



## **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BROKOLI (*BRASSICA OLERACEA*) PADA BEBERAPA DURASI PEREBUSAN DENGAN METODE DPPH (1,1-DIPHENIL-2-PICRYLHYDRAZIL)**

**Henny Erina Saurmauli Ompusunggu<sup>1✉</sup>, Helena Patresia Siahaan<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup>Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen  
ompusunggu.henny@gmail.com

### **Abstrak**

Radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan stres oksidatif yang memicu berbagai penyakit seperti kanker, diabetes, dan penuaan dini. Antioksidan berperan penting untuk menetralkan radikal bebas, salah satunya terdapat pada brokoli (*Brassica oleracea*). Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium murni dengan melakukan pengamatan aktivitas antioksidan dari ekstrak sari murni brokoli pada beberapa durasi penyajian perebusan dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm. Uji kualitatif dilakukan dengan pemeriksaan flavonoid dan uji kuantitatif dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan dilakukan 3 kali pengulangan. Sayur brokoli terbukti mengandung senyawa antioksidan dengan uji flavonoid positif dengan ditandai perubahan warna dari merah bata menjadi orange. Nilai IC<sub>50</sub> sayur brokoli dengan penyajian perebusan dengan durasi 2 menit (363 ppm), durasi 4 menit (337 ppm), dan durasi 6 menit (304 ppm). Aktivitas antioksidan sayur brokoli pada penyajian perebusan dengan durasi 2 menit dikategorikan lemah, durasi 4 menit dikategorikan lemah, dan durasi 6 menit dikategorikan lemah.

**Kata Kunci:** Radikal bebas, sayur brokoli, antioksidan, flavonoid

### **Abstract**

Excess free radicals can cause oxidative stress that triggers various diseases such as cancer, diabetes, and premature aging. Antioxidants play an important role in neutralizing free radicals, one of which is found in broccoli (*Brassica oleracea*). This study uses a pure laboratory experimental method by observing the antioxidant activity of broccoli pure juice extract at several boiling cooking durations with concentrations of 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm. Qualitative tests were carried out by flavonoid examination and quantitative tests by the DPPH method using a UV-Vis spectrophotometer with 3 repetitions. Broccoli vegetables are proven to contain antioxidant compounds with a positive flavonoid test marked by a color change from brick red to orange. IC<sub>50</sub> values of broccoli vegetables with boiling serving with a duration of 2 minutes (363 ppm), a duration of 4 minutes (337 ppm), and a duration of 6 minutes (304 ppm). The antioxidant activity of broccoli vegetables in the serving of stew with a duration of 2 minutes was categorized as weak, the duration of 4 minutes was categorized as weak, and the duration of 6 minutes was categorized as weak.

**Keywords:** Free radicals, broccoli vegetables, antioxidants, flavonoids

## PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbit terluarnya, dan tidak stabil serta sangat reaktif.(Pratama and Busman, 2020) Menyebabkan stres oksidatif yang akan mengakibatkan berbagai penyakit seperti neurodegeneratif, diabetes, penyakit kardiovaskular, penuaan dini, dan bahkan kanker(Arnanda and Nuwarda, 2019) (Yuslianti, 2017). Beberapa radikal bebas bisa berasal dari luar tubuh dan bisa juga terbentuk di dalam tubuh. Di dalam tubuh terjadi pembentukan radikal bebas dari sisa metabolisme, dalam mitokondria terjadi fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan energi pada sisa metabolisme yaitu ROS (reactive oxygen species) ini dapat dinetralkan oleh antioksidan.(Wibawa, Wati and Arifin, 2020) Antioksidan diproduksi secara alami di dalam tubuh (antioksidan endogen) dan ada pula yang berasal dari luar tubuh (antioksidan eksogen).

