

PERBANDINGAN KADAR ANTIOKSIDAN KISMIS KUNING DAN KISMIS HITAM SEBAGAI PENINGKAT IMUN DENGAN METODE DPPH

Comparison of antioxidant levels of yellow and black currain as immunity boost with dpph method

Ratnasari Dewi¹, Ismail Ibrahim¹, Rafika², Asmawati¹, Sania Umar³, Zulaiha³

¹Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar

²Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar

³Jurusan Kebidanan Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden : rafikauddinramli@gmail.com, 082345553522

ABSTRACT

A study on the comparison of antioxidant levels using the DPPH method on nutrient-rich snacks like black and yellow raisins as an alternative to natural immune boosters was conducted. Antioxidants are substances that work to stop and repair cell damage in the body, particularly that brought on by exposure to free radicals. In addition to educating the public about healthy snacks without preservatives and that may be utilized as one of the foods to strengthen immune system, this study compares antioxidant levels in yellow and black currants as an alternative nutrient-rich snack that is extremely good for health. The result of the study should inform practitioners and business about the antioxidant content that can be employed as an alternative natural immune booster. The DPPH approach, which is used in this study, is based on antioxidants' capacity to prevent free radicals by donating hydrogen atoms. The activity of antioxidant chemicals was assessed by observing the transformation of the hue from purple DPPH to reddish purple. With values of 19.22 and 30.21, the obtained results demonstrated that yellow currants had greater potential antioxidant activity than black currants.

Keywords : Antioxidant, DPPH, Immun, Kismis,

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian perbandingan kadar antioksidan dengan metode DPPH pada jajanan kaya nutrisi seperti kismis hitam dan kuning sebagai alternatif penguat imun alami. Antioksidan merupakan zat yang bekerja untuk menghentikan dan memperbaiki kerusakan sel dalam tubuh, terutama yang disebabkan oleh paparan radikal bebas. Selain mengedukasi masyarakat tentang jajanan sehat tanpa bahan pengawet dan dapat dimanfaatkan sebagai salah satu makanan untuk memperkuat daya tahan tubuh, penelitian ini membandingkan kadar antioksidan pada kismis kuning dan kismis hitam sebagai alternatif jajanan kaya nutrisi yang sangat baik untuk kesehatan. Hasil penelitian ini harus menginformasikan praktisi dan bisnis tentang kandungan antioksidan yang dapat digunakan sebagai penguat kekebalan alami alternatif. Pendekatan DPPH yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. Aktivitas bahan kimia

antioksidan dinilai dengan mengamati perubahan rona dari DPPH ungu menjadi ungu kemerahan. Dengan nilai 19,22 dan 30,21, diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa yellowcurrant memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lebih besar dari pada blackcurrant.

Kata kunci : Antioksidan, DPPH, Imun, kismis

PENDAHULUAN

Anggur kering adalah kismis. Metode pengeringan alami dan mekanis tersedia untuk proses pengeringan. Karena kismis adalah bentuk anggur yang diproses, jenis anggur yang membentuknya akan menentukan tampilannya. Kismis merah atau "dark golden" berasal dari anggur merah, sedangkan kismis hitam dibuat dari anggur hitam. Lalu ada kismis yang terbuat dari anggur hijau yang berwarna "light golden". (Nadira, dkk., 2018).

Anggur yang dihasilkan dengan teknik pengeringan ini memiliki rasa manis dan asam yang menonjol serta tekstur yang sedikit kenyal dan renyah. Karena rasa manisnya yang kuat, kismis sering digunakan dalam makanan sebagai penambah rasa. Sebagai makanan ringan, kismis dibuat dengan cara mengeringkan buah anggur (*Vitis vinifera* L.). Meskipun kismis tidak mengandung sukrosa, kismis mengandung glukosa dan fruktosa. Flavonoid, tanin, dan triterpenoid merupakan zat antimikroba yang terdapat pada kismis. Flavonoid bekerja melawan bakteri dalam tiga cara berbeda: dengan mencegah sintesis asam nukleat, dengan menghambat fungsi membran sitoplasma, dan dengan menghambat metabolisme energi. Efek tanin pada membran anggur (*Vitis vinifera* L.) mengungkapkan mekanisme antibakterinya.

