

Perbandingan Aktivitas Antioksidan Alami Rutin terhadap Antioksidan *Butyl Hidroksi Anisol* (BHA) dengan Metode Peredaman 1,1-Diphenil-2-Picrylhidrazyl (DPPH)

The Comparison between Rutin Natural Antioxidant Activity and Antioxide *Butyl Hidroxy Anisol* (BHA) with 1.1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH) Description Method (DPPH)

¹Ihsan Al Amin R, ²Diar Herawati Efendi, ³Sukanta

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹ihsan.amin25@gmail.com, ²diarmunawar@gmail.com

Abstract. Synthetic antioxidants are widely used as Food Additives and have harmful side effects to the health of the body. Rutin is a natural compound that is a class of flavonoids. Flavonoids have the ability as an antioxidant. This study aims to determine the activity of Rutin as safer alternative Food Additives antioxidants. In this study, Rutin antioxidant activity was compared against the antioxidant activity of BHA. The antioxidant activity test was performed by DPPH damping method using UV-Vis spectrophotometer at 515 nm wavelength. Antioxidant activity was calculated on the value of IC_{50} and expressed in percent of inhibition, with BHA as a comparison. The results showed that at concentrations of 2, 4, 5, 6, 8, and 10 ppm, Rutin gave an average percentage of inhibitions of 36.844%; 38.123%; 39.271%; 45.472%; 50.984% and 58.202%. The average yield of IC_{50} for Rutin is 9.391 ppm and the average result of IC_{50} for BHA is 4.903 ppm. It can be concluded that Rutin can be used as a natural alternative antioxidant to replace BHA.

Keywords: Rutin, Antioxidants, BHA, Food Additives.

Abstrak. Antioksidan sintetis banyak digunakan sebagai Bahan Tambah Pangan, dan memiliki efek samping yang berbahaya bagi kesehatan tubuh. Rutin merupakan senyawa alami yang merupakan golongan flavonoid, flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas Rutin sebagai alternatif Bahan Tambah Pangan antioksidan yang lebih aman. Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan rutin dibandingkan terhadap aktivitas antioksidan BHA. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan nilai IC_{50} dan dinyatakan dalam persen inhibisi, dengan BHA sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2, 4, 5, 6, 8, dan 10 ppm, Rutin memberikan nilai rata-rata persen inhibisi sebesar 36,844%; 38,123%; 39,271%; 45,472%; 50,984% dan 58,202%. Diperoleh hasil rata-rata IC_{50} Rutin 9,391 ppm dan sedangkan hasil rata-rata IC_{50} BHA sebagai pembanding 4,903 ppm. Dapat disimpulkan bahwa Rutin dapat digunakan sebagai antioksidan alami alternatif pengganti BHA.

Kata Kunci: Rutin, Antioksidan, BHA, Bahan Tambah Pangan.

A. Pendahuluan

Pada saat ini rata-rata hampir seluruh produk makanan dan minuman yang dijual di pasaran menggunakan Bahan Tambah Pangan. Produsen menambahkan Bahan Tambah Pangan dengan latar belakang yang berbeda-beda. Menurut UU No.18 Tahun 2012 Bahan Tambah Pangan merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat dan atau bentuk pangan.

Salah satu Bahan Tambah Pangan yang banyak digunakan adalah antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsi.2007:20).

Bahan antioksidan sintetis memang diperbolehkan dan memiliki batas

maksimum penggunaannya masing-masing. Tetapi antioksidan sintetis memiliki efek samping yang berbahaya bagi kesehatan tubuh. Butil Hidroksitoluen (BHT) diketahui dapat meningkatkan terjadinya efek karsinogenik. (Umemura *et al.*, 2001). Pemberian BHA dengan dosis 500 mg/kg bb selama 28 hari pada kera, BHA terbukti menginduksi pembesaran hati dan *proliferasi reticulum* (Madhavi *et al.*, 1996). Selain itu, ada bukti yang mendukung bahwasanya BHA dan BHT dapat menyebabkan gangguan metabolisme pada manusia (Jcojac. 2008).

