

Uji Aktivitas Antiradikal Biji Pare (*Momordica charantia* L.) Menggunakan Metode DPPH serta Analisis Metabolit Sekundernya

Antiradical Activity Study of *Momordica charantia* L. Seeds Based on DPPH and Its Secondary Metabolites Analysis

Baiq Desy Ratnasari^{1*}, Diah Miftahul Aini¹, Imam Syahputra Yamin², Gladeva Yugi Antari³

¹Program Studi Sarjana Farmasi, STIKES Kusuma Bangsa, Mataram

²Program Studi Sarjana Administrasi Rumah Sakit, STIKES Kusuma Bangsa, Mataram

³Program Studi D3 Kebidanan, STIKES Griya Husada Sumbawa, Sumbawa

Abstrak: Biji Pare adalah salah satu limbah sayur pare yang tidak dimanfaatkan padahal memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan yaitu sebagai anti-tumor, anti-virus, dan obat untuk meningkatkan ketahanan tubuh. Untuk itu, penelitian ini didesain untuk mengkaji aktivitas antiradikal ekstrak etanol biji pare menggunakan metode DPPH. Selanjutnya, akan dilakukan analisis GC-MS (*Gas Chromatography and Mass Spectroscopy*) untuk memastikan senyawa kimia yang berperan dalam biokativitas biji pare tersebut. Berdasarkan absorbansi DPPH dalam tiga kali pengulangan, didapatkan rata-rata nilai inhibisi DPPH oleh ekstrak etanol biji pare sebesar 60.45% dimana dengan hasil ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji pare 95% mampu menyerap radikal bebas dengan baik. Hasil GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pare mengandung sepuluh senyawa kimia yang terdiri dari seskuiterpen, asam lemak, dan senyawa alkana yang mempengaruhi kinerjanya dalam menyerap radikal bebas.

Kata Kunci: antioksidan, biji Pare, GC-MS, senyawa kimia.

Abstract: *Momordica charantia* L seed is classified as the domestic waste even though it has many health benefits, namely as anti-tumor, anti-virus, and as a medicine to increase the body immunity. Therefore, this study was designed to examine the antioxidant activity of the ethanol extract of the seeds using the DPPH method. Furthermore, a GC-MS (*Gas Chromatography and Mass Spectroscopy*) analysis will be carried out to determine the chemical compounds that play a role in the bioactivity. Based on the absorbance of DPPH in three repetitions, the average value of DPPH inhibition by 95% ethanol extract of bitter melon seeds was 60.45%, in which classified as a good radical absorbance. The GC-MS results showed that the ethanol extract of bitter melon seeds contained ten chemical compounds consisting of sesquiterpenes, fatty acids, and alkanes, which affecting the radical absorbance of *M. charantia* extract.

Keywords: antioxidant, chemical compounds, GC-MS, *Momordica charantia* L. seeds.

PENDAHULUAN

Virus Corona atau yang lebih dikenal sebagai COVID-19 muncul sejak November 2019 di Wuhan, China, dan menyebar ke seluruh dunia sampai saat ini menjadi suatu pandemic global. Salah satu negara dengan kasus tertinggi adalah Indonesia dengan jumlah kasus sebanyak 4.21 M dan kematian sebanyak 141.000 jiwa (Worldmeter, 2021). Salah satu cara mengatasi lonjakan kasus COVID-19 adalah dengan mencegah infeksi virus ke dalam tubuh. Hal ini

dapat dilakukan dengan meningkatkan imunitas untuk melindungi tubuh dari serangan virus. Peningkatan imunitas dapat diperoleh melalui konsumsi buah dan sayur.