Penggunaan molekul antioksidan dalam makanan dan obat-obatan semakin meluas. Antioksidan dapat berfungsi sebagai pengawet dalam industri pangan. Zat antioksidan juga

memiliki fungsi yang signifikan dalam ranah kesehatan. Penelitian ilmiah telah menunjukkan bahwa molekul antioksidan menurunkan kejadian penyakit kronis seperti kanker, dan penyakit jantung koroner.

Beberapa tanaman mengandung bahan kimia antioksidan pada bunga, daun, dan buahnya. Bahan baku potensial pembuatan antioksidan alami antara lain tumbuhan yang mengandung zat bioaktif antara lain flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki bahan kimia antioksidan adalah purnajiwa (Fajarianti dkk., 2017).

Antioksidan adalah zat yang mencegah dimulainya atau menyebarnya reaksi oksidasi berantai, sehingga mencegah atau menunda reaksi oksidasi molekuler. Temuan uji aktivitas antioksidan yang berbeda dapat diperoleh tergantung pada susunan kimia antioksidan, sumber radikal bebas, dan karakteristik fisikokimia dari preparat sampel yang berbeda (Damayanti dkk. 2017).

Antioksidan adalah molekul yang dapat mencegah oksidasi sel, melindunginya dari risiko radikal bebas yang dihasilkan oleh metabolisme tubuh dan rangsangan eksternal lainnya. Secara kimiawi, sebagian besar antioksidan alami pada tanaman dan makanan berasal dari 93-100 keluarga bahan kimia turunan fenol, termasuk flavonoid (quercetin), turunan asam vitamin hidroksamat kumarin (tokoferol), asam organik (asam galat), dan vitamin C (asam askorbat).

Asam galat adalah salah satu

senyawa fenolik paling kuat yang merupakan antioksidan alami pada tumbuhan. Kehadiran gugus hidroksil bebas dan terkonjugasi dalam senyawa, seperti asam galat, asam tanat, dan quercetin, menentukan aktivitas antioksidan dari zat tersebut, menurut penelitian tentang hubungan antara struktur dan aktivitas antioksidan senyawa fenolik. Secara umum, metode didasarkan pada 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) berbasis air (reaksi dengan radikal bebas), kekuatan antioksidan pereduksi besi (FRAP) (reaksi oksidasi-reduksi), ferrous ion chelating (FIC) (chelating reaksi atau melalui pembentukan kompleks), dan yang berbasis lemak, seperti dengan asam thiobarbituric, dapat digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan non-enzimatik pada tumbuhan dan makanan (TBA). Berbagai hasil uji dapat diperoleh dengan menggunakan berbagai metode uji aktivitas antioksidan.

Hal ini disebabkan oleh adanya interaksi antara sumber radikal bebas, struktur kimia antioksidan, dan sifat fisikokimia dari berbagai preparat sampel. Akibatnya, sangat penting untuk memilih pendekatan yang tepat dan terfokus untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari jenis sampel tertentu. Tiga teknik uji aktivitas antioksidan berbasis air (DPPH, FRAP, dan FIC) dibandingkan dalam penelitian ini dengan standar antioksidan polar, seperti asam askorbat (AA), asam galat (AG), dan quercetin, yang mewakili struktur antioksidan secara umum. Juga, hubungan antara ketiga metodologi pengujian telah diteliti.

