

ARTIKEL PENELITIAN

Kapasitas Antioksidan Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa L.*) dengan metode ABTS, DPPH, dan FRAP

Linginda Soebrata¹, Ni Made Swantari², Frans Ferdinal², Eny Yulianti²

¹Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, ²Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Email: lingindasoebrata@gmail.com

Abstrak: Antioksidan banyak terkandung dalam tanaman, terutama tanaman herbal. Batang brotowali (*Tinospora crispa L.*) merupakan salah satu tanaman herbal yang memiliki potensi antioksidan. Kapasitas antioksidan dapat bervariasi tergantung dari metode yang digunakan. Oleh karena itu, pada penelitian ini, penulis bertujuan untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak batang brotowali dengan berbagai metode. Penelitian dilakukan menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP, dengan metanol sebagai pelarutnya. Hasil didapatkan bahwa metode FRAP menghasilkan nilai IC_{50} yang paling rendah yaitu 17.08 $\mu\text{g/mL}$, dengan hasil ABTS dan DPPH berturut – turut sebagai berikut 38.63 $\mu\text{g/mL}$, 245.95 $\mu\text{g/mL}$, sehingga dapat disimpulkan bahwa batang brotowali memiliki aktivitas antioksidan yang bervariasi antara kuat hingga lemah bergantung pada metode yang digunakan. Hasil paling tinggi ditemukan pada metode FRAP.

Kata kunci: ABTS, antioksidan, DPPH, FRAP

Antioxidant Capacity of Brotowali Stem Extract (*Tinospora crispa L.*) Using ABTS, DPPH, and FRAP Methods

Abstract: Antioxidants are found in many plants, especially herbal plants. *Tinospora crispa L.* stem is one of the herbal plants that has antioxidant potential. Antioxidant capacity can vary depending on the method used. Therefore, in this study, the author aims to determine the antioxidant capacity of *Tinospora crispa L.* stem extract in various methods. The study was conducted using the DPPH, ABTS, and FRAP methods, with methanol as the solvent. The results showed that the FRAP method produced the lowest IC_{50} value of 17.08 $\mu\text{g/mL}$, with the ABTS and DPPH results respectively as follows: 38.63 $\mu\text{g/mL}$, 245.95 $\mu\text{g/mL}$, so it can be concluded that brotowali stems have antioxidant activity that varies from strong to weak, depending on the method used. The highest result was found in FRAP method.

Keywords: ABTS, antioxidant, DPPH, FRAP

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara megabiodiversitas di dunia, yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman, di mana sekitar 15.000 di antaranya memiliki potensi sebagai tanaman obat. Namun, dari jumlah tersebut, hanya sekitar 7.000 spesies yang telah dimanfaatkan secara tradisional maupun semi-modern sebagai bahan baku obat herbal.¹ Potensi ini menunjukkan adanya celah besar dalam pemanfaatan sumber daya hayati lokal yang belum tergalai secara optimal. Pemanfaatan tanaman obat oleh masyarakat Indonesia telah berlangsung secara turun-temurun dan menjadi bagian penting dari sistem pengobatan tradisional.

Salah satu tanaman yang populer digunakan dalam pengobatan tradisional adalah brotowali (*Tinospora crispa* L.), yang berasal dari famili *Menispermaceae*. Tanaman ini dikenal luas di Asia Tenggara, termasuk Indonesia, karena khasiatnya dalam mengatasi berbagai penyakit seperti demam, diabetes, hipertensi, serta gangguan

pencernaan⁽²⁾. Bagian batang brotowali sering dikonsumsi masyarakat dengan cara direbus dan diminum airnya, meskipun rasanya sangat pahit. Khasiatnya diyakini berasal dari kandungan fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan polifenol yang bertindak sebagai antioksidan alami.²

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan penting dalam menetralkan radikal bebas, yaitu molekul reaktif yang dapat merusak sel dan menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus, dan penyakit kardiovaskular.³ Dalam studi sebelumnya, telah diidentifikasi bahwa *T. crispa* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, glikosida, pikroretosid, harsa, alkaloid berberin, palmatin, dan kolumbin, yang memiliki aktivitas farmakologis signifikan, termasuk sebagai antioksidan.² Namun demikian, sebagian besar studi tersebut masih bersifat kualitatif, hanya menunjukkan keberadaan senyawa tanpa mengevaluasi

kemampuan antioksidannya secara kuantitatif.

