

**PENGARUH PEREBUSAN KECAMBAH KACANG HIJAU (*Phaseolus radiates L.*)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN dengan METODE DPPH**

Tajuddin Abdullah^{*)}

^{*)} Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes RI Makassar

ABSTRAK

Pengaruh Perebusan Kecambah Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus. L*) Terhadap Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH. Kecambah kacang hijau atau touge merupakan sumber makanan yang kaya akan protein, asam amino, aglikon, fitosterol, dan flavonoid. Bahkan nilai gizi kecambah kacang hijau lebih baik daripada nilai gizi biji kacang hijau. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji efek antioksidan dengan pengaruh perebusan pada kecambah kacang hijau. Penelitian dimulai dengan proses perebusan terlebih dahulu kemudian dilakukan uji efek antioksidan. Proses perebusan dilakukan dengan cara kecambah kacang hijau dibersihkan terlebih dahulu, ditiriskan kemudian ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan kedalam gelas piala yang berisi air mendidih 50 ml lalu dimasak hingga matang (5 menit pada suhu 50° C, 80°C dan 100°C) kemudian hasil rebusan digerus dalam lumpang kemudian disaring dengan kain kasa dan dicukupkan volumenya sampai 100 ml dengan air panas melalui ampas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada perebusan kecambah kacang hijau (*phaseolus radiatus.L*) dengan metode DPPH memberikan efek antioksidan pada suhu peredaman 100° C dengan nilai % inhibisi = 0,2454 dan dari hasil analisis menggunakan SPSS menunjukkan hasil yang signifikan.

Kata Kunci : Kecambah kacang hijau (*phaseolus radiatus.L*), Antioksidan, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

PENDAHULUAN

Seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas, maka penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang dengan baik untuk makanan maupun untuk pengobatan. Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh. Senyawa antioksidan adalah suatu inhibitor yang dapat digunakan untuk menghambat autooksidasi. Oleh karena itu tubuh memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas maupun senyawa radikal. (KesumaSayuti,RinaYenrina, 2016)

Antioksidan dalam kadar tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Menyatakan bahwa resiko penyakit kardiovaskuler bias diturunkan dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah tertentu, selain itu antioksidan juga dapat meningkatkan system imunitas dan mampu menghambat timbulnya penyakit

degenerative akibat penuaan. Salah satu teori penuaan yang dipercaya banyak saat ini terjadi karena oksidasi akibat radikal bebas dalam tubuh (winarsi 2011).

DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. Metode DPPH merupakan metode yang mudah, cepat, dan sensitive untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Edisambada, 2014).

Kecambah kacang hijau atau touge merupakan sumber makanan yang kaya akan protein, asam amino, vitamin dan mineral. Touge juga dikenal sebagai makanan tingkat kesuburan karena mengandung banyak vitamin, khusus vitamin E-alpa (Cahyono, B, 2007).

Tauge mempunyai vitamin lebih banyak dibandingkan dengan bentuk bijinya. Selama berkecambah, kadar vitamin B meningkat 2,5 sampai 3 kali lipat. Peningkatan vitamin B1 (thiamin), B2

(riboflavin), B3 (niasin), piridoksin, biotin juga terjadi selama proses berkecambah. Proses berkecambah juga meningkatkan kandungan vitamin E (tokoferol) secara nyata. Kandungan vitamin E, mengalami peningkatan dari 24-230 mg per 100 gram biji kering menjadi 117-662 mg per 100 gram kecambah. (Kumalaningsih,2010)

Dalam mengkonsumsi sayuran diperlukan proses pemasakan terlebih dahulu, namun ada juga yang mengkonsumsinya dalam bentuk mentah sebagai lalapan. Pemilihan cara pemasakan tergantung pada jenis bahan dan sifat produk akhir yang diinginkan. Beberapa cara pemasakan yang umum dilakukan oleh ibu-ibu rumah tangga adalah perebusan, pengukusan dan penumisan. Senyawa antioksidan pada sayuran dapat teroksidasi dan terlarut dalam aliran pengolah selama proses pemasakan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Tezar Ramdhan dan Syarifah Aminah (2014). Metode pemasakan / perebusan mempengaruhi kandungan antioksidan sayuran baik secara positif (meningkatkan) atau cara negative (menurunkan). Namun demikian, secara umum, pemasakan lebih banyak menurunkan kandungan antioksidan sayuran. Pengaruh pemasakan pada kandungan antioksidan dari sayur terutama disebabkan oleh pelunakan atau denaturasi jaringan tanaman atau gangguan seluler dan pemisahan beberapa senyawa fenolik dari struktur selular.

Penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Ros Sumarny, Ahmad Musir, dan Ningrum dalam penelitian yang menguraikan bahwa ekstrak air tauge dan ekstrak etanol tauge menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid.

Berdasarkan latar belakang diatas maka rumusan masalah adalah apakah ada perbedaan aktivitas antioksidan rebusan kecambah kacang hijau?