Pare (*Momordica charantia* L.) merupakan salah satu jenis sayur yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Buahnya banyak diolah sebagai bahan tambahan siomay, ditumis, dioseng, atau sebagai lalapan. Biji pare merupakan bagian yang dibuang karena tidak dapat dikonsumsi sebagai lauk (Septiningsih,

* email korespondensi: desybaig@stikeskusuma.ac.id

Sutanto and Indriani, 2017; Subahar and Lentera, 2004). Pada beberapa penelitian sebelumnya diketahui bahwa biji pare memiliki potensi sebagai anti-kanker (Güneş, Alper and Çelikoğlu, 2019) dan anti-mikroba (Ramalingam *et al.*, 2020). Selain itu, dalam biji pare juga ditemukan beberapa jenis asam lemak tak jenuh yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami (Yoshime *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian (Septiningsih, Sutanto and Indriani, 2017), ekstrak etanol buah, daun, dan biji pare yang diekstrak dalam etanol 70% menunjukkan aktivitas antioksidan yang rendah. Akan tetapi, penelitian lain (Khalid *et al.*, 2021), menemukan bahwa ekstrak etanol 80% dari daun, biji, dan kulit pare dapat menangkal radikal bebas sebesar 71%, 48,2%, dan 63,2% secara berurutan. Perbedaan hasil ini dipengaruhi oleh konsentrasi pelarutnya. Semakin besar konsentrasi pelarutnya, maka kemampuan untuk menyerap radikal bebas (DPPH) juga semakin besar.

Bioaktivitas suatu bahan alam dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimianya. Dari temuan ini, dapat dikembangkan beberapa teori, yaitu, pertama, senyawa yang bertanggungjawab atas aktivitas antioksidan tidak bisa terekstrak dalam etanol berkadar 70%. Kadar senyawa yang terekstrak dipengaruhi oleh konsentrasi pelarutnya (Ramdja, Aulia and Mulya, 2009). Untuk itu, dalam penelitian ini kadar etanolnya ditingkat menjadi 95% untuk melihat apakah ada pengaruh konsentrasi dalam aktivitas antioksidan biji pare.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian.

Alat. Alat yang digunakan yaitu satu set alat rotary evaporator, neraca (Ohaus model galaxy TM 160), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S), Kromatografi Gas Spektrum Masa (GC-MS) Shimadzu QP2010 ULTRA.

Bahan. Biji pare (*Momordica charantia* L) yang dikumpulkan dari Desa Gerung, Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat. Berdasarkan literature studi diketahui bahwa determinasi *M. charantia* L yang

digunakan berasal dari suku *Cucurbitaceae* (Riferty, 2018; Oktavia *et al.*, 2020).

Selanjutnya, dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% EMSURE, asam askorbat (Vitamin C), dan radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yang diperoleh dari Laboratorium Analitik Universitas Mataram.

Prosedur Penelitian.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam biji pare serta aktivitas antioksidannya. Penelitian dilakukan dengan beberapa langkah yaitu:

1. Ekstraksi

Biji pare sejumlah 500 gram yang sudah dikering-anginkan, ditumbuk halus, kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 1 Liter dalam wadah kaca selama 3x24 jam dengan pengadukan berkala. Ekstrak selanjutnya dikeringkan dengan *Rotary evaporator* (Septiningsih, Sutanto and Indriani, 2017).

2. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ini dilakukan berdasarkan metode yang dimodifikasi dari penelitian Maesaroh, Kurnia, dan Al Anshori, (2018)

a) Pembuatan Larutan Blanko

DPPH sejumlah 20 mg dilarutkan dengan etanol, kemudian diencerkan sampai 100 mL dan ditempatkan dalam botol gelap. Selanjutnya, dari larutan induk, diambil larutan DPPH sebanyak 5 mL dan diencerkan sampai 25 mL dengan etanol.

b) Pembuatan Larutan uji ekstrak

Ekstrak kental sebanyak 25 mg diencerkan dengan aquades sebanyak 25 mL, selanjutnya dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm.

c) Pembuatan larutan pembanding Vitamin C.

Vitamin C sebanyak 25 mg ditambahkan aquades secukupnya, kemudian volume akhir dicukupkan dengan etanol absolut hingga 25 mL. Kemudian dari larutan tersebut dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm.

d) Pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS

DPPH sejumlah 5 ml di tambahkan ke dalam masing-masing larutan uji (0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, dan 2 mL), dan diencerkan sampai 25 mL. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 20 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm. Semua pengerjaan dilakukan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari. Data hasil pengukuran absorbansi dianalisa persentase aktivitas antioksidannya.