Rutin merupakan senyawa dari golongan flavonoid, dimana setiap gugus dari flavonoid mempunyai kemampuan yang baik sebagai antioksidan. Rutin merupakan pembersih radikal yang cukup kuat yang dapat mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas, sehingga menghasilkan zat yang stabil. Dengan dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan rutin dengan metode DPPH dengan dibandingkan aktivitasnya terhadap BHA.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas rutin sebagai alternatif Bahan Tambahan Pangan antioksidan yang lebih aman.

B. Landasan Teori

Rutin adalah senyawa polifenol yang mengandung 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$ yaitu cincin benzen yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Ketiga cincin tersebut masing-masing cincin A, B dan C (Manito, 1980).

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (electron donors). Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada radikal bebas yang mengalami kekurangan electron, sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007:20).

Radikal bebas adalah turunan oksigen lain yang berupa hidrogen peroksida (digolongkan sebagai Reactive Oksigen Spesies, ROS), bersifat racun dan merusak jaringan. Radikal bebas superoksida misalnya, berperan menjadi oksidan (penyebab oksidan) langsung, sehingga menghasilkan radikal yang sangat berbahaya seperti hidroksil radikal (Sukma. 2010:1).

BHA mulai digunakan sejak tahun 1947 sebagai bahan tambahan dalam produk makanan yang mengandung minyak untuk mencegah makanan menjadi basi. Bagian aktif dari BHA yang bertindak sebagai antioksidan adalah cincin aromatis terkonjugasinya yang dapat bertindak sebagai stabilisator untuk radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas selanjutnya dapat dihindari (Madhavi *et al.*, 1996). BHA memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan vitamin E (Han SS *et al.*, 2004:389-391).

National Institute of Health Amerika Serikat melaporkan bahwa penggunaan BHA dalam makanan dapat menjadi senyawa karsinogenik berdasarkan efek karsinogeniknya pada hewan coba. Pada eksperimen dengan menggunakan tikus pemberian BHA dosis tinggi dalam makanan telah menimbulkan papiloma dan squamous cell carcinoma. Pada mencit, efek yang buruk ini tidak terjadi, bahkan efek yang timbul adalah efek protektif terhadap kanker dari senyawa kimia. (Fitri Nyoman, 2013:43-47).

Untuk menentukan aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode perendaman radikal bebas DPPH (1,1 diphenil-2-picrylhidrazyl). Dengan metode ini dapat memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan pengujian radikal bebas yaitu DPPH. DPPH merupakan radikal bebas ketika elektronnya menjadi

berpasangan oleh keberadaan penangkapan radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stoikiometri sesuai jumlah elektron yang diambil.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Uji aktivitas antioksidan pada sampel rutin dilakukan dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat, serta memerlukan sedikit sampel. Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu (menjadi kuning pucat) (Molyneux, 2004).

