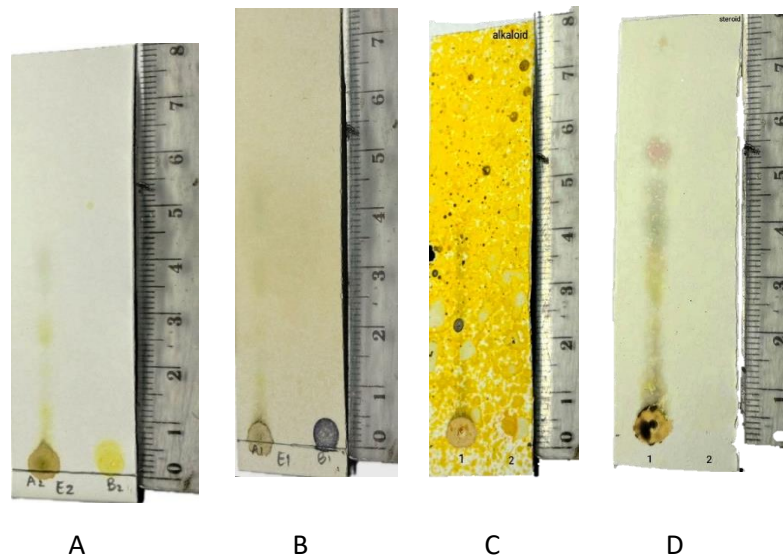
Pengujian skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame sehingga dapat mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Skrining fitokimia ekstrak kulit kedelai edamame menggunakan

metode kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia seperti flavonoid, fenol, alkaloid, dan steroid dengan menggunakan pereaksi semprot dan perhitungan nilai R_f. Hasil dari skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 1.

Tabel 5. Hasil skrining fitokimia menggunakan metode KLT

Sampel	hR _f	Sebelum disemprot		Setelah disemprot (sinar tampak)				Prediksi senyawa
		UV 254	UV 366	AlCl ₃	FeCl ₃	Dragend orff	Liebermann-burchard	
Ekstrak kulit kedelai edamame	0	+	+	Coklat	Coklat	Coklat bercak jingga	Coklat bercak kehitaman	Steroid
	13	+	+	Kuning	Coklat	Abu-abu	Coklat muda	Flavonoid
	25	+	+	-	-	-	Coklat muda	Steroid
	31	+	-	Kuning	-	Abu-abu	Kehijauan	Flavonoid
	38	+	+	-	Kehijauan	-	Coklat muda	Flavonoid
	44	+	-	Biru	Biru kehitaman	Abu-abu	Abu / biru kehitaman	Fenolik
	63	+	-	-	-	-	Kemerahan	Terpenoid
	88	+	-	-	-	-	Kemerahan	Terpenoid

Keterangan : (+) = mengandung senyawa yang dimaksud



Gambar 1. Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Kulit Kedelai Edamame dilihat di bawah sinar tampak ; A. (A2) ekstrak kulit kedelai edamame setelah disemprot AlCl_3 (B2) pembanding kuersetin; B. (A1) ekstrak kulit kedelai edamame setelah disemprot FeCl_3 (B1) pembanding asam galat ; C. (1) ekstrak kulit kedelai edamame setelah disemprot dragendroff (2) pembanding kinin ; D. (1) ekstrak kulit kedelai edamame setelah disemprot liebermann-burchard (2) pembanding stigmasterol. Skala menunjukkan dalam satuan sentimeter

Pengujian senyawa saponin dari ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame menggunakan metode kualitatif yaitu memakai ekstrak yang dilarutkan dengan air panas 10 ml kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik, tanda positif pada pengujian saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil yang akan terus terlihat selama lima menit tidak hilang dengan penambahan satu tetes HCl 2N. Penambahan HCl 2N bertujuan menarik senyawa saponin yang bersifat basa. Reaksi timbulnya buih atau busa terdapat

reaksi komposisi kimia yang terkandung dalam sampel, adanya gugus hidroksil dan karbon sebagai bagian dari struktur penyusun saponin organik yang memungkinkan senyawa ini memiliki sifat larut dalam air dan dapat berbuih (Baud et al., 2014). Hasil pengujian senyawa saponin dari ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame terbentuk buih setinggi 1 sampai 10 cm setelah penambahan HCl 2N yang menandakan bahwa ekstrak positif senyawa saponin.