3. Analisis Kromatografi Gas Spektrum Masa (GC-MS)

Metode yang digunakan untuk menganalisis metabolit dalam biji pare disesuaikan dengan metode (Hadi *et al.*, 2019). Kandungan senyawa pada ekstrak kental biji pare dianalisis menggunakan kromatografi gas, merek Shimadzu QP2010 ULTRA, the RTX-5MS dengan panjang kolom kapiler 30 m, diameter 0,25 mm, dan ketebalan film 0.25 μ m. Gas helium digunakan sebagai fase gerak dengan kecepatan rata-rata 30ml/min. Massa molekul ionnya diidentifikasi pada 35-500 m/z. Program suhu yang digunakan adalah: suhu injeksi 260 $^{\circ}$ C, yang dimulai pada 40 $^{\circ}$ C selama 5 menit dan diprogramkan untuk

peningkatan suhu sebesar 30 $^{\circ}$ C per menit sampai suhu mencapai 260 $^{\circ}$ C dalam 7 menit.

Analisis Data.

Untuk menentukan persentase inhibisi DPPH, digunakan persamaan: (Maesaroh, Kurnia and Al Anshori, 2018).

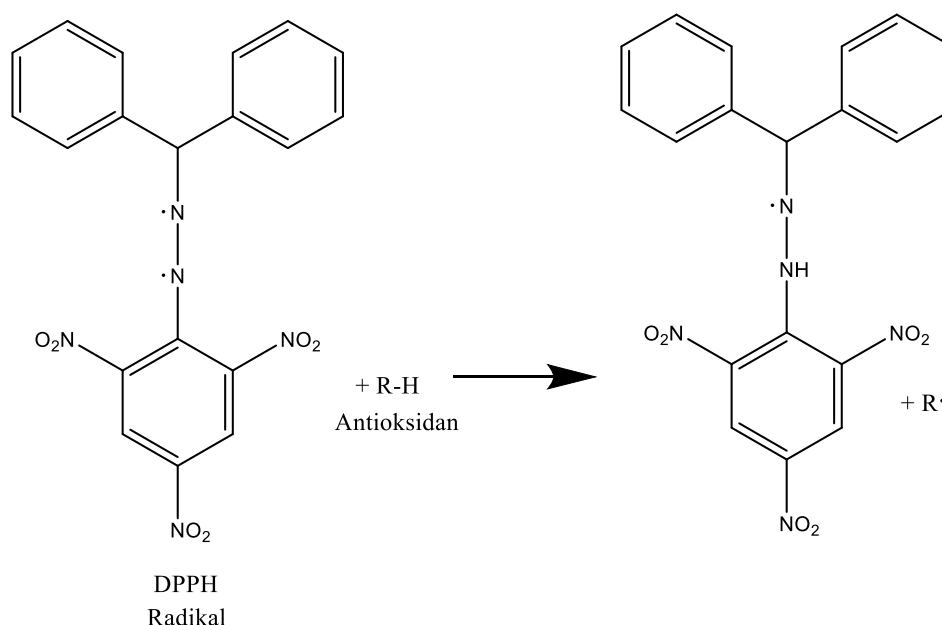
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

A kontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel = Absorbansi sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi biji pare menggunakan etanol 96% dengan pengadukan berkala dan perendaman selama 3x24 jam menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 2%. Pada penelitian Septiningsih dkk (2017)², ditemukan bahwa etanol 70% tidak menunjukkan aktivitas antioksidan. Akan tetapi, ekstrak etanol 80% biji pare berhasil menghalau radikal bebas sebesar 51,3%⁵. Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol sebesar 96% dan menghasilkan persentase inhibisi terhadap DPPH sebesar 60,27%, dan 60,69% sehingga hasil rata-rata kadar inhibisi sebesar 60,45%. Dari hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan, maka aktivitas antioksidannya dalam menyerap radikal bebas juga akan semakin meningkat (Gambar 1).