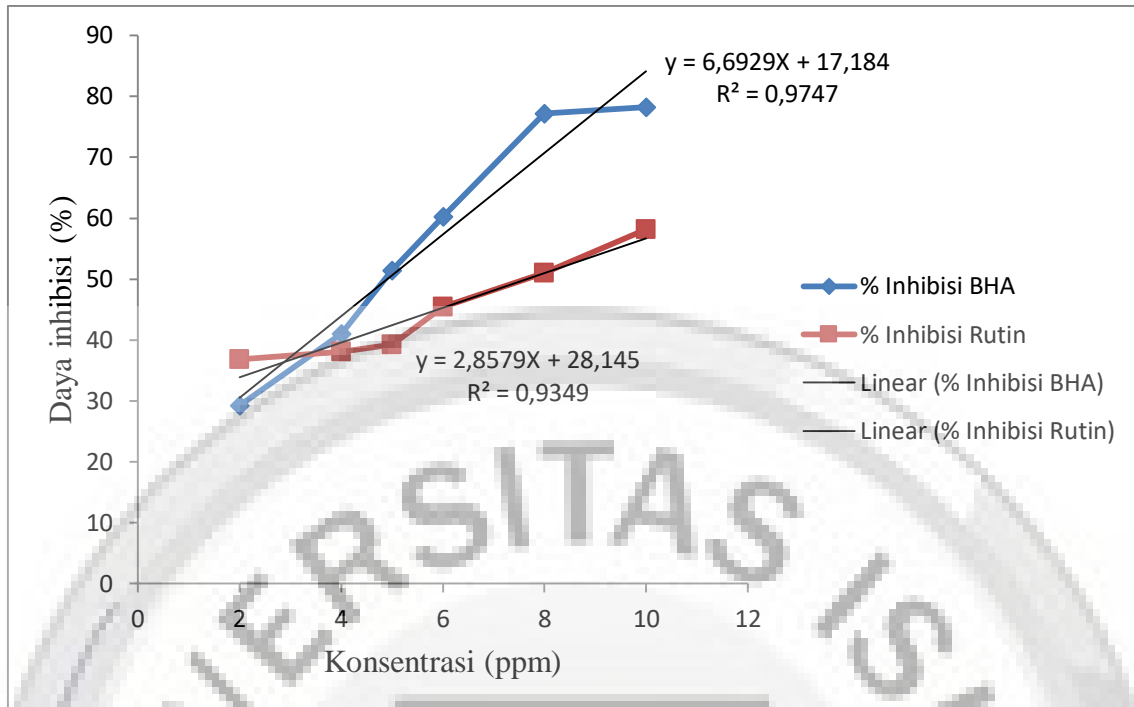
Hasil optimasi panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa serapan maksimum DPPH berada pada panjang gelombang 515,0 nm dengan absorbansi 1,371. Pada hasil pengukuran absorbansi BHA terjadinya penurunan nilai absorbansi dimana semakin besar konsentrasi maka absorbansi akan semakin kecil atau semakin turun, karena semakin besar konsentrasi semakin besar juga elektron yang diberikan kepada DPPH sehingga akan menyebabkan penurunan nilai absorbansinya karena telah terjadi penangkapan radikal DPPH oleh sampel yang mengakibatkan ikatan rangkap pada DPPH berkurang sehingga terjadinya penurunan absorbansi yang berarti meningkatnya persen inhibisi. Digunakan BHA sebagai standar karena pengujian dilakukan untuk mencari alternatif pengganti BHA yang lebih aman oleh sebab itu sampel yang diujikan akan dibandingkan terhadap aktivitas BHA.

Tabel 1. Perlakuan dan Hasil Uji Antioksidan

Konsentrasi	Rutin						Rata-rata % inhibisi
	absorbansi	% inhibisi	absorbansi	% inhibisi	absorbansi	% inhibisi	
2 ppm	0,663	34,744	0,631	37,894	0,631	37,894	36,844
4 ppm	0,625	38,484	0,630	37,992	0,631	37,894	38,123
5 ppm	0,639	37,106	0,606	40,354	0,606	40,354	39,271
6 ppm	0,487	52,067	0,588	42,126	0,587	42,224	45,472
8 ppm	0,408	59,842	0,543	46,555	0,543	46,555	50,984
10 ppm	0,219	78,445	0,528	48,032	0,527	48,130	58,202

Pada hasil pengukuran absorbansi rutin juga terjadi penurunan nilai absorbansi pada konsentrasi 2,4,5,6,8,dan 10 (ppm). Rutin memiliki senyawa fenol di dalam strukturnya yang memiliki peranan besar dalam aktivitas antioksidan dengan mereduksi DPPH. Besarnya konsentrasi antioksidan yang ditambahkan, dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi proksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji (Simanjuntak K, 2012: 137).

Berdasarkan dari data hasil % inhibisi di atas dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka hasil absorbansi semakin kecil dan nilai % inhibisi yang didapatkan semakin besar sesuai dengan besarnya penurunan absorbansi. Hasil % inhibisi rutin yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan hasil % inhibisi BHA sebagai pembandingan untuk mengetahui bagaimana hubungan antar % inhibisi rutin terhadap % inhibisi BHA.