Metode yang digunakan saat ini merupakan hasil dari modifikasi dan peningkatan yang telah dilakukan terhadap metode yang telah dipaparkan sebelumnya. Tergantung di mana mereka terjadi, proses oksidasi memiliki

efek yang berbeda. Makanan semakin buruk jika itu adalah sistem makanan. Sistem sel biologis mengalami oksidasi, yang merusak atau membunuh sel (Putri ayu, 2018).

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan observasi laboratorium untuk menilai aktivitas antioksidan kismis kuning dan hitam menggunakan reagen DPPH dan instrumen UV-vis.

1. Bahan

Bahan yang diperlukan antara lain: Kismis kuning dan kismis hitam, serta etanol p.a, DPPH p.a, DMSO dan alat ukur mikro pipet 1ml dan 0,5 ml.

2. Alat

Alat-alat laboratorium yang diperlukan meliputi gelas laboratorium, mikropipet, timbangan analitik, spektrofotometer UV-Vis, kapas, kertas saring, corong gelas, Buret, Stand buret, gelas piala berkapasitas 100 ml dan 300 ml, labu ukur bertampang 100 ml, 20 ml dan 10 ml serta mikro pipet dengan ukuran 1 ml dan 0,5 ml.

Preparasi sampel

Kismis hitam, kismis kuning, dan keduanya dibersihkan, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, lalu digiling menjadi bubuk halus. ditimbang kemudian ditambahkan 150 cc etanol 96%. Triplo dan perawatan blackcurrant telah selesai. Selama dua hari di shaker untuk mencapai hasil yang seragam. Sehingga diperoleh ekstrak yang cukup kental, disaring dan diuapkan di atas penangas air. Hitung rendemen ekstrak yang dibuat dengan menimbang berat ekstrak yang diperoleh.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Untuk membuat larutan DPPH

sebanyak 10 mg per gram, timbang jumlahnya dalam gelas kimia 100 ml dan campur dengan etanol 96%. Tuangkan campuran tersebut ke dalam labu ukur 250 ml sampai takarnya mencapai batas yang sesuai.

Pembuatan larutan sampel kismis kuning diperlukan penimbangan yang tepat sebanyak 200 mg ekstrak ke dalam gelas kimia 100 ml, yang kemudian diencerkan dengan beberapa tetes DMSO. Labu ukur 20 ml diisi dengan etanol 96% setelah larut sempurna, dan sisa volume diisi dengan etanol 96% hingga mencapai konsentrasi target (10 mg/mL). Larutan induk sebanyak 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, dan 4,0 ml (dengan konsentrasi 10 mg/mL) diukur ke dalam labu ukur 10 mL untuk membuat rangkaian sampel dengan konsentrasi 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, dan 4 mg/mL. Volume etanol 96% sampai target. Berdasarkan hasil orientasi, konsentrasi dibuat.

Persiapan sampel blackcurrant: 300 mg ekstrak sampel blackcurrant ditimbang tepat ke dalam gelas kimia 100 ml dan dicampur dengan beberapa tetes pelarut DMSO. Labu ukur 20 ml diisi dengan etanol 96% setelah larut sempurna, dan sisa volume diisi dengan etanol 96% hingga mencapai konsentrasi target (15 mg/mL). Setelah itu, serangkaian sampel disiapkan dengan konsentrasi 1,5 mg/mL, 3 mg/mL, 4,5 mg/mL, dan 6 mg/mL menggunakan 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, dan 4,0 ml larutan induk (15 mg/mL) masing-masing dalam labu takar 10 ml. Volume etanol 96% sampai target. Berdasarkan hasil orientasi, konsentrasi dibuat. Botol tertutup aluminium foil berisi 1,0 ml etanol 96% untuk pengukuran penyerapan blanko. Inkubasi 30 menit dilanjutkan dengan pengocokan dan penambahan 4,0 ml larutan DPPH 40 ppm. Spektrofotometer UV-Vis kemudian

digunakan untuk mendeteksi serapan pada panjang gelombang tertinggi (517 nm).