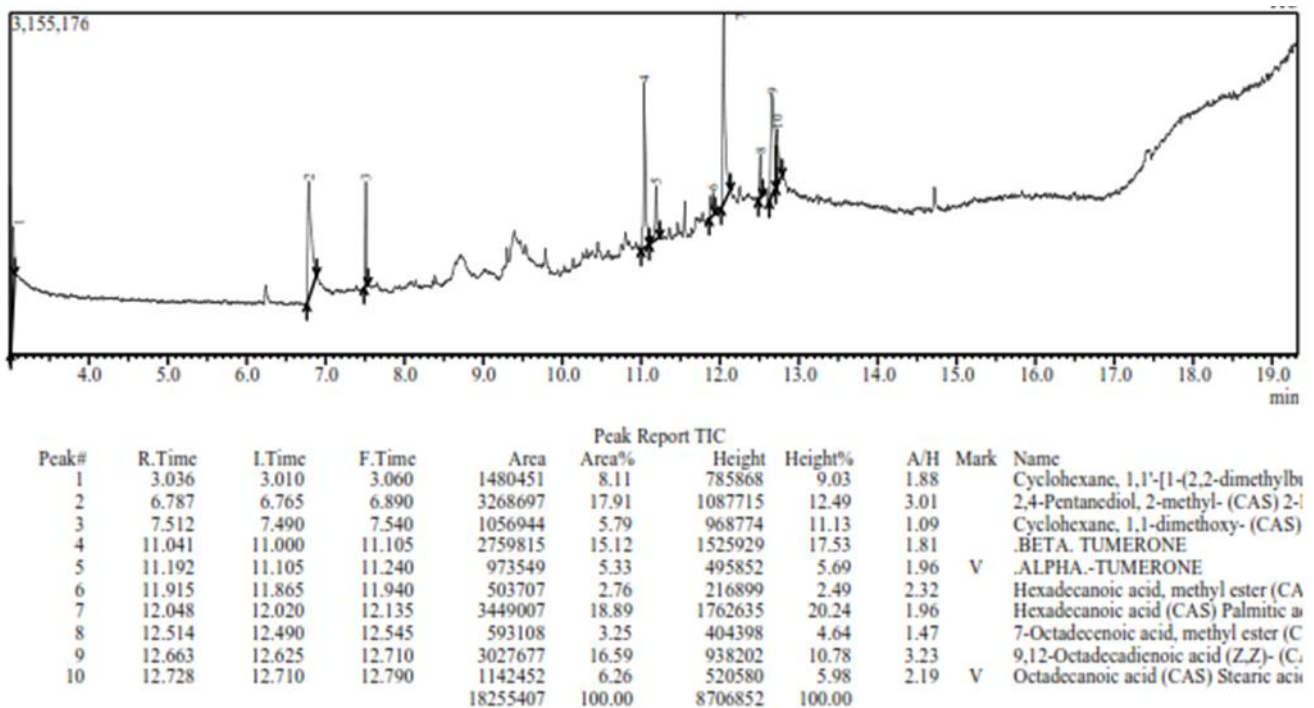
Gambar 1. Mekanisme Penyerapan Radikal DPPH oleh zat antioksidan

Analisis senyawa kimia dalam ekstrak biji pare menggunakan kromatografi masa (GC-MS) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pare mengandung sepuluh senyawa kimia yang terdiri dari seskuiterpen, asam lemak, dan senyawa alkane (Gambar 2).

Seskuiterpen adalah senyawa yang memiliki 15 atom karbon yang banyak ditemukan pada minyak atsiri. Seskuiterpen biasanya memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba, antiinflamatori, antioksidan, antitumor, antiviral, sitotoksik, immunosupresi, fitotoksik, antifungal,

insektisida, dan aktivitas hormonal (Musman, 2018).