Pengujian flavonoid total pada ekstrak kulit kedelai edamame dilakukan secara uji kuantitatif untuk menentukan kadar senyawa flavonoid dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan reagen aluminium klorida (AlCl_3) dan pembanding kuersetin (*Quercetine Equivalent/QE*). Pengukuran kadar senyawa flavonoid total dibuat sebanyak tiga replikasi dengan memperoleh hasil kadar flavonoid total ekstrak kulit kedelai edamame sebesar 0,3511% dengan standar deviasi 0,035%. Penetapan kadar

flavonoid total didasarkan pada kurva kalibrasi baku diperoleh persamaan regresi $y = 0,01x - 0,0192$ dan $R^2 = 0,9976$, angka ini mendekati 1 yang menunjukkan kurva linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai serapan. Persamaan regresi linier ini digunakan untuk menghitung kandungan flavonoid total dalam ekstrak etanol kulit kedelai edamame. Hasil nilai Pengujian flavonoid total dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengujian flavonoid total

Absorbansi		Kadar Flavonoid Ekstrak (%)	Rata-rata $\pm$ SD
Replikasi	Nilai absorbansi		
1	0,27	0,37	0,3511 $\pm$ 0,03
2	0,22	0,31	
3	0,27	0,37	

Pengujian fenol total pada ekstrak kulit kedelai edamame dilakukan secara uji kuantitatif untuk menentukan kadar senyawa fenolik dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan NaOH 1%. Larutan standar pada penetapan kadar total fenol ini menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yaitu senyawa dalam sampel dioksidasi oleh molibdat

tungstate yang merupakan komponen dari Folin-Ciocalteu sehingga terjadi perubahan warna dari kuning ke biru (Sriarumtias, 2016). Pengukuran kadar senyawa fenolik total dibuat sebanyak tiga replikasi dengan memperoleh hasil kadar fenolik total ekstrak kulit kedelai edamame sebesar 1,3428 % dengan standar deviasi 0,015% Penetapan kadar fenol didasarkan pada kurva kalibrasi



tersebut didapatkan persamaan regresi $y = 0,0116x - 0,0715$ dan nilai koefisien determinasi (R^2) yaitu 0,999.

Hasil nilai Pengujian fenol total dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengujian fenol total

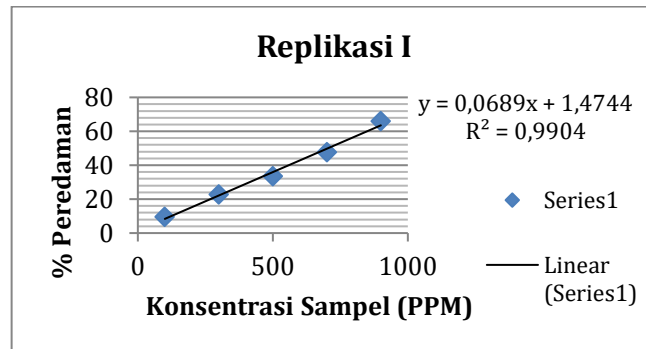
Absorbansi		Kadar Fenol Ekstrak (%)	Rata-rata $\pm$ SD
Replikasi	Nilai absorbansi		
1	1,172	1,33	1,3428
2	1,190	1,35	$\pm$
3	1,162	1,32	0,01

Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang. Perubahan warna ini akan teramati dalam bentuk penurunan absorbansi DPPH (Murwanto *et al.*, 2012). Pengukuran absorbansi ekstrak dengan DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sebelumnya dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH pada panjang gelombang 400 sampai 800 nm, Pengukuran absorbansi dilakukan dengan tiga kali replikasi dengan tujuan mengurangi kesalahan dalam analisis