Penilaian penyerapan sampel melibatkan pengisian vial yang dibungkus Al foil dengan 1,0 ml larutan sampel ekstrak kismis kuning pada konsentrasi 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, dan 4 mg/mL. Inkubasi 30 menit dilanjutkan dengan pengocokan dan penambahan 4,0 ml larutan DPPH 40 ppm.

Spektrofotometer UV-Vis kemudian digunakan untuk mendeteksi serapan pada panjang gelombang tertinggi (517 nm). Larutan ekstrak kismis hitam masing-masing termasuk 1,5 mg/mL, 3 mg/mL, 4,5 mg/mL, dan 6 mg/mL. Data pengukuran sampel dihitung dengan rumus:

$$\begin{aligned} & \% \text{peredaman} \\ &= \frac{\text{Serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{Serapan blanko}} \\ & \times 100\% \end{aligned}$$

Untuk membuat persamaan garis regresi $y = a + bx$, persamaan garis regresi konsentrasi (x) kemudian dibuat sama dengan persentase redaman (y). Dengan menggunakan rumus berikut, tentukan nilai IC₅₀ (konsentrasi yang dapat menghilangkan 50% DPPH):

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Berdasarkan nilai IC₅₀ rata-rata untuk kismis kuning adalah 19,22 mg/ml dan rata-rata nilai IC₅₀ untuk kismis hitam adalah 30,21 mg/ml. Ini menunjukkan bahwa kismis kuning mungkin memiliki kapasitas antioksidan lebih besar daripada kismis hitam.

PEMBAHASAN

Dengan munculnya prevalensi pengetahuan tentang masalah kesehatan, antioksidan alami semakin populer.

Antioksidan adalah senyawa yang bertanggung jawab untuk menghambat reaksi autoksidasi dalam sistem makanan dan mengurangi stres oksidatif dalam tubuh manusia (Jamaluddin, dkk., 2018).

Karena anggur enak dan memiliki tekstur yang enak, kebanyakan orang memakannya langsung. Resveratrol dan serat, yang keduanya merupakan sumber flavonoid, ditemukan dalam buah anggur atau produk anggur. Quercetin, prosiadin, catechin, dan anthocyanin adalah contoh flavonoid. Banyak penelitian telah menunjukkan manfaat kesehatan dari resveratrol, yang dapat menurunkan risiko kanker dan memperpanjang usia muda bagi pecinta anggur meskipun harganya terjangkau oleh kalangan menengah. Sebagai antioksidan, askorbat dapat langsung bereaksi dengan superoksida radikal, hidrogen peroksida, atau radikal tokoferol untuk membentuk asam monodehidroaskorbat dan atau dehidroaskorbat NADPH atau glutathione tereduksi (GSH). Askorbat reaksi dengan superoksida secara fisiologis mirip dengan dari enzim SOD, yaitu: Reaksi dengan H₂O₂ dikatalisis oleh enzim askorbat peroksidase.

Dalam penelitian ini, homogenisasi kismis hitam dan kuning dilakukan dengan bantuan alat pengocok, menghasilkan ekstrak yang dapat dievaluasi dengan spektrofotometri. Teknik DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazil) merupakan salah satu prosedur yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Karena DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil, ia dapat digunakan sebagai reagen dalam studi pembersihan radikal bebas dan akan cukup larut bila disimpan selama bertahun-tahun di lingkungan yang kering di bawah kondisi penyimpanan yang aman dan

stabil.

Proses ini menggunakan elektron radikal bebas untuk memasang elektron, yang menghasilkan perubahan warna. Prinsip dasar metode 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) adalah ketika bahan kimia antioksidan bergabung dengan larutan DPPH, komponen antioksidan akan memberikan atom hidrogennya ke DPPH. Jika terjadi perubahan warna (dari ungu tua menjadi kuning/kuning muda), selanjutnya diukur dengan UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Nilai IC₅₀ yang merupakan konsentrasi yang menghasilkan penurunan 50% dari konsentrasi DPPH awal memungkinkan seseorang untuk menentukan besarnya aktivitas antioksidan.