Senyawa seskuiterpen yang terdeteksi pada ekstrak etanol biji pare adalah beta-turmeron dan alpha-turmeron (Gambar 3). Kedua senyawa ini merupakan isomer dari turmerone. Turmerone adalah senyawa yang memiliki bioaktivitas biologi sebagai penawar racun, pengencer darah, antikanker, antioksidan, dan masih banyak lainnya (Musman, 2018; Mander and Liu, 2010).

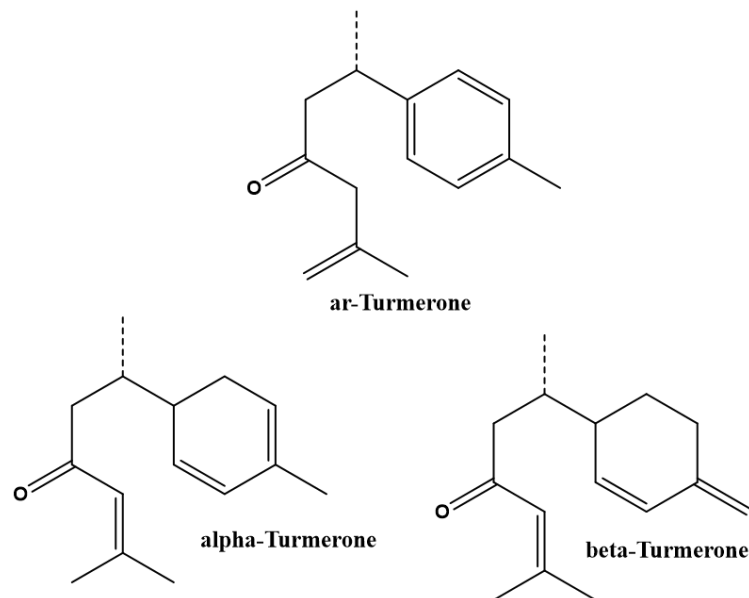


Gambar 2. Hasil GC-MS Ekstrak etanol biji pare

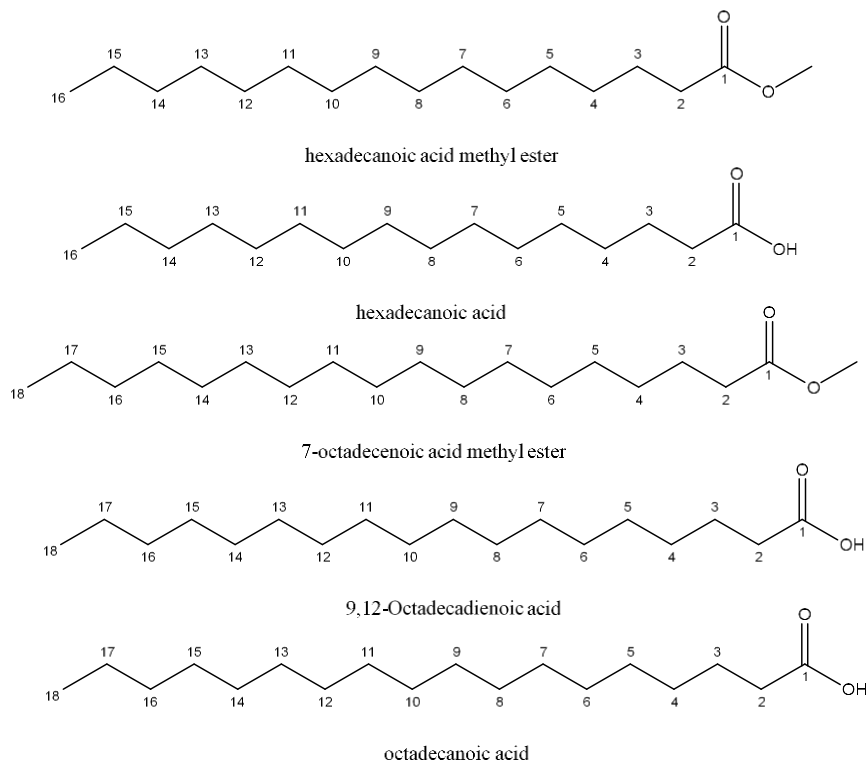
Lebih khusus tentang beta-turmerone dan alpha-turmerone (Gambar 3), keduanya memiliki aktivitas sebagai β -secretase inhibitor dengan IC_{50} masing-masing 39 and 62 μ M (Mander and Liu, 2010). β -secretase merupakan enzim yang menginduksi terjadinya penyakit Alzheimer (Hampel *et al.*, 2021). Dengan kemampuan menghalangi β -secretase, maka kejadian demensia dan Alzheimer dapat dicegah. Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa biji pare

memiliki banyak potensi mulai dari antioksidan sampai dengan mencegah munculnya Alzheimer.