Antioksidan alami yang terdapat dalam tubuh (endogen) berupa enzim contohnya katalase, peroksidase, glutathione, dismutase serta superoksida(Adiprahara Anggarani, Ilmiah and Nasyaya Mahfudhah, 2023). Antioksidan dari luar tubuh/antioksidan eksogen bisa bersumber dari buah-buahan, sayur-sayuran, atau kacang-kacangan.(Nurkhasanah *et al.*, 2023) Salah satu sayur yang mengandung antioksidan ialah brokoli (*brassica oleracea*), kelompok tanaman kubis yang banyak mengandung mikronutrien antara lain adalah flavonoid, fenol, vitamin E, zat besi serta kalsium.(A, 2020) (Fitriana and Frisella, 2024)

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian murni eksperimental di laboratorium yang dilakukan di laboratorium dengan mengamati aktivitas antioksidan dan pemeriksaan flavonoid pada sayur brokoli (*Brassica oleracea*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).(Marthen, Mariwy and Untailawan, 2023) Penelitian ini dilaksanakan 9 september – 27 september 2024.

Dalam penelitian ini menggunakan sampel ekstrak murni brokoli (*Brassica oleracea*) dengan beberapa durasi perebusan dilakukan 3 kali pengulangan dengan mengukur serapan maksimum larutan DPPH kemudian mencari operating time untuk menentukan lama waktu pengukuran stabil sampel dalam mereduksi radikal bebas DPPH selama 30 menit.(ÖZER, 2021)

## Instrumen Penelitian

### Alat

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini ialah bola hisap, kertas saring, kertas perkamen, gelas ukur, corong gelas, juice extractor, beaker glass, batang pengaduk, aluminium foil, labu ukur 5 mL; 25 mL; 100 mL, spuit 1 mL; 3 mL, serbet, panci listrik goto electric multifunction minipan HOPO, spektrofotometri UV-Vis, cawan, spatula, tisu, pipet tetes, neraca analitik, matt pipet.(Ompusunggu and Daeli, 2024)

### Bahan

Bahan yang dipakai pada pengujian ini ialah air panas mendidih, bubuk magnesium, amyll alkohol, HCl pekat, etanol p.a (pro analisis), methanol p.a, larutan DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl), ekstrak sari murni sayur brokoli (*Brassica oleracea*).



**Gambar 1.** Pembuatan ekstrak murni brokoli

## Klasifikasi Antioksidan

Menurut lung dan destiani (2017) klasifikasi antioksidan IC<sub>50</sub> dibagi menjadi:<50 ppm (sangat kuat) 50-100 ppm (Kuat), 100-250 ppm (Sedang), 250-500 ppm (Lemah), > 500 ppm (sangat lemah) (Ifa Nurkhasanah, 2022)(Susiloningrum and Mugita Sari, 2021). Besarnya % peredaman DPPH dapat dihitung dengan:

$$\% \text{ Peredaman DPPH} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100$$

Keterangan:

Akontrol = Absorbansi tidak mengandung sampel

Asampel = Absorbansi sampel

### Prosedur Kerja

1. Mengurus surat izin penelitian dilaboratorium farmasi analisis USU
2. Pencarian sayur brokoli di swalayan dan di pasar tradisional.
3. Pembelian sayur brokoli yang berwarna hijau dan segar
4. Pembersihan sayur brokoli yang harus bebas dari kotoran, hama, dan ulat yang bersembunyi di sela brokoli sehingga harus di rendam menggunakan air hangat selama 10 menit dan di bilas dengan air yang mengalir setelah itu ditiriskan.
5. Persiapan sampel:
  - a. Penyajian Mentah : sayur brokoli yang sudah dibersihkan, ditiriskan kemudian dipotong beberapa bagian dan dihaluskan dengan *juice extractor*, ditimbang 500 gram.
  - b. Penyajian rebus: timbang terlebih dahulu sayur brokoli sebanyak 500 gram, potong sayur brokoli hingga beberapa bagian lalu masuk ke dalam air yang mendidih dengan suhu (100°C).
  - c. Pembuatan maserasi: sayur brokoli yang sudah di rebus menggunakan suhu (100°C) lalu dicampurkan dengan etanol setelah itu sampel dihaluskan menggunakan *juice extractor*, kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dan direndam dengan etanol dengan waktu 2 kali 24 jam dengan sesekali diaduk. Setelah itu saring menggunakan kertas saring dicawan lalu diuapkan hingga sedikit mengering tunggu selama 3 menit untuk mendapatkan filtratnya
6. Pembuatan ekstrak etanol brokoli oleh peneliti dan tim laboratorium Farmasi Analisis USU. Setelah mendapatkan filtratnya lalu dimasukkan ke dalam labu ukur yang gelap dan tertutup agar kadar antioksidan tidak teroksidasi dengan cepat sebanyak 0,5 ml.
7. Uji flavonoid:

Campurkan 0,2 g logam Mg ke dalam 15 mL ekstrak etanol brokoli lalu ditetesi 2 tetes HCl pekat dan 3 tetes amy alkohol dan diaduk dengan kuat, jika terdapat perubahan warna kuning jingga atau merah jingga menunjukkan adanya flavonoid.
8. Uji aktivitas antioksidan:
  - a. Pembuatan LIB I DPPH dengan konsentrasi 200 ppm  
Sebanyak 20 mg DPPH timbang ke dalam labu ukur 100ml, dengan metanol dilarutkan dan cukup sampai garis tanda. Dan homogenkan sehingga memperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm.
  - b. Pembuatan LIB II DPPH dengan konsentrasi 40 ppm  
Sebanyak 5 ml diambil larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm, dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, lalu ditambahkan metanol hingga garis tanda dan homogenkan (konsentrasi 40 ppm).
  - c. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH  
Larutan DPPH sebanyak 40 ppm konsentrasi yang dimasukkan ke dalam kuvet ditempatkan pada spektrofotometer UV-Vis, pada gelombang 400-800 nm.
  - d. Penentuan waktu kerja (*operating time*)  
Larutan DPPH untuk konsentrasi 40 ppm masukkan ke dalam kuvet dan serapannya lalu diukur setiap menit selama 60 menit pada panjang gelombang 516 nm dan akan diamati waktu ketika larutan mulai menunjukkan serapan stabil, akan digunakan sebagai pengukuran waktu kerja (*operating time*) untuk prosedur selanjutnya.
  - e. Pembuatan LIB sampel uji  
Terdapat 25 mg masing-masing ekstrak yang ditimbang lalu dilarutkan ke dalam masing-masing labu ukur 25 mL dengan metanol dan volumenya dicukupkan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm).
9. Uji aktivitas perendaman radikal bebas ekstrak etanol sayur brokoli  
Larutan induk akan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dengan dipipet sebanyak 0,5 ml; 1 ml; 1,25 ml; 1,5 ml (untuk memperoleh konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm), kemudian menambahkan 1 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 200 ppm ke masing-masing labu ukur kemudian dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda, diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
10. Mencatat hasil spektrofotometer dan melakukan konsultasi dari hasil pengolahan data dengan tenaga ahli untuk mendapat nilai IC50 dari setiap sampel.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Berdasarkan hasil penelitian bahwa penambahan pereaksi seperti bubuk Magnesium yang dapat mereduksi senyawa flavonoid kemudian pereaksi amyl alkohol dan HCl pekat akan menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon sehingga terbentuk buih dengan intensitas yang banyak serta terjadi perubahan warna menjadi orange dari terbentuknya garam (Anugrah P.M.D.Kamoda1, Maria Nindatu2, 2021) (Suharyanto and Prima, 2020) (Nurmila, Sinay and Watuguly, 2019).

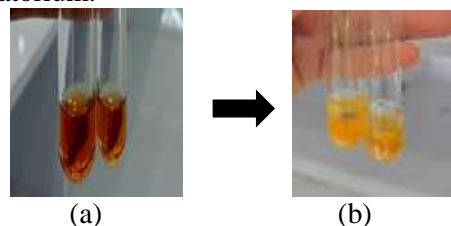
Pada uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrometri UV-Vis diperoleh hasil terbaik pada konsentrasi 500 ppm dengan durasi perbusan 5 menit didapati hasil nilai absorbansi 0,20 mg ak/L dan % peredaman sebesar 70,06 %. Hal ini menunjukkan kemampuan antioksidan yang terkandung dalam tomat dapat meredam 70,06% dari total radikal bebas. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> tomat pada durasi perbusan 2 menit (363 ppm), menit ke 4 (337 ppm) dan menit ke 6 (304 ppm). Hasil terbaik diperoleh pada perebusan brokoli menit ke 6 dengan aktivitas antioksidan kategori lemah. Dari hasil ini menunjukkan bahwa perbedaan waktu dan suhu perebusan (Mahardani and Yuanita, 2021).