Gambar 1. Kurva Hubungan Rata-Rata Daya Inhibisi Rutin terhadap BHA

Dilihat dari kurva hubungan daya inhibisi dengan konsentrasi yang diperoleh dari rata-rata setiap konsentrasi pengujian. Daya % inhibisi BHA dan rutin mengalami kenaikan dimana semakin besar konsentrasi, % inhibisinya juga semakin besar. Daya % inhibisi BHA lebih besar dibandingkan terhadap daya % inhibisi rutin dapat diketahui dari kurva hubungan rata-rata daya inhibisi rutin terhadap BHA. Yang menandakan bahwa aktivitas peredaman BHA terhadap radikal DPPH lebih besar dibandingkan aktivitas peredaman rutin terhadap radikal DPPH. Namun pada pengujian terdapat hasil yang fluktuatif, dimana hasil yang diperoleh terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Faktor kesalahan ini dapat disebabkan oleh berbagai hal, antara lain bahan yang digunakan, peralatan, analisis, kondisi pengukuran, pengeringan bahan, pengecilan ukuran bahan, dan proses ekstraksi.

Tabel 2. IC₅₀ BHA dan Rutin

Replika	IC ₅₀ sampel (ppm)	
	BHA	Rutin
1	4,903	5,813
2	4,903	11,214
3	4,903	11,147
Rata-rata	4,903	9,391

Seperti terlihat dari pada tabel V.2 aktivitas senyawa pembanding yaitu BHA memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4,903 ppm, dan rutin yang merupakan sampel uji memiliki nilai IC₅₀ sebesar 9,391. Menurut Molyneux, P (2004), suatu senyawa memiliki

antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah IC_{50} berkisar antara 150-200 ppm. kekuatan antioksidan dapat digolongkan menjadi 4, yaitu sangat kuat, kuat, sedang, dan lemah. BHA yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm bertindak sebagai antioksidan sangat kuat. Rutin yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm juga menandakan bahwa rutin bertindak sebagai antioksidan sangat kuat. Nilai IC_{50} BHA lebih kecil dibandingkan nilai IC_{50} rutin sehingga menandakan bahwa aktivitas antioksidan BHA lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan rutin dalam menghambat radikal DPPH.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, nilai IC_{50} sampel uji rutin yaitu 9,391 dan nilai IC_{50} BHA sebagai pembanding yaitu 4,903 serta sifat fisikokimianya. Dapat disimpulkan bahwa rutin dan BHA termasuk ke dalam antioksidan kuat. Dan juga dapat disimpulkan bahwa rutin bisa menjadi alternatif pengganti BHA karena sama-sama termasuk sebagai antioksidan sangat kuat.

Daftar Pustaka

- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2013). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 38 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Antioksidan*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Fitri Nyoman. (2013). *Butylated Hydroxyanisole Sebagai Bahan Aditif Antioksidan Pada Makanan Dilihat dari Perspektif Kesehatan*. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI.
- Han SS, Lo SC, Choi YW, Kim JH, Beck SH. *Antioxidant activity of crude extract and pure compounds of *Acer ginnala max.** Bull Korean : Chem Soc. 25(3).
- Jcojac. (2008). *Pengaruh Bahan Makanan Awet Terhadap Kanker*. <http://www.scribd.com>. Diakses tanggal 29 Desember 2016.
- Manito, P. (1980). *Biosintesis Produk Alami*, Terjemahan Koensoemardiyah, IKIP Semarang Press. Semarang.
- Molyneux, P. (2004). *The Use of The Stable Free Radical DPPH for Estimating Antioxydant Activity*, Songklanakar J. Sci, Technol.
- Simanjuntak Kristina. (2012). *Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan*. Program Studi Kedokteran Umum, FK UPN Veteran. Jakarta.
- Sukma Merlyta S. (2010). *Kajian Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antikolesterol pada Angkak dengan Variasi Varietas Beras Unggulan (IR 64) dan Beras Lokal (Rojo lele dan Merah Putih)* [SKRIPSI]. Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta
- Umamura, T., Kodama, Y., Hioki, K., Inoue, T., Nomura, T., Kurokawa, T., (2001). *Buthylhydroxytoluene (BHT) Increases Susceptibility of Transgenic *rash2* Mice to Lung Carcinogenesis*, J Cancer Res Clin, Oncol.
- Winarsri H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.