Penelitian kuantitatif mengenai kapasitas antioksidan sangat penting untuk mengukur sejauh mana efektivitas ekstrak herbal dalam menghambat radikal bebas. Salah satu parameter yang umum digunakan adalah IC_{50} , yaitu konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menginhibisi 50% aktivitas radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin kuat aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak.⁴ Untuk itu, dalam penelitian ini digunakan tiga metode pengujian aktivitas antioksidan, yaitu DPPH, ABTS, dan FRAP. Metode DPPH sangat sensitif terhadap donor hidrogen, ABTS efektif untuk senyawa hidrofobik dan hidrofilik, sedangkan FRAP mengukur kapasitas reduksi terhadap ion Fe^{3+} .⁵

Pemilihan pelarut metanol didasarkan pada kemampuannya yang tinggi dalam mengekstraksi senyawa polar dan semi-polar seperti polifenol dan flavonoid. Metanol juga lebih efisien dibandingkan pelarut lain dalam mengekstraksi komponen bioaktif dari jaringan

tanaman⁶. Sebagai pembanding, digunakan Trolox, turunan vitamin E yang umum digunakan sebagai standar antioksidan karena stabil dan memiliki aktivitas yang dapat dibandingkan antar-metode.⁷

Dengan pendekatan kuantitatif dan multi-metode ini, diharapkan penelitian dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai kapasitas antioksidan ekstrak metanol batang brotowali, sekaligus mendorong eksplorasi lebih lanjut terhadap pemanfaatan tanaman lokal sebagai sumber antioksidan alami yang potensial.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara pada bulan Desember 2024. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) yang diambil dari Provinsi Jawa Tengah, Indonesia. Sampel yang dipilih adalah batang brotowali yang segar dan tidak busuk, yang kemudian dijadikan ekstrak menggunakan pelarut metanol.

Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan diantaranya adalah batang brotowali, metanol, aquades, *2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine* (TPTZ), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, HCL, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, larutan Trolox, radikal ABTS, radikal DPPH, dan sediaan FRAP.

Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas bekker, blender, aluminium foil, neraca Ohaus, corong perkolasi, kertas saring, batang pengaduk, *rotatory evaporator*, penangas air (*water bath*), tabung reaksi beserta raknya, pipet tetes, pipet ukur, mikropipet, labu ukur, labu Erlenmeyer, *visible spectrophotometer genesys 30*, dan kuvet kaca.

Pembuatan Ekstrak Metanol Batang Brotowali

Batang brotowali segar dibersihkan kemudian dipotong dan dikeringkan pada suhu ruang tanpa terkena cahaya matahari selama 3-7 hari. Setelah dipastikan kering, batang brotowali kemudian diblender agar menjadi bentuk simplisia. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode perkolasi,

sebanyak 50 gram simplisia diambil dan direndam dalam larutan metanol selama 3 jam dalam wadah tertutup. Setelah itu, dimasukkan kedalam corong perkolator yang telah diberi kapas, lalu lapis permukaan simplisia dengan kertas saring. Pelarut metanol dituangkan hingga berada 1 – 2 cm diatas permukaan simplisia. Corong perkolator ditutup dan diamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, ekstrak dapat ditampung dengan membuka tuas perkolator secara perlahan dengan kecepatan 1 – 3 tetes/detik. Pelarut metanol dapat ditambahkan terus menerus untuk mempertahankan ketinggian 1 – 2 cm diatas simplisia. Jika ekstrak yang ditampung sudah jernih maka proses perkolasi dapat dihentikan. Selanjutnya, untuk memperoleh ekstrak kental, dilakukan evaporasi pada ekstrak cair dengan menggunakan *rotatory evaporator*.