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan rebusan kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil).

METODE DAN BAHAN

Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian Eksperimen laboratorium yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses perebusan pada aktivitas antioksidan kecambah kacang hijau 'Touge' (*Phaseolus Radiatus* L.) dengan menggunakan pereaksi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yang dijual disalah satu pasar tradisional Kota Makassar.

Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah alat gelas laboratorium (labu ukur, gelas piala, mikroburet, pipet volum), Timbangan Analitik, Lumpang dan Stamper, mikropipet, vial, aluminium foil, sikat tabung, dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah, DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil), Sampel kecambah kacang hijau, air suling, kertas saring, etanol dan tissue.

Waktu Dan Lokasi Penelitian

Penelitian Telah dilaksanakan pada bulan Januari 2017 di Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Makassar.

Populasi dan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kecambah kacang hijau (*Phaseolus Radiatus* L.)

Teknik Pengumpulan Data

1. Pengambilan sampel.

Sampel kecambah kacang hijau diambil dari salah satu pasar tradisional di Kota Makassar.

2. Pengolahan sampel

Sampel kecambah kacang hijau yang telah diambil selanjutnya dibersihkan dari kotoran debu dengan cara dicuci dengan air mengalir. Kecambah kacang hijau yang sudah dibersihkan, ditiriskan kemudian ditimbang sebanyak 10 gram. Selanjutnya dimasukkan dan digerus dalam lumpang lalu

ditambahkan 25 ml air, disaring dengan kain kasa kemudian filtrate yang dihasilkan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml. residu yang dihasilkan digerus lagi dalam lumping dan ditambahkan 25 ml air, disaring dengan kain kasa dan masukkan dalam labu ukur 100 ml. Ulangi lagi hingga filtrat mencapai volume 100 ml (konsentrasi 1000 ppm).

Kemudian filtrate dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml diencerkan dengan etanol dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm. Diambil 0,5 ml larutan sampel (konsentrasi 500 ppm) dimasukkan dalam vial dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 4,0 ml. Dibiarkan selama 30 menit dalam vial yang terlindung dari cahaya. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm, sebagai blanko diukur 0,5 ml etanol dan ditambahkan dengan 4,0 ml DPPH 40 ppm. Dibiarkan selama 30 menit dalam wadah yang terlindung dari cahaya. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm. Perlakuan dilakukan sebanyak 2 kali.

3. Pembuatan larutan sampel dengan perebusan

Sampel kecambah kacang hijau yang telah diambil selanjutnya dibersihkan dari kotoran debu dengan cara dicuci. Kecambah kacang hijau yang telah dibersihkan, ditiriskan kemudian ditimbang sebanyak 10 gram. Dimasukkan sampel kedalam gelas piala yang berisi air sebanyak 50 ml lalu direbus (5 menit pada suhu 50°C). Selanjutnya hasil rebusan digerus dalam lumping kemudian disaring dengan kain kasa dan dicukupkan volumenya sampai 100 ml dengan air panas melalui ampas (konsentrasi 1000 ppm).

Kemudian filtrate dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml diencerkan dengan etanol dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 500 ppm. Diambil 0,5 ml larutan sampel (konsentrasi 500 ppm)

dimasukkan dalam vial dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 4,0 ml. Dibiarkan selama 30 menit dalam wadah yang terlindung dari cahaya. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm, sebagai blanko diukur 0,5 ml etanol dan ditambahkan dengan 4,0 ml DPPH 40 ppm. Dibiarkan selama 30 menit dalam wadah yang terlindung dari cahaya. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm. Perlakuan diulangi sebanyak 2 kali. Kemudian dengan cara kerja yang sama dipanaskan pada suhu 50° C, 80° C dan 100° C.

4. Pembuatan larutan DPPH 40 ppm

Ditimbang dengan seksama 10 mg DPPH dilarutkan dengan etanol, dipindahkan kedalam labu ukur 250 ml dan dicukupkan volumenya hingga tanda dengan etanol.

5. Pengukuran serapan larutan sampel perebusan

Di ukur 0,5 ml masing – masing larutan sampel tanpa perebusan dan larutan sampel dengan perebusan kemudian ditambahkan 4,0 ml larutan DPPH 40 ppm. Masing-masing larutan dibiarkan selama 30 menit dalam wadah yang terlindung dari cahaya. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai blanko diukur 0,5 ml etanol ditambahkan dengan 4,0 ml DPPH 40 ppm dan dibiarkan selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

6. Penggumpulan data

Data hasil pengukuran serapan blanko dan sampel dengan spektrofotometer UV-Vis, Dikumpulkan dan ditabulasikan, kemudian ditentukan aktivitas antioksidannya.

