

Uji Aktivitas Antioksidan Partisi N-Heksan, Metanol, Dan Ekstrak Dengan Metode Frap

Luthfiana Munandika N.¹⁾, S.Slamet²⁾, Nurul Aktifah³⁾

¹ Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UMPP

² Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UMPP

³ Program Studi Sarjana Fisioterapi Fakultas Ilmu Kesehatan UMPP

✉ e-mail: slamet93ffua@gmail.com

Abstract

Antioxidants are compounds that act as antidotes to free radicals and prevent damage caused by free radical compounds. Cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) are a natural source of antioxidants because they contain beta-carotene and flavonoids. The purpose of this study was to determine the differences in the antioxidant activity of n-hexane, methanol and ethanol extracts of cucumber seeds by the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) method. Extracts and partitions tested for phytochemical screening showed positive containing phenols, flavonoids, tannins, alkaloids, steroids and terpenoids. In the KLT test using the silica gel F_{254} stationary phase and the chloroform : ethyl acetate (6:4) mobile phase obtained positive results containing phenol and flavonoids. Then quantitative testing of antioxidant activity using a UV-Vis Spectrophotometer at λ_{maks} 597,5 nm with vitamin C as a positive control. Spectrophotometric measurements show that the highest activity is ethanol extract by $146,35 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, methanol partition by $60,95 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ and n-hexane partition by $42,03 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}/\text{g}$. Conclusion: The results were analyzed statistically using one way ANOVA, followed by the Tukey test showing a value of $\alpha < 0,05$ there are differences in antioxidant activity of the three samples.

Keywords : Antioxidant1; Cucumber seeds2; Partition3; FRAP4.

Uji Aktivitas Antioksidan Partisi N-Heksan, Metanol, Dan Ekstrak Dengan Metode Frap

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas sehingga mencegah terjadinya kerusakan jaringan oleh senyawa radikal bebas. Biji mentimun (*Cucumis sativus* L.) merupakan sumber antioksidan alami karena mengandung betakaroten dan flavonoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan partisi n-heksan, metanol dan ekstrak etanol biji mentimun dengan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode uji yang digunakan Ekstrak dan partisi diuji skrining fitokimia menunjukkan positif mengandung fenol, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan terpenoid. Pada uji KLT menggunakan fase diam silika gel F_{254} dan fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) diperoleh hasil positif mengandung fenol dan flavonoid. Kemudian diuji kuantitatif aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} 597,5 nm dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil pengukuran secara spektrofotometri menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi yaitu ekstrak sebesar $146,35 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, partisi metanol sebesar $60,95 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ dan partisi n-heksan sebesar $42,03 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}/\text{g}$. Kesimpulan :Hasil dianalisis statistik menggunakan *one way* ANOVA, dilanjut uji *Tukey* menunjukkan nilai $\alpha < 0,05$ yaitu terdapat perbedaan aktivitas antioksidan dari ketiga sampel.

Kata kunci

: Antioksidan, Biji mentimun, partisi, FRAP

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki sumber daya alam melimpah, salah satunya adalah keanekaragaman hayati. Ribuan spesies tanaman yang tumbuh di Indonesia memiliki potensi sebagai sumber obat. Tanaman tersebut secara empiris banyak digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit. Penyakit yang sering diderita oleh masyarakat Indonesia yaitu penyakit degeneratif diantaranya kanker, jantung, diabetes, hipertensi, gagal ginjal, dan stroke. Salah satu penyebab penyakit degeneratif adalah radikalradikal bebas [1].

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan atau bebas. Radikal bebas dianggap berbahaya karena bersifat sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada sel-sel tubuh. Aktivitas radikal bebas dapat dihambat atau dihancurkan oleh senyawa yaitu antioksidan [2]. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas atau dengan menyumbangkan elektronnya.

Tubuh manusia secara alami dapat menghasilkan antioksidan yang disebut sebagai antioksidan endogen yang berasal dari metabolisme tubuh, seperti enzim *Superoxide Dismutase (SOD)*, katalase dan *Glutathione*. Namun, apabila radikal bebas dalam jumlah berlebihan maka antioksidan endogen tidak mampu menangkal radikal bebas dan aktivitasnya akan menurun seiring dengan bertambahnya usia, sehingga antioksidan eksogen sangat diperlukan oleh tubuh [2]

Antioksidan eksogen terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintesis. Penggunaan antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) dalam jangka waktu lama dan dosis berlebihan dapat merugikan kesehatan karena bersifat karsinogen [3]. Hal ini yang mendorong berbagai penelitian untuk mendapatkan antioksidan yang lebih aman dari sumber bahan alami seperti buah, sayur, dan biji-bijian yang banyak mengandung vitamin C, E, A, karoten, asam fenol dan flavonoid.