Uji Kapasitas Antioksidan Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*)

Pengujian sampel dilakukan dengan 0,01 gram sampel batang brotowali, yang dilarutkan dengan metanol sebanyak 10 ml. Masing –

masing dimasukkan kedalam tabung, dibuat dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600 µg/mL. Setelah itu, dicampurkan dengan larutan DPPH dengan perbandingan 1:1, lalu dihomogenkan dan didiamkan dalam penangas dengan suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan *visible spechtrophotometer* genesys 30 pada panjang gelombang 515 nm. Pembuatan standar pembanding trolox dilakukan dengan cara yang sama pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL

Uji Kapasitas Antioksidan Metode ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonicacid)

Uji ekstrak dilakukan dengan melarutkan 0,01 gram ekstrak batang brotowali dengan 10 mL aquades, lalu diencerkan dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 µg/mL. Masing – masing diambil sebanyak 500µL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 500µL larutan ABTS. Proses dilakukan secara *triplo*. Selain itu, dibuat juga larutan Trolox sebagai standar pembanding, larutan Trolox dibuat dengan

konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 µg/mL dengan perlakuan yang sama seperti sampel. Hasil sampel dan larutan Trolox kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm.

Uji Kapasitas Total Antioksidan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Pembuatan Larutan FRAP

Larutan FRAP dibuat dengan mencampurkan 3 larutan, larutan pertama dibuat dengan mencampurkan 187 mg natrium asetat trihidrat dengan 16 mL asam asetat kemudian dilarutkan dengan aquades hingga 250 mL. Larutan kedua terdiri dari 150 mg TPTZ dilarutkan dengan HCL 40 M hingga 50 mL. Larutan ketiga terdiri dari 270 mg FeCl₃.6H₂O yang dilarutkan dengan aquades hingga 100 mL. Setelah itu, dicampurkan 25 mL larutan pertama, dan 2,5 mL larutan kedua dan ketiga lalu dilarutkan dengan aquades hingga 100 mL.

Uji Ekstrak

Uji ekstrak dilakukan dengan 0,02 gram ekstrak batang brotowali, yang dicampurkan dengan 10 mL etanol, lalu diencerkan dengan

konsentrasi 5, 10, 15, dan 20 µg/mL. Masing - masing diambil sebanyak 1 mL kemudian dicampur dengan larutan FRAP sebanyak 3 mL, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 594 nm. Selain itu, sebagai pembanding dibuat juga larutan standar Trolox. Larutan Trolox dibuat dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25, dan 30 µg/mL melalui proses yang sama dengan sampel.

Perhitungan nilai IC₅₀

Hasil absorbansi masing – masing metode dikumpulkan, kemudian diolah kedalam bentuk kurva menggunakan *graphpad prism* 10 dengan konsentrasi ekstrak sebagai sumbu x dan persentase inhibisi sebagai sumbu y. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus dibawah ini:

$$\begin{aligned} & \text{Persentase Inhibisi (\%)} \\ &= \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100 \end{aligned}$$

HASIL

Hasil Uji Metode DPPH

Tabel 1. Kapasitas antioksidan ekstrak metode DPPH

Konsentrasi (µg/mL)	Rerata Absorbansi	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
100	0.227	45.43	245.95
200	0.216	48.07	
300	0.199	52.16	
400	0.185	55.52	
500	0.18	56.73	
600	0.155	62.74	

Pada uji dengan metode DPPH, menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak sebesar 245.95 µg/mL dan IC₅₀ trolox sebesar 20.32 µg/mL.