7. Analisis data

Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan besarnya % pengikatan/inhibisi larutan baku dan sampel terhadap radikal bebas (Larutan DPPH). Besarnya persentase pengikat radikal bebas dihitung dengan rumus

$$\%Inhibisi = \frac{\{(Absorbansiblanko) - (Absorbansisampel)\}}{(Absorbansiblanko)} \times 100\%$$

Kemudian dihitung dengan SPSS Anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil analisis uji aktivitas antioksidan terhadap pengaruh perebusan kecambah kacang hijau dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, maka hasil analisis disajikan dalam table berikut:

Table 1 :Pengaruh perebusan kecambah kacang hijau (*phaseolus radiatus.L*) terhadap aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Suhu	Berat sampel	Replikasi	Hasil spektro	Rata-rata	% Inhibisi
Normal	100,402	1	0,588	0,5825	0,2619
		2	0,577		
50° C	100,233	1	0,571	0,5705	0,2771
		2	0,570		
80° C	100,031	1	0,575	0,5745	0,2720
		2	0,574		
100° C	100,340	1	0,595	0,5955	0,2454
		2	0,596		

Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah sampel kecambah kacang hijau (*phaseolusrasiatus.L*) dilakukan perebusan terlebih dahulu pada suhu yang berbeda-beda yaitu suhu normal (tanpa rebusan), suhu 50°C, suhu 80°C dan 100°C. Hasil rebusan kemudian diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Dalam pengujian aktivitas antioksidan, masing- masing rebusan digunakan spektrofotometer UV-Vis, dimana jumlah pereaksi larutan DPPH ditambahkan berlebih, sisa larutan DPPH yang bereaksi / terikat diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada daerah sinar tampak. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH menunjukkan serapan maksimum larutan DPPH terletak pada panjang gelombang 515 nm. Selanjutnya kecambah kacang hijau tersebut dilakukan perbandingan aktivitas antioksidan antara rebusan dan tanpa rebusan pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH ini dipilih karena merupakan metode yang

sederhana, mudah, peka, cepat, serta hanya memerlukan sedikit sampe luntuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam.

Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH ini adalah adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan senyawa antioksidan tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektro tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini akan terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hydrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu kekuning. Perubahan warna ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH saat diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Hasil uji aktivitas

antioksidan yang diperoleh (dapat dilihat pada table 1) menunjukkan sampel kecambah kacang hijau (*phaseolus radiatus.L*) dengan metode DPPH memberikan efek antioksidan. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada perebusan kecambah kacang hijau (*phaseolus radiatus.L*) dengan metode DPPH memberikan aktivitas antioksidan hasil penelitian menunjukkan sampel kecambah kacang hijau pada suhu normal memiliki nilai rata-rata = 0,5825, suhu 50°C = 0,5705, suhu 80°C = 0,5745 dan pada suhu 100°C memiliki nilai rata-rata = 0,5955, nilai ini jauh lebih tinggi dari suhu perebusan 50°C dan 80°C dan dari hasil analisis menggunakan SPSS menunjukkan hasil yang signifikan pada suhu perebusan 100°C. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu, maka potensi antioksidan pada rebusan kecambah kacang hijau semakin meningkat.

PENUTUP

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pada perebusan kecambah kacang hijau memberikan efek antioksidan, hasil penelitian menunjukkan kecambah kacang hijau pada suhu normal memiliki nilai rata-rata 0,5825, suhu 50°C = 0,5705 dan suhu 100°C = 0,5955, juga dengan analisis SPSS menunjukkan hasil yang signifikan pada suhu peredaman 100°C dengan demikian aktivitas antioksidan berpengaruh terhadap peningkatan suhu.

Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan metode dan suhu pemanasan yang berbeda dan waktu yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggrahini, 2009. *Budidaya dan cara perkecambahan kacang hijau*. Penerbit CV. Aneka ilmu, Jakarta.
- Cahyono, B. 2007. *Teknik Budi Daya dan Analisis Usaha Tani Kacang hijau*, Penerbit CV. Aneka Ilmu, Semarang.

- Deborah, H et al. 2015. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Cameliasinensis*) Extracts, *Molecules*, Nutrition Departement .School of Public Health.Sao Paulo University.Brazil.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2013. Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan kromatografi .Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Kumala ningsih, Sri 2010. *Tanaman Antioksidan*. Jakarta :Penebar Swadaya.
- Molyneux, P. 2004. *The of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *Macrophile Associates*. 9 Brewery Lane. Salisbury. Wiltshire.SP12LJ.UK.
- Ramadhan tezar dan Aminah syarifa. 2014. Pengaruh Pemasakan Terhadap Kandungan Antioksidan Sayuran diakses 28 november 2016.
- Rafael et al. 2012. *Validation Of HPLC, DPPH AND nitrosation methods for mesalamine determination in pharmaceutical dosage forms*. *Brazilizn journal of pharmaceutical sciences*.Brazil.
- Robert, Y. 2016. *Antioksidants : vitamins C dan E for health*. Jakarta :Trubus Agrisarana.