Sumber antioksidan alami salah satunya adalah biji mentimun (*Cucumis sativus* L.). Buah dan bijinya sering dikonsumsi langsung dalam bentuk segar, asinan, acar, sebagai bahan kosmetika dan obat-obatan. Mentimun berkhasiat sebagai peluruh kencing, antihipertensi, obat sariawan, dan jerawat. Biji mentimun mengandung betakaroten, flavonoid, alkaloid dan steroid/terpenoid [4]. Kandungan betakaroten dan flavonoid pada biji mentimun dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas.

Pengujian aktivitas antioksidan pada biji mentimun ini dilakukan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode FRAP merupakan salah satu metode uji aktivitas antioksidan dengan mekanisme menginaktivasi radikal bebas dengan mentransfer elektron [4]. Metode ini dipilih karena cepat, reagen yang digunakan cukup sederhana, sampel yang digunakan sedikit serta memiliki mekanisme kerja seperti didalam tubuh.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan partisi n-heksan, metanol dan ekstrak etanol dari biji mentimun (*Cucumis sativus* L.) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Dengan diketahui kandungan aktivitas antioksidan pada ekstrak, partisi metanol, partisi n-heksana dan diketahui yang paling tinggi aktivitas antioksidan bisa digunakan sebagai sumber antioksidan

2. Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah neraca analitik (OHAUS), kertas saring, batang pengaduk, beker glass, gelas ukur, ayakan ukuran 40 mesh, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, labu ukur, corong pisah, corong kaca, pipet tetes, plat tetes, pipet ukur, mikropipet, *rotary evaporator* (HEIDOLPH), pH meter, cawan penguap, blender, wadah maserasi,

chamber, oven, inkubator, *moisture analyzer* (MB25) dan spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU).

Bahan yang digunakan adalah biji mentimun, etanol 96%, metanol *p.a*, n-heksana *p.a*, DMSO, aquades, serbuk TPTZ (*2,4,6-tripryridil-S-triazine*), ferriklorida heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), ferrisulfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), CH_3COOH pekat, natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), serbuk Mg, asam askorbat, HCl pekat, kloroform, Na_2CO_3 , AlCl_3 , FeCl_3 , asam galat, kuersetin, pereaksi meyer, pereaksi dragendorff, dan pereaksi Folin-Ciocalteu.

2.2. Prosedur Kerja.

- Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel penelitian diperoleh dari Desa Sijeruk, Kecamatan Sragi, Kabupaten Pekalongan. Bahan yang digunakan adalah bagian biji yang diambil dari buah mentimun yang telah tua (± 70 hari).

- Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ahmad Dahlan (UAD).

- Persiapan Sampel

Biji mentimun dipisahkan dari daging buah dan lendirnya, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan lendir, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dan ditutup menggunakan kain hitam. Biji mentimun yang kering dihaluskan dengan blender dan disaring dengan ayakan mesh 40 terbentuk serbuk simplisia.

- Ekstraksi

Ekstraksi serbuk biji mentimun menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 5 hari. Ditimbang sebanyak 500 gram serbuk biji mentimun lalu ditambahkan pelarut 2,5 L dengan perbandingan (1:5) hingga serbuk biji mentimun terendam seluruhnya. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari terlindung dari cahaya dan dilakukan pengadukkan setiap hari selama 60 menit. Larutan disaring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Residu diremaserasi kembali dengan etanol 96% sebanyak 1 L selama 3 hari. Filtrat yang didapat digabungkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga menghasilkan ekstrak kental biji mentimun.

- Pembuatan partisi

Sebanyak 30 g ekstrak kental biji mentimun dipartisi dengan pelarut n-heksan *p.a* sebanyak 100 ml dan metanol *p.a* sebanyak 100 ml, kemudian dikocok dengan kuat lalu didiamkan selama 24 jam hingga terpisah menjadi 2 lapisan (fase). Pisahkan antara lapisan n-heksan dan metanol, lalu masing-masing hasil partisi n-heksan dan metanol diuapkan dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak pekat (Ulfah, 2016).