Secara komparatif, salah satu manfaat menggunakan metode DPPH untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah seberapa cepat dan mudah dapat diselesaikan. Selain memenuhi kebutuhan gizi masyarakat, kedua jenis kismis ini biasa digunakan dalam kue kering, kue bolu, dan makanan ringan segar saat musim panas. Mereka benar-benar memanfaatkannya untuk menyiapkan masakan khas mereka di India dan Timur Tengah, termasuk makanan ringan, nasi biryani, dan berbagai buah kering yang dicampur dengan yogurt dan sirup.

Hubungan yang linear antara konsentrasi dan persen peredaman (aktivitas peredaman) semakin besar konsentrasi maka persen peredaman semakin besar (ada hubungan yang linear antara konsentrasi dengan persen peredaman).

Berdasarkan nilai IC₅₀ rata-rata untuk kismis kuning adalah 19,22 mg/ml dan rata-rata nilai IC₅₀ untuk kismis hitam adalah 30,21 mg/ml. Nilai aktivitas scavenging radikal bebas meningkat dengan penurunan nilai

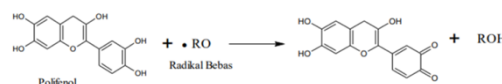
IC50. Mares dan Campbell, menegaskan bahwa warna merupakan karakteristik yang signifikan karena mempengaruhi persepsi konsumen terhadap kualitas suatu bahan makanan. Perilaku konsumen dipengaruhi oleh penampilan makanan pada saat mereka membeli atau mengkonsumsinya.

Untuk menentukan tingkat potensi aktivitas antioksidan suatu sampel, banyak variabel yang harus diperhatikan, termasuk cara penyiapan sampel dan proses pemanasan. Kebutuhan pemanasan yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada aktivitas antioksidan. Nilai yang telah diberikan menunjukkan bahwa kismis kuning memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada kismis hitam. Efektivitas antioksidan bervariasi tergantung pada makanan dan kondisi pengolahan dan penyimpanan. Antioksidan dapat kehilangan efektivitasnya selama perlakuan suhu tinggi. Antioksidan bahkan dapat hilang melalui penguapan pada suhu tinggi, dan volatil yang dihasilkan dapat mengganggu stabilitas minyak selama pemrosesan termal. Operasi pengolahan makanan membutuhkan antioksidan yang bertahan pada suhu tinggi yang dialami selama memanggang, mendinginkan atau menggoreng dan memberikan perlindungan pada produk jadi.

Molyneux menyatakan bahwa suatu molekul secara eksplisit dianggap sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC50-nya berada dalam kisaran 50 ppm, kuat pada kisaran 50 ppm, sedang pada kisaran 100 ppm, lemah pada kisaran 150 ppm, dan sangat lemah pada kisaran 200 ppm. (Jamaluddin dkk., 2018).

Muliani (2018) dalam menegaskan bahwa pengeringan dapat mengakibatkan peristiwa pencoklatan dan penghitaman. Reaksi oksidasi yang

disebabkan oleh pemanasan dan dimediasi oleh enzim polifenol oksidase atau oksidase fenol mengakibatkan konversi bahan kimia fenolik menjadi kuinon, yang kemudian dipolimerisasi menjadi warna melaniadin. Senyawa fenolik polimer tidak memiliki sifat antioksidan.



Gambar 1. Mekanisme penangkapan radiakal bebas oleh polifenol

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kismis kuning dan kismis hitam memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lemah. Nilai IC50 kismis kuning sebesar 19,22 mg/ml dan kismis hitam 30,21 mg/ml.
2. Aktivitas antioksidan Kismis kuning lebih kuat dibandingkan kismis hitam.