Senyawa lain yang menjadi komponen utama pada biji pare adalah asam lemak tanpa ikatan rangkap yang dikenal dengan nama asam lemak jenuh, seperti asam heksadekanoat metil ester, asam heksadekanoat, 7-asam heksadekanoat metil ester, 9,12-asam oktadekanoat, dan asam oktadekanoat (Gambar 4).



Gambar 3. Struktur Senyawa Turmerone

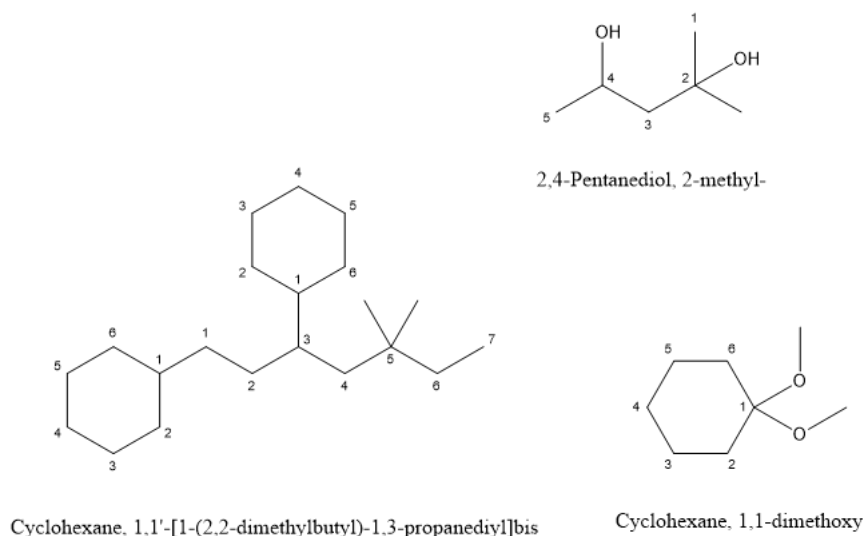


Gambar 4. Kandungan Asam Lemak pada Biji Pare

Senyawa asam lemak merupakan senyawa metabolit primer yang diperlukan oleh makhluk hidup sebagai bahan penyusun membran sel sebagai sumber tenaga, dan berperan dalam komunikasi sel. Selain itu, asam lemak juga memiliki bioaktivitas antioksidan dan antimikroba yang kuat. Salah satu contohnya adalah senyawa metil ester asam heksadekanoat yang memiliki konsentrasi inhibisi minimal (MIC) $12\text{--}24 \mu\text{g mL}^{-1}$

untuk bakteri gram negatif, $24\text{--}48 \mu\text{g mL}^{-1}$ bakteri gram positif, $60\text{--}192 \mu\text{g mL}^{-1}$ pada fungi (Buckle, 2015).

Senyawa lain yang terdapat pada ekstrak etanol biji pare adalah senyawa golongan alkana dan sikloalkana yaitu: sikloheksana; 1,1'-[1-(2,2-dimetilbutil)-1,3-propanal] bis-; 2,4-Pentandiol, 2-methyl-; sikloheksan, 1,1-dimetoksi (Gambar 5).