- Skrining Fitokimia [5]

Uji skrining fitokimia meliputi :

- Uji Fenol

Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambah dengan 1 ml metanol. Kemudian ditambahkan 5 tetes larutan folin ciocalteu. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru kehitaman atau hijau kehitaman.

- Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan kedalam 2-3 ml metanol dan dipanaskan diatas penangas air, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, lalu ditambahkan 2 ml HCl pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

- Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambahkan 2 mL asam klorida pekat dan disaring. Diambil 2 tabung reaksi, lalu masing-masing dimasukkan 0,5 ml filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer dan Dragendorff. Positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada penambahan pereaksi Meyer dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff.

- Uji Saponin

Sebanyak 0,1g ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah 10 ml air panas, dinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin kemudian ditetesi dengan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang.

- Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,1g ekstrak ditambahkan dengan 2 ml kloroform, kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Hasil uji positif untuk steroid bila terbentuk warna hijau. Hasil positif untuk terpenoid bila terbentuk warna merah.

- Uji Tannin

Sebanyak 0,1g ekstrak dilarutkan dalam 5 ml air panas. Kemudian ditetesi 2-3 tetes larutan FeCl_3 5%, jika terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin.

- Penentuan Kandungan Total Fenol

Kandungan total fenol pada sampel ekstrak dan partisi biji mentimun ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dari Marjoni dkk. (2015). Sebanyak 0,1 ml ekstrak 1000 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 ml Reagen Folin-Ciocalteu, dan dikocok sampai homogen serta didiamkan selama 8 menit. Ditambahkan 1,5 ml larutan Na_2CO_3 10% dan diencerkan dengan aquades hingga 10 ml lalu dikocok homogen, dan selanjutnya didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Absorbansi sampel dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 777 nm. Standar yang digunakan adalah asam galat (25, 50, 100, 150 dan 200 $\mu\text{g/ml}$). Hasil pembacaan absorbansi dimasukkan kedalam persamaan regresi linier kurva standar asam galat, yaitu $y = 0,0049x + 0,4559$. (y = absorbansi; x = total fenol (mg GAE/g ekstrak), kadar fenol yang diperoleh dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat (GAE)/g sampel.).

- Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen aluminium klorida [6]. Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak dengan konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$, ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10%, ditambahkan 0,1 ml natrium asetat 1M, dan aquades hingga 10 ml. Inkubasi pada suhu 25° C selama 30 menit, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 437 nm. Standar yang digunakan adalah quersetin (10, 20, 30, 40 dan 50 $\mu\text{g/ml}$). Hasil pembacaan absorbansi dimasukkan kedalam persamaan regresi linier kurva standar quersetin, yaitu $y = 0,0076x + 0,0602$. Kadar flavonoid yang diperoleh dinyatakan sebagai mg ekuivalen quersetin (QE)/g sampel.

- Penentuan Aktivitas Antioksidan FRAP

Penentuan aktivitas ini meliputi :

- Pembuatan larutan Buffer Asetat [7]

Buffer asetat dengan pH 3,6 dibuat dari 0,155 g natrium asetat yang ditambahkan dengan 0,8 ml asam asetat pekat dan dilarutkan dengan aquades hingga tepat 50 ml dalam labu takar.

- Larutan TPTZ (2,4,6-tripiryridil-s-triazine)

Sebanyak 30 mg TPTZ dilarutkan dalam 40 mmol/L HCl hingga tepat 10 ml. Larutan 40 mmol/L HCl dibuat dengan melarutkan 0,1656 ml HCl pekat dalam 50 ml aquades.

- Larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Sebanyak 0,27 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan aquades dalam labu takar hingga tepat 50 ml.

- Reagen FRAP

Reagen FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 25 ml buffer asetat, 2,5 ml larutan TPTZ dan 2,5 ml larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, lalu ditambahkan aquades hingga tepat 100 ml dalam labu takar.

- Larutan Standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dibuat dengan melarutkan 10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 10 ml DMSO pada labu ukur hingga diperoleh konsentrasi sebesar 1000 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya diambil sebanyak 0,25 ml, 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml dan 2 ml, lalu masukkan dalam labu ukur 10 ml ditambahkan dengan DMSO hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi berturut-turut sebesar 25, 50, 100, 150 dan 200 $\mu\text{g/ml}$. Dari masing-masing konsentrasi tersebut diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan dengan reagen FRAP sebanyak 3 ml dan diencerkan dengan 1 ml DMSO. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya masing-masing konsentrasi dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum.