SARAN

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Dianjurkan untuk terus mengukur nilai gizi kismis kuning dan hitam, termasuk mineral dan vitamin yang penting untuk daya tahan tubuh setiap orang.
2. Sebaiknya menghasilkan makanan olahan yang terbuat dari buah-buahan lain yang lebih mudah diolah dengan variasi takaran yang berbeda dan banyak mengandung vitamin C, seperti kismis hijau dan merah.

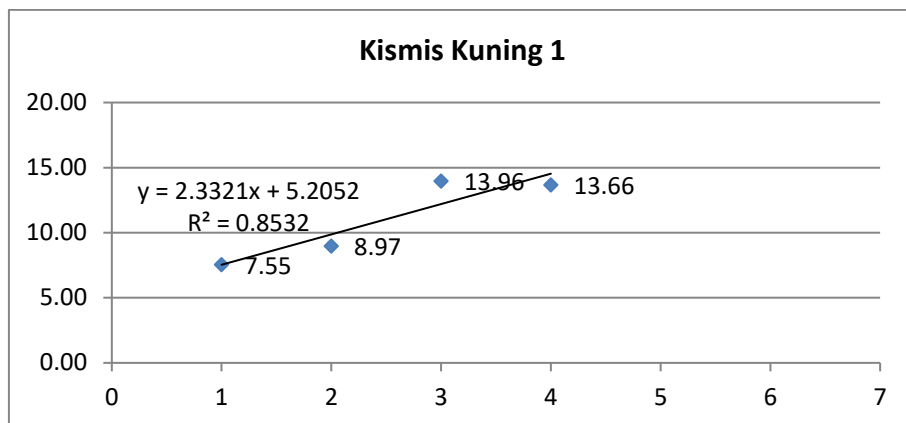
UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kepala PPSDM, Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar, Ketua Jurusan Farmasi, dan semua rekan – rekan yang telah ikut membantu hingga peneliti dapat menyelesaikan semua penelitian ini dengan tepat waktu tanpa

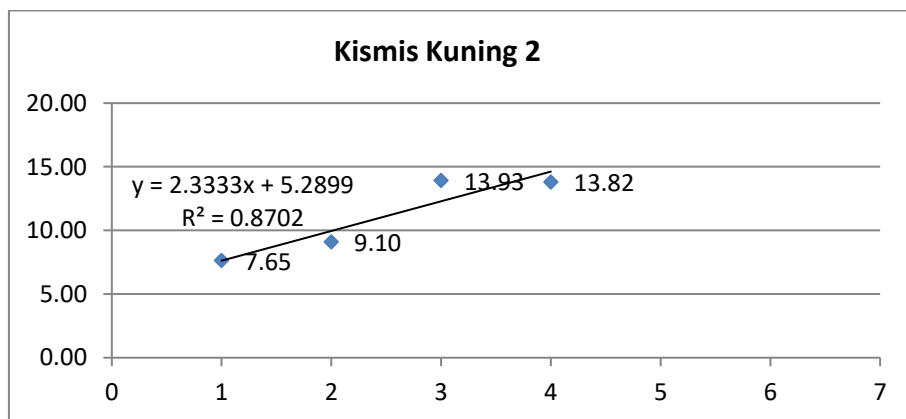
rintangan yang berarti dan alhamdulillah semua berjalan sesuai dengan yang direncanakan.