Hasil Uji Metode ABTS

Tabel 2. Kapasitas antioksidan ekstrak metode ABTS

Konsentrasi (µg/mL)	Rerata Absorbansi	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
10	0.383	6.81	38.63
20	0.319	22.38	
30	0.258	37.22	
40	0.198	51.82	

Pada uji metode ABTS, nilai IC₅₀ ekstrak didapatkan sebesar 38.63 µg/mL dengan IC₅₀ trolox sebesar 13.266 µg/mL.

Hasil Uji Metode FRAP

Tabel 3. Kapasitas antioksidan metode FRAP

Konsentrasi (µg/mL)	Rerata Absorbansi	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
---------------------	-------------------	--------------	--------------------------

10	0.14	32.14	
15	0.181	47.51	
20	0.232	59.05	17.08
25	0.287	66.89	
30	0.381	75.06	

Metode FRAP menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak sebesar 17.08 dengan IC_{50} trolox sebesar 10.54 $\mu\text{g/mL}$.

DISKUSI

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak batang brotowali memiliki kapasitas antioksidan yang signifikan, meskipun kekuatannya bervariasi bergantung pada metode uji yang digunakan. Nilai IC_{50} pada uji DPPH mengindikasikan aktivitas antioksidan lemah⁸, temuan ini selaras dengan laporan Khoirunnisa (2022)⁽⁹⁾ yang mendapatkan IC_{50} sebesar 195,34 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan pelarut metanol. Namun, terdapat perbedaan dengan temuan Irawan et al. (2022)¹⁰, yang melaporkan IC_{50} lebih tinggi (581–631 mg/L) dengan pelarut etanol 70%, hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh perbedaan kepolaran pelarut, metanol cenderung lebih polar jika dibandingkan dengan etanol karena memiliki konstanta dielektrik yang

lebih tinggi⁽¹¹⁾, sehingga lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa fenolik yang bersifat polar, senyawa utama yang diketahui berkontribusi pada aktivitas antioksidan ekstrak batang brotowali.²

Sebaliknya, hasil uji ABTS menunjukkan bahwa ekstrak memiliki kapasitas antioksidan yang sangat kuat.⁸ Hasil ini konsisten dengan Samappito et al. (2021)¹² yang melaporkan IC_{50} sebesar 32,54 $\mu\text{g/mL}$. Sensitivitas tinggi metode ABTS terhadap senyawa hidrofilik maupun lipofilik dan waktu reaksinya yang cepat¹³ menjelaskan mengapa aktivitas terdeteksi lebih tinggi dibandingkan DPPH, dan mendukung bukti bahwa ekstrak batang brotowali mengandung beragam metabolit sekunder, termasuk flavonoid dan fenolik, yang berperan besar dalam menetralkan radikal bebas.

Pengujian FRAP memperkuat temuan ini, dengan nilai IC_{50} sebesar 17,08 $\mu\text{g/mL}$ yang menunjukkan kemampuan reduktif sangat tinggi. Hasil ini sejalan dengan korelasi yang dilaporkan Muflihah et al. (2021)¹⁴, bahwa total fenolik dan flavonoid berhubungan erat dengan kapasitas

reduksi ion Fe^{3+} . Perbedaan dengan hasil Samappito et al. (2021)¹², yang melaporkan kapasitas sedikit lebih rendah, kemungkinan dipengaruhi oleh faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman seperti kelembaban, cahaya, *pH* tanah dapat memengaruhi produksi metabolit sekunder. Selain itu, semakin tinggi stres lingkungan yang didapatkan tanaman, maka produksi metabolit sekundernya akan semakin tinggi.¹⁵

Secara keseluruhan, hasil penelitian menegaskan bahwa batang brotowali memiliki kapasitas antioksidan yang kuat, terutama melalui mekanisme transfer elektron yang dominan pada senyawa fenolik dan flavonoid. Hal ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menekankan peran batang brotowali sebagai sumber antioksidan alami potensial.²