- Penentuan Antioksidan Total

Penentuan uji ini meliputi :

- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi yang paling tinggi (1000 $\mu\text{g/ml}$). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan reagen FRAP sebanyak 3 ml, lalu dibaca pada rentang panjang gelombang 588-610 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis [8]

- Penentuan Absorbansi Sampel

Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak partisi n-heksan, metanol, dan ekstrak biji mentimun (*Cucumis sativus* L.), serta pembanding vitamin C. Masing-masing dilarutkan dengan DMSO dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 1000 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya diambil sebanyak 0,25 ml, 0,5 ml, 0,75 ml dan 1 ml, lalu masukkan dalam labu ukur 10 ml diencerkan dengan DMSO hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi berturut-turut sebesar 25, 50, 75 dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Dari masing-masing konsentrasi tersebut diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan reagen FRAP sebanyak 3 ml dan diencerkan dengan 1 ml DMSO. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya masing-masing konsentrasi dibaca absorbansinya pada λ_{maks} 597 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

- Analisis data

Data dari uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak dan partisi biji mentimun dianalisis dengan menggunakan analisis variasi *One way* ANOVA. Uji *one way*

ANOVA digunakan untuk menguji perbedaan mean dari ketiga sampel dengan tingkat kepercayaan 95%.

3. Hasil dan Pembahasan

Tanaman mentimun (*Cucumis sativus* L.) yang digunakan pada penelitian dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ahmad Dahlan (UAD). Determinasi bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan berdasarkan taksonominya untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Simplisia biji mentimun (*Cucumis sativus* L.) diekstraksi dengan metode maserasi. Pemilihan metode ekstraksi dengan maserasi karena proses penyariannya yang sederhana, peralatan yang digunakan sederhana dan tanpa menggunakan pemanasan sehingga tidak merusak kandungan senyawa aktif yang bersifat termolabil pada simplisia. Pelarut etanol 96% dipilih karena merupakan pelarut universal dengan indeks polaritas 5,2 sehingga berbagai senyawa baik polar maupun nonpolar seperti senyawa fenolik, alkaloid, saponin, dan steroid/terpenoid yang terkandung dalam sampel dapat tertarik kedalam pelarut.

Rendemen adalah perbandingan antara jumlah ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal yang digunakan untuk ekstraksi. Rendemen ekstrak menunjukkan komponen kimia yang terkandung dalam simplisia biji mentimun yang tersari oleh cairan penyari atau pelarut. [9] Hal ini menyatakan bahwa rendemen semakin tinggi menunjukkan ekstrak yang diperoleh semakin banyak. Rendemen hasil ekstrak, partisi metanol dan partisi n-heksan bisa dilihat pada [tabel 1](#).

Tabel 1. Hasil Rendemen Simplisia, Ekstrak, dan Partisi Biji Mentimun.

Sampel	Rendemen (%)
Simplisia	250
Ekstrak	7,51
Partisi n-Heksan	11,1
Partisi Metanol	21,2

Pelarut ekstrak yaitu etanol merupakan pelarut universal, dimana melarutkan senyawa yang bersifat polar dan non polar. Senyawa yang didapat pada ekstrak etanol kemudian dilakukan pemisahan dengan pelarut metanol dan n-heksana. Hal ini dimaksudkan untuk memisahkan senyawa yang didapat berdasarkan kepolaran. Metanol melarutkan senyawa yang bersifat polar dan n-heksan melarutkan senyawa yang bersifat non polar. [11]

Skrining merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa metabolit sekunder dalam suatu tanaman. Skrining fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak dari tumbuhan berdasarkan golongannya [10] Hasil uji skrining fitokimia ekstrak, partisi n-heksan dan partisi metanol Biji Mentimun menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif yaitu fenol, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin dan alkaloid (lihat [Tabel 2](#)).

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol, partisi n-heksan dan partisi metanol biji mentimun

Senyawa metabolit sekunder	Ekstrak	Partisi n-Heksan	Partisi metanol
Fenol	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Alkaloid			
Meyer	+	-	+
Dragendorff	+	-	+
Saponin	-	-	-
Steroid	+	+	-
Terpenoid	+	-	+
Tanin	+	+	+

Pada penelitian ini dilakukan uji kuantitatif total fenol dan total flavonoid. Pemeriksaan kandungan senyawa fenol dan flavonoid menjadi salah satu dasar dalam pengujian aktivitas antioksidan, karena diketahui bahwa senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung gugus OH yang terikat pada cincin aromatik yang dapat menangkal radikal bebas sehingga lebih stabil [5]. Hasil pengukuran total fenol biji mentimun dapat dilihat di [tabel 3](#).