DAFTAR PUSTAKA

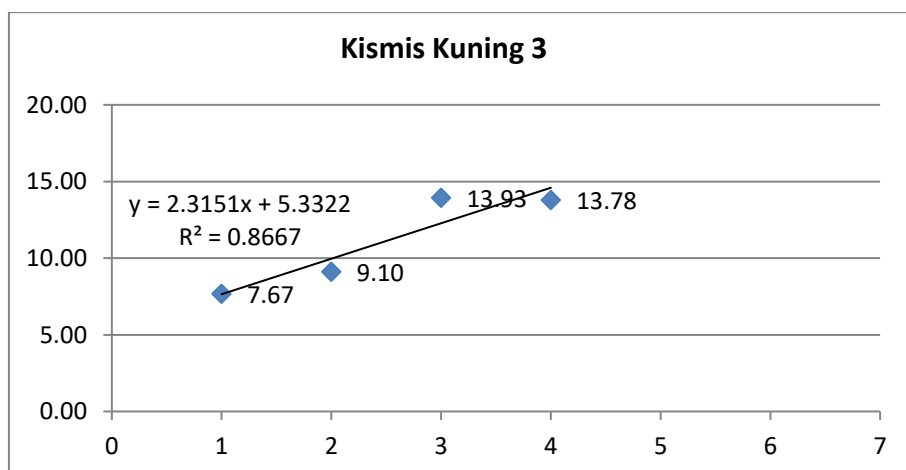
- Damayanti E. T., Kurniawati P, 2017. Perbandingan Metode Penentuan Vitamin C pada Minuman Kemasan Menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Vis dan Iodimetri, <https://diploma.chemistry.uui.ac.id/wp-content/uploads/2018/03/Prosiding-SNKP-UM-2017-Puji-Kurniawati-2.pdf>.
- Fajariani D, Gunadi A., Wahyukundari M. A., 2017. Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera L.*) Konsentrasi 100%, 50 % dan 25 % Terhadap *Streptococcus mutans*. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/download/5778/4288> <https://m.brilio.net/brilicious/kuliner-kesehatan/10-makanan-tinggi-kalori-untuk-menambah-berat-badan-anak-190314t.html>, diakses 15 Januari 2020).
- <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004> (Diakses 25 maret 2020).
- Jamaludin Al Anshori, S.Si., 2018 . Materi ajar, spektrometri serapan atom, Staf Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran.
- Listiana A., 2016. Analisis Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Anemia Gizi Besi Pada Remaja Putri di SMKN 1 Terbanggi Besar Lampung Tengah. *Jurnal Kesehatan*, VII, 455–469 (Diakses 27 maret 2020).
- Muliani S., 2018. Pengetahuan Remaja Putri Tentang Manfaat Tablet Fe Di SMK Tunas Husada Kendari, <http://repository.poltekkes-kdi.ac.id/628/1/pdf.pdf>
- Nadira Deanda Putri, Yosef Purwoko, 2018. Pengaruh pemberian kismis (*Vitis vitifera L.*) terhadap VO2 max pada mahasiswa usia muda fakultas kedokteran universitas dipenegoro. *JKD*, vol. 7, No. 2 Mei , 2018 : 875
- Putri, AV., Sri Tj., dan Ame S. 2018. “Perbedaan pH Saliva Sesudah Konsumsi Kismis Thompson Seedless Raisin” dalam *Jurnal Kedokteran Gigi Unpad*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, 30 (2) : 133 – 13



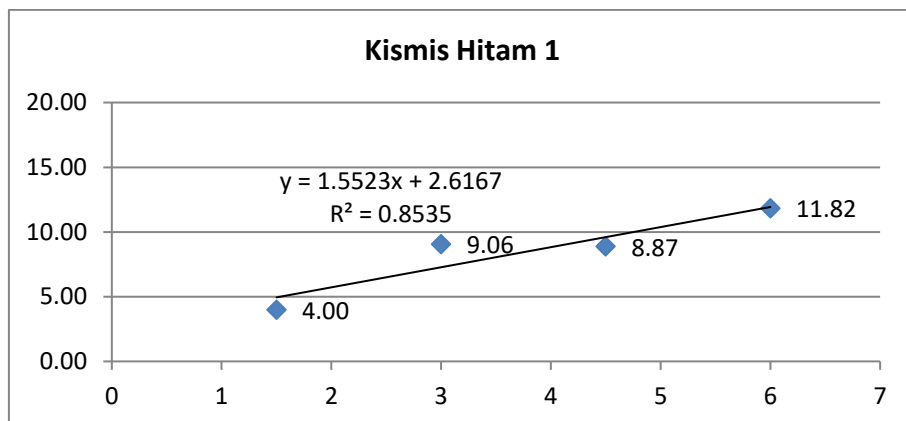
Gambar 1. Pengukuran spektrofotometri pada sampel kismis kuning dengan nilai $R^2 = 0,852$