KESIMPULAN

Ekstrak batang *Tinospora crispa* terbukti memiliki kapasitas antioksidan yang signifikan, dengan aktivitas reduktif yang tinggi berdasarkan uji FRAP, serta kemampuan penetralan radikal yang

sangat kuat pada uji ABTS. Sementara itu, nilai IC_{50} yang relatif tinggi pada uji DPPH menunjukkan bahwa senyawa polar, terutama fenolik dan flavonoid, berperan dominan dalam aktivitas antioksidan ekstrak ini. Temuan ini konsisten dengan penelitian terdahulu dan menegaskan potensi *T. crispa* sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk pencegahan stres oksidatif dan penyakit degeneratif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan artikel ini. Ucapan terima kasih khusus disampaikan kepada para pembimbing atas arahan dan masukan yang berharga, kepada institusi tempat penelitian dilaksanakan atas fasilitas yang diberikan, serta kepada seluruh responden dan rekan yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ridiанти T, Wardhani HAK,

- Octavianus C. Identifikasi tumbuhan berkhasiat obat di Kelurahan Ulak Jaya, Kabupaten Sintang, Kalimantan Barat. *Edumedia: Jurnal Keguruan dan Ilmu Pendidikan*. [Internet]. 2022;6(1).
2. Ahmad W, Jantan I, Bukhari SNA. *Tinospora crisper* (L.) Hook. f. & Thomson: A review of its ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological aspects. *Front Pharmacol*. 2016 Mar 21;7(MAR).
 3. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017.
 4. Sari FN, Sari Y. Antioxidant activity test on Indonesian typical fruit peel waste. *J Analis Farmasi*. 2023;8(1):53-60.
 5. Theafelicia Z, Wulan SN. Perbandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS dan FRAP) pada teh hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian* [Internet]. 2023;24(1):35–44. Available from: <https://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/download/1206/1123/578> [9 JTP](https://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/download/1206/1123/578)
 6. Putri AK, Susanto L, Iswardjono DOA, et al. Pengaruh pelarut metanol dan etanol terhadap kadar flavonoid total ekstrak kulit pohon waru (*Hibiscus tiliaceus* L.). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2023;5(2).
 7. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 25;22(7):3380.
 8. Marsden S B. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958 Apr 26;181:1199–200.
 9. Luqyana Khoirunnisa. Analisis senyawa flavonoid batang brotowali (*tinospora crisper*) sebagai antioksidan dengan metode DPPH [Skripsi]. [Malang]: Universitas Negeri Malang; 2022.
 10. Irawan C, Putri ID, Sukiman M, Utami A, Ismail, Putri RK, et al. Antioxidant Activity of DPPH, CUPRAC, and FRAP Methods, as well as Activity of Alpha-

- Glucosidase Inhibiting Enzymes from *Tinospora crispa* (L.) Stem Ultrasonic Extract. *Pharmacognosy Journal*. 2022 Sep 1;14(5):511–20.
11. Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2018 Dec;7(4):213–22.
12. Samappito W, Jorjong S, Butkhup L. Flavonoids and phenolics contents, antioxidant and antibacterial potential of folk medicinal plants used in northeastern Thailand. *Research Journal of Pharmacognosy*. 2021 Mar 1;8(3):51–65.
13. Reskita Cahyani D, Fitri Faradilla R, Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Univeristas Halu Oleo Kendari J. Evaluasi Metode In Vitro Pada Analisis Aktivitas Antioksidan Beberapa Buah Tropis: Studi Kepustakaan [Evaluation In Vitro Method Analysis In Antioxidant Activities of Some Tropical Fruits:A Review]. *J Sains dan Teknologi Pangan (JSTP)*. 2020;5(6):3465–80.
14. Muflihah YM, Gollavelli G, Ling YC. Correlation Study of Antioxidant Activity with henolic and Flavonoid Compounds in 12 Indonesian Indigenous Herbs. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(10):1530.
15. Isah T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biol Res*. 2019 Jul 29;52(39).