Tabel 3. Kandungan total fenol biji mentimun

Sampel	Total fenol (mg GAE/g ekstrak)
Ekstrak	33,22 ± 0,05
Partisi n-Heksan	5,74 ± 0,09
Partisi metanol	20,48 ± 0,01

Hasil dari pengukuran total fenol dapat diketahui bahwa sampel yang mempunyai kandungan total fenol tertinggi adalah ekstrak biji mentimun sebesar 33,22 ± 0,05 mg GAE/g ekstrak. Sedangkan pada ekstrak partisi menunjukkan total fenol partisi metanol lebih besar dari total fenol partisi n-Heksan, hal ini karena senyawa fenolik pada tumbuhan umumnya berikatan dengan gula membentuk glikosida yang bersifat lebih polar sehingga mudah terlarut dalam pelarut polar.

Tabel 4. Nilai total flavonoid biji mentimun

Sampel	Total flavonoid (mg QE/g ekstrak)
Ekstrak	25,53 ± 0,03
Partisi n-Heksan	8,33 ± 0,06
Partisi metanol	12,21 ± 0,06

Nilai total flavonoid dalam sampel dinyatakan dalam ekuivalen quersetin (QE), yaitu jumlah kesetaraan miligram quersetin dalam 1 gram sampel. Hasil pengukuran nilai total flavonoid seperti yang terdapat pada tabel 4. dapat diketahui bahwa sampel yang mempunyai kandungan total flavonoid tertinggi adalah ekstrak biji mentimun sebesar 25,53 ± 0,03 mg QE/g ekstrak. Sedangkan pada ekstrak partisi menunjukkan nilai total flavonoid partisi metanol lebih besar dari total flavonoid partisi n-Heksan. Nilai total flavonoid pada ekstrak lebih tinggi dari partisi disebabkan karena

kandungan senyawa kimia dalam ekstrak masih kompleks karena belum dilakukan pemisahan zat aktif sedangkan pada ekstrak partisi metanol lebih tinggi daripada partisi n-heksan, hal ini disebabkan karena senyawa flavonoid umumnya ditemukan pada tumbuhan dalam bentuk berikatan dengan gula membentuk glikosida sehingga mudah larut dalam pelarut polar.

Pada penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak, partisi n-heksan dan partisi metanol biji mentimun menggunakan metode FRAP. Penggunaan metode ini karena memiliki kelebihan yaitu memiliki mekanisme kerja antioksidan seperti di dalam tubuh. Prinsip dari metode FRAP ini yaitu mengukur kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} -TPTZ yang ditandai dengan terbentuknya warna biru intens oleh antioksidan pada suasana asam[8].

Dalam penentuan total aktivitas antioksidan berupa absorbansi. Absorbansi tersebut didapat pada saat pengukuran pada panjang gelombang maksimum larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yaitu 597,5 nm. Persamaan kurva baku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang diperoleh yaitu $y = 0,0037x + 0,0925$, dengan y adalah absorbansi dan x adalah kapasitas antioksidan

Hasil pengujian aktivitas antioksidan FRAP dari ketiga sampel ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak biji mentimun memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi sebesar $146,35 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ ekstrak pada konsentrasi $100\mu\text{g}/\text{ml}$, diikuti oleh partisi metanol biji mentimun $60,95 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ partisi dan yang memiliki aktivitas antioksidan terendah yaitu partisi n-heksan biji mentimun sebesar $42,03 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}/\text{g}$ ekstrak. Namun aktivitas antioksidan pada ekstrak biji mentimun masih lebih rendah bila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pembanding vitamin C. Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan FRAP menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel ekstrak dan partisi biji mentimun maka semakin besar pula kompleks Fe^{2+} yang terbentuk, hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel.