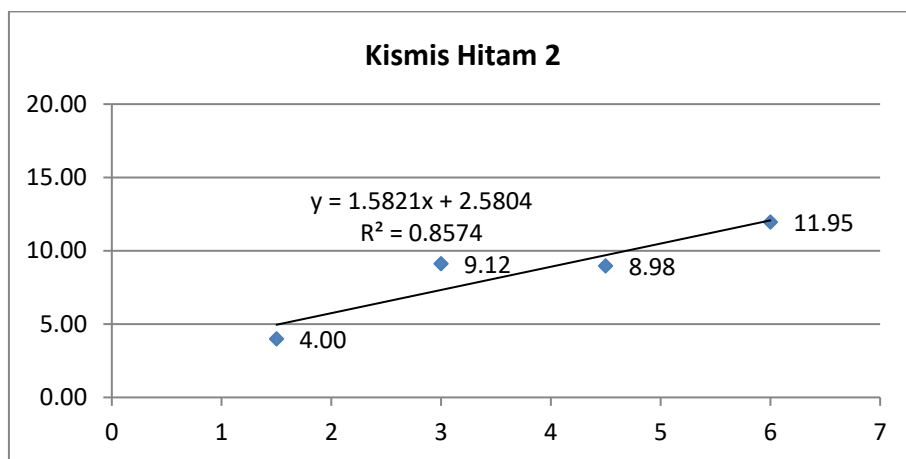
Gambar 2. Pengukuran spektrofotometri pada sampel kismis kuning dengan nilai $R^2 = 0,8702$



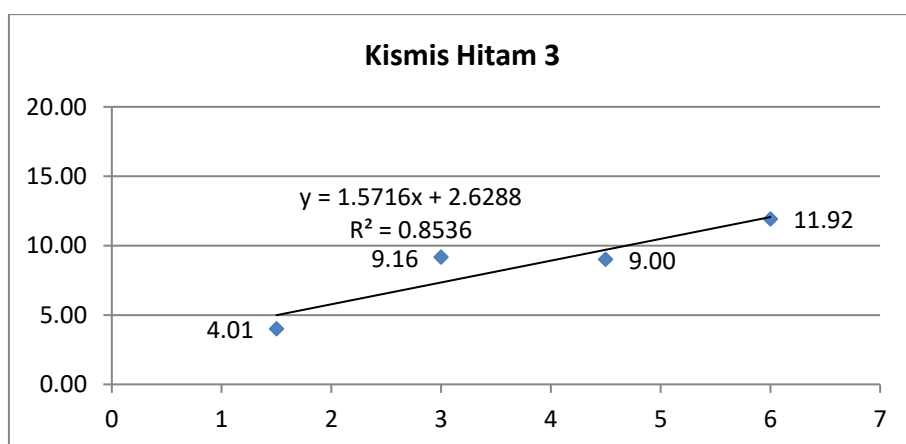
Gambar 3. Pengukuran spektrofotometri pada sampel kismis kuning dengan nilai $R^2 = 0,8667$



Gambar 4. Pengukuran spektrofotometri pada sampel kismis hitam dengan nilai $R^2 = 0,8535$



Gambar 5. Pengukuran spektrofotometri pada sampel kismis hitam dengan nilai $R^2 = 0,8574$



Gambar 6 . Grafik pengukuran spektrofotometri pada sampel kismis hitam dan nilai $R^2 = 0.8536$