Proses perebusan merupakan pengolahan sederhana yang banyak dilakukan, dengan teknik perebusan dapat membantu memecahkan dinding sel dan struktur jaringan tanaman. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yuliani dkk, menyatakan bahwa untuk senyawa fenol dapat terdegradasi akibat pemanasan dengan durasi 5 menit pada suhu 100°C (Aisyah, Rasdiansyah and Muhaimin, 2014) (Mahardani and Yuanita, 2021). Ketika dipanaskan melalui proses perebusan, suhu panas dari air yang mendidih akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan membran plasma, sehingga air perebusan yang masuk ke dalam dinding sel dapat membuat pengurangan terhadap senyawa fenol, yang secara umum diketahui tidak tahan terhadap suhu tinggi, yaitu 100°C (Šola *et al.*, 2023).

**Hasil Penelitian**

Berdasarkan hasil uji flavonoid pada brokoli secara kualitatif dengan menambahkan prekasi bubuk magnesium, HCl pekat dan amyl alkohol pada brokoli terjadi adanya perubahan warna dari merah bata menjadi orange yang yang menyatakan positif mengandung flavonoid (Lutfiyati *et al.*, 2017).

Berikut gambar hasil uji flavonoid yang menampilkan perubahan warna secara aktual di laboratorium.



Gambar 1. Hasil uji flavonoid

**Tabel 1. Data Uji Flavonoid**

Sampel	Uji Flavonoid Kualitatif	Pereaksi	Perubahan Dengan Pereaksi	Hasil Uji
Flavonoid Sayur Brokoli	Fotokimia	Mg + HCl Pekat + Amyl Alkohol	Merah bata → Orange	+

Pada uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrometri UV-Vis diperoleh hasil terbaik pada konsentrasi 500 ppm dengan durasi perbusan 6 menit didapati hasil nilai absorbansi 0,320 mg/L dan % peredaman sebesar 70,06 %. Hal ini menunjukkan kemampuan antioksidan yang terkandung dalam tomat dapat meredam 70,06 % dari total radikal bebas. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> brokoli pada durasi perbusan 2 menit (363 ppm), menit ke 4 (337 ppm) dan menit ke 6 (304 ppm). Hasil terbaik diperoleh pada perebusan tomat menit ke 6 dengan aktivitas antioksidan kategori lemah.

Berikut tabel hasil pengujian penelitian di bawah ini:

**Tabel 2. Nilai IC<sub>50</sub>**

Durasi (menit) ke	Nilai IC <sub>50</sub>	Rata-Rata nilai IC <sub>50</sub>	Kategori
2	340 ppm	363 ppm	Lemah
	370 ppm		
	380 ppm		
4	347 ppm	337 ppm	Lemah
	330 ppm		
	335 ppm		
6	275 ppm	304 ppm	Lemah
	347 ppm		
	291 ppm		

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan mengenai aktivitas antioksidan brokoli (*Brassica oleracea*) pada beberapa durasi perebusan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazil), dapat disimpulkan bahwa brokoli pada uji flavonoid terkandung senyawa antioksidan yang ditandai positif flavonoid. Brokoli yang direbus dengan durasi 6 menit memiliki aktivitas antioksidan sedikit lebih baik dari perebusan 2-3 menit.

## DAFTAR PUSTAKA

- A, I.R.S. (2020) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Brokoli ( *Brassica oleracea* L . Var *Italica* ) Dengan Metode DPPH antioxidant activity Assay of Ethanol Extract Broccoli ( *Brassica oleracea* L . Var *Italica* ) by DPPH Method ( 2 , 2 diphenyl-1- picrylhidrazyl', (November), pp. 230–241.
- Adiprahara Anggarani, M., Ilmiah, M. and Nasyaya Mahfudhah, D. (2023) 'Antioxidant Activity of Several Types of Onions and Its Potensial as Health Supplements', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(1), pp. 103–111.
- Aisyah, Y., Rasdiansyah, R. and Muhaimin, M. (2014) 