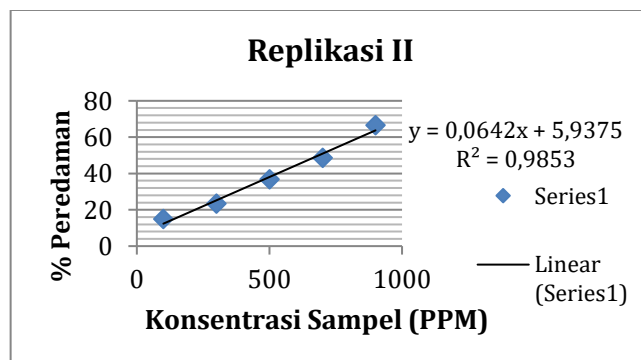
sampel dan pengukuran peredaman radikal bebas, sampel ditandai dengan perubahan warna ungu yang diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis yang didapatkan persentase perendaman yang dimana setiap konsentrasi mengalami perubahan persen perendaman. Hasil persentase peredaman dan konsentrasi tersebut kemudian dibuatkan sebuah grafik dan didapatkan kurva regresi linier. Persamaan yang diperoleh yaitu $y = ax + b$ dengan replikasi 1 nilai R^2 sebesar 0,99, replikasi 2 nilai R^2 sebesar 0,98, dan replikasi 3 nilai R^2 sebesar 0,99. Nilai R^2 pada rentang 0,81 hingga 0,99 dalam statistika memiliki arti bahwa terdapat hubungan yang kuat antara konsentrasi sampel dan persentase peredaman



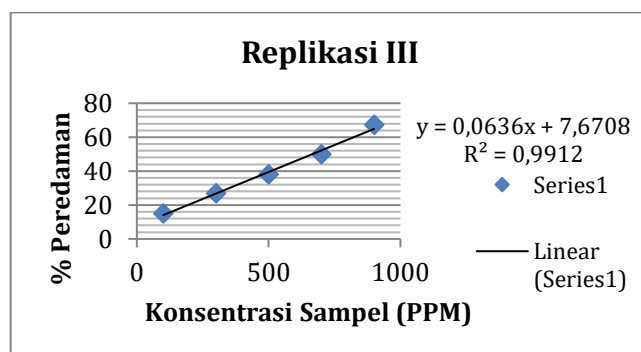
tersebut (Yodha *et al.*, 2021). Grafik persamaan regresi linear dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4.



Gambar 2. Grafik persamaan regresi linear ekstrak kulit kedelai edamame replikasi I



Gambar 3. Grafik persamaan regresi linear ekstrak kulit kedelai edamame replikasi II



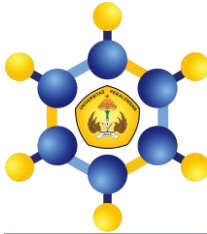
Gambar 4. Grafik persamaan regresi linear ekstrak kulit kedelai edamame replikasi II

Selanjutnya larutan kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin. Hal ini dikarenakan kuersetin merupakan senyawa bahan alam (metabolit sekunder) yaitu golongan flavonoid yang memiliki gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya yang cukup efektif sebagai antiradikal (Murwanto *et al.*, 2012). Hasil nilai IC₅₀ larutan kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menunjukkan bahwa memiliki nilai IC₅₀ pada replikasi 1 sebesar 704,29 ppm, replikasi 2 sebesar 686,33 ppm, dan replikasi 3 sebesar 665,55 ppm dengan nilai rata-rata dan standar deviasi 685,39 ±19,38 ppm yang dikategorikan sangat lemah. Hasil nilai IC₅₀ pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit kedelai edamame dapat dilihat pada Tabel 8. Hasil penelitian kuantitatif pengujian senyawa fenolik menggunakan

spektrofotometri UV-Vis didapatkan hasil fenol total sebesar 1,3428% dan flavonoid total sebesar 0,3511% bahwa ekstrak kulit kedelai edamame memiliki kandungan fenol yang rendah sehingga mendapatkan hasil aktivitas antioksidan IC₅₀ yang sangat lemah. Senyawa fenolik mempunyai hubungan dengan aktivitas antioksidan yaitu senyawa fenolik memiliki kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil, dengan begitu semakin tinggi kadar senyawa fenolik maka semakin kecil nilai IC₅₀. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan dengan memutuskan ikatan rantai radikal bebas secara langsung dan mengumpulkan berbagai spesies reaktif dengan begitu semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin kuat aktivitas antioksidannya.