Gambar 5. Senyawa Alkana dan Sikloalkana pada Biji Pare

SIMPULAN

Biji pare yang diekstrak dalam etanol 96% menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 60.45%, dimana kemungkinan senyawa yang bertanggungjawab atas aktivitas antioksidan ini adalah senyawa α dan β turmerone, serta senyawa asam lemak jenuh di dalamnya. Selain berpotensi sebagai antioksidan, senyawa α dan β turmerone, menurut literature memiliki potensi sebagai anti-kanker dan anti-alzheimer. Informasi ini akan dijadikan referensi untuk penelitian selanjutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada STIKES Kusuma Bangsa yang telah membiayai penelitian ini melalui skema hibah internal dosen. Selanjutnya, terima kasih pula kepada tim peneliti yang telah memberikan bantuan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

Buckle, J. (2015) 'Basic plant taxonomy, basic essential oil chemistry, extraction, biosynthesis, and analysis', *Clinical aromatherapy*, pp. 37-72.

Güneş, H., Alper, M. and Çelikoğlu, N. (2019) 'Anticancer effect of the fruit and seed extracts of *Momordica charantia*

L.(Cucurbitaceae) on human cancer cell lines', *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 18(10), pp. 2057-2065.

Hadi, S., Ratnasari, B. D., SepTiyana, M., Priyambodo, S. and Sudarma, I. M. (2019) 'Antibacterial Assay and Alkaloid Lombine Distribution Study of Voacanga foetida (BI) Rolfe from Lombok Island', *Oriental Journal of Chemistry*, 35(1), pp. 275.

Hampel, H., Vassar, R., De Strooper, B., Hardy, J., Willem, M., Singh, N., Zhou, J., Yan, R., Vanmechelen, E. and De Vos, A. (2021) 'The β -secretase BACE1 in Alzheimer's disease', *Biological psychiatry*, 89(8), pp. 745-756.

Khalid, Z., Hassan, S. M., Mughal, S. S., Hassan, S. K. and Hassan, H. (2021) 'Phenolic Profile and Biological Properties of *Momordica charantia*', *Chemical and Biomolecular Engineering*, 6(1), pp. 17.

Maesaroh, K., Kurnia, D. and Al Anshori, J. (2018) 'Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin', *Chimica et natura acta*, 6(2), pp. 93-100.

Mander, L. and Liu, H.-W. (2010) *Comprehensive natural products II: chemistry and biology*. Elsevier.

- Musman, M. 2018. Kimia Organik Bahan Alam. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Oktavia, G. A. E., Arifah, F. H., Arifa, N. and Sujarwo, W. (2020) 'Pengetahuan Etnomedisin Masyarakat Bali Tentang Pare (Momordica charantia L.; Cucurbitaceae): Sebuah Kajian Kepustakaan', *Buletin Kebun Raya*, 23(3).
- Ramalingam, R., Palanisamy, S., Mohanraj, A. K., Durisamy, S. and Rajasekaran, N. (2020) 'Chemical Profiling of Momordica charantia L. Seed Essential Oil and Its Antimicrobial Activity', *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(2), pp. 390-396.
- Ramdja, A. F., Aulia, R. M. A. and Mulya, P. (2009) 'Ekstraksi kurkumin dari temulawak dengan menggunakan etanol', *Jurnal Teknik Kimia*, 16(3).
- Riferty, F. (2018) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Biji Pare (Momordica Charantia L.) Terhadap Bakteri Propionibacterium Acnes', *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 1(2), pp. 119-125.
- Septiningsih, R., Sutanto, S. and Indriani, D. (2017) 'AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN, BUAH DAN BIJI PARE (Momordica charantia L.)', *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(1), pp. 4-1
- Subahar, T. S. S. and Lentera, T. (2004) *Khasiat & Manfaat Pare*. AgroMedia.
- Worldmeter (2021) 'Corona Virus: Reported Cases and Deaths by Country or Territory'. Available at: <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (Accessed 20 Agustus 2021).
- Yoshime, L. T., Melo, I. L. P. d., Sattler, J. A. G., Torres, R. P. and Mancini-Filho, J. (2018) 'Bioactive compounds and the antioxidant capacities of seed oils from pomegranate (Punica granatum L.) and bitter gourd (Momordica charantia L.)', *Food Science and Technology*, 39, pp. 571-580.