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan vitamin C (pembanding), ekstrak, partisi n-heksan dan partisi metanol biji mentimun dengan metode FRAP

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Aktivitas antioksidan ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ sampel)			
	Vitamin C	Ekstrak	Partisi n-Heksan	Partisi metanol
25	$96,20 \pm 0,15$	$67,61 \pm 0,94$	$14,73 \pm 0,27$	$22,39 \pm 0,41$
50	$132,75 \pm 0,56$	$97,52 \pm 0,56$	$23,11 \pm 0,54$	$35,54 \pm 0,97$
75	$176,80 \pm 0,41$	$131,40 \pm 1,36$	$36,62 \pm 0,27$	$56,62 \pm 0,27$
100	$202,30 \pm 0,27$	$146,35 \pm 0,27$	$42,03 \pm 0,27$	$60,95 \pm 0,27$

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol yang tinggi dibandingkan dengan partisi metanol dan partisi n-heksana dikarenakan konsentrasi pada ekstrak belum dipisahkan seperti pada partisi metanol maupun n-heksana sehingga dimungkinkan terjadi kerja yang saling sinergis diantara senyawa yang ada di ekstrak. Bila sudah dipisahkan senyawa akan bekerja sendiri-sendiri seperti yang ada pada partisi metanol maupun partisi n-heksana.

Aktivitas antioksidan yang ada pada ekstrak maupun pada partisi disebabkan karena flavanoid pada ketiganya. Hal itu karena pada uji skrining menunjukan adanya flavanoid. Kemungkinan lain penyebab aktifitas antioksidan pada ketiganya, ekstrak, partisi metanol dan partisi n-heksana adalah senyawa fenol dan terfenoid.

Analisis statistik pada sampel ekstrak, partisi n-heksan dan partisi metanol biji mentimun (*Cucumis sativus* L.) dilakukan dengan metode *one way* ANOVA dengan

tingkat signifikansi 0,05 (5%). Hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ yaitu sebesar 0,000 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikansi antara sampel ekstrak, partisi n-heksan dan partisi metanol dari biji mentimun.

4. KESIMPULAN

Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak, partisi n-heksan dan partisi metanol biji mentimun (*Cucumis sativus* L.) menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan yang paling tinggi terdapat pada ekstrak biji mentimun sebesar $146,35 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ ekstrak, partisi metanol sebesar $60,95 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ partisi dan yang terendah yaitu partisi n-heksan sebesar $42,03 \pm 0,27 \mu\text{mol Fe}/\text{g}$ partisi.

Referensi

- [1] O. S. Jessica, "Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux," *J. Ilm. Mhs. Univ. Surabaya*, vol. 2 no 1, no. 1, pp. 1–10, 2013.
- [2] S. P. Mahantesh, A. K. Gangawane, and C. S. Patil, "Free Radicals , Antioxidants , Diseases and Phytomedicines in Human Health : Future Perspects," *World Res. J. Med. Aromat. Plants*, vol. 1, no. 1, pp. 6–10, 2012.
- [3] H. Matheos, M. Revolta, J. Runtuwene, and S. Sudewi, "AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN KAYU BULAN (*Pisonia alba*)," *Pharmacon*, vol. 3, no. 3, pp. 235–246, 2014.
- [4] A. Darmawati, "Kajian Antioksidan Ekstrak Daun Lima Spesies Dari Famili Cucurbitaceae Dengan Metode FRAP dan DPPH," vol. 20712033, 2014.
- [5] E. Hanani, *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC, 2015.
- [6] Salmia., *Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (Spondias dulcis) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Makasar, 2016.
- [7] W. Selawa *et al.*, "KANDUNGAN FLAVONOID DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG [*Anredera cordifolia*(Ten.)Steenis.]," *Pharmacon*, vol. 2, no. 1, pp. 18–23, 2013.
- [8] N. H. Syarif Sukmawati, Rahmat Kosman, "Uji aktivitas Antioksidan Terong Belanda (*Solanum betacum* Cav.) dengan Metode FRAP," *As-Syifaa*, vol. 7, pp. 26–33, 2015.
- [9] S. jubaidah Wijaya, Heri, Novita sari, "Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L.Engl," *J. Ilm. Manuntung*, vol. 4, pp. 78–93, 2018.
- [10] W. W. S. Slamet, Hinda Setyani, "Aktivitas Antiinflamasi Partisi Metanol , Etil Asetat , n-Heksan Daun Putri Malu (*Mimosa pudica* linn)," *urecol21 stiikm Klaten*, pp. 916–923, 2021.
- [11] S. Slamet, L. Laula, and M. Khanifah, "Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan dan Etanol, Ekstrak Daun *Dendrophthoe glabrescen* (Benalu Jeruk) sebagai Skrining Awal Anti-Kanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)," *Proceeding of The URECOL*, pp. 52–57, 2020.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)