Table 8. Hasil uji aktivitas antioksidan

Sampel	Replikasi	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata ± SD	Keterangan
Ekstrak kulit kedelai edamame	1	704,29	685,3918 ± 19,38	Sangat Lemah
	2	686,33		
	3	665,55		
Quersetin (Kontrol +)	1	0,003	0,0033 ± 0,00	Sangat Kuat
	2	0,004		
	3	0,003		



D. Kesimpulan

Ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame (*Glycine Max L.*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder pada proses skrining fitokimia, seperti flavonoid, fenol, steroid, terpenoid, saponin, dan memiliki hasil persentase parameter seperti mikroskopik, makroskopik, kadar abu total, susut pengeringan, dan mutu organoleptik

yang memiliki hasil parameter yang sesuai dengan standa. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan ekstrak etanol 96% kulit kedelai edamame memiliki nilai IC_{50} sebesar 685,39 ppm yang termasuk dalam kategori sangat lemah. Untuk penelitian selanjutnya mungkin perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode yang lain

E. Referensi

- Baud, G. S., Sangi, M. S., & Koleangan, H. S. J. (2014). ANALISIS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL BATANG TANAMAN PATAH TULANG (*Euphorbia tirucalli L.*) DENGAN METODE Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *JURNAL ILMIAH SAINS*, 14(2). <https://doi.org/10.35799/jis.14.2.2014.6065>
- Eko Murwanto, P., & Santosa, D. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Tumbuhan *Cynara scolimus L.*, *Artemisia china L.*, *Borreria repensDC.*, *Polygala paniculata L.* Hasil Koleksi dari Taman Nasional Gunung Merapi dengan Metode Penangkapan radikal DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 17(3).
- Hasnaeni, H., Usman, S., & Wisdawati, W. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2). <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13599>
- Kemenkes RI. (2017). FHI Edisi II. In *Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*.
- Liochev, S. I. (2013). Reactive oxygen species and the free radical theory



- of aging. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 60).
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011>
- Maharani, A. I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K. A., Rahman, N. A., Ilahi, N. F., & Farma, S. A. (2021). Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal dalam Mencegah Efek Radikal Bebas. *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 1(2).
- Masrifah, M., Rahman, N., & Abram, P. H. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.). *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2).
<https://doi.org/10.22487/j24775185.2017.v6.i2.9240>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. In *Indian Journal of Clinical Biochemistry* (Vol. 30, Issue 1, pp. 11–26). Springer India.
<https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Purwanti, L. (2019). PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI SEDUHAN 3 MERK TEH HITAM (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) DENGAN METODE SEDUHAN BERDASARKAN SNI 01-1902-1995. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 2(1).
<https://doi.org/10.29313/jiff.v2i1.4207>
- Sriarumtias, F. F. (2016). Pengukuran Kadar Betakaroten dan Fenol Total Buah Pepino Kuning (*Solanum muricatum* Aiton) Pada Tingkat Kematangan yang Berbeda. *Jurnal Farmako Bahari*, 7(2).
- Yodha . A.W.M, Abdillah. M, Indalifiany. A, Elfahmi, Chahyadi. A, & Sahidin. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Metanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*). In *JFSP* (Vol. 7, Issue 3).
- Yulia, R., & Wijaya, I. S. (2015). Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Glycine max (L.) Merr Varietas DetaYulia, R., & Wijaya, I. S. (2015). Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Glycine max (L.) Merr Varietas Detam 1 Hasil



BENZENA
Pharmaceutical Scientific Journal
Vol.03 No. 02 (Desember) (2024)
e-ISSN 2961-7375

Estraksi Ultrasonik. Jurnal Sains

5.2.1.57

Farmasi & Klinis, 2(1). <https://doi.org/10.29208/jsfk.201>

Yuslianti, E. R. (2018). Pengantar Radikal

Jurnal Sains Farmasi & Klinis, 2(1).

Bebas dan Antioksidan. *Penerbit*

<https://doi.org/10.29208/jsfk.201>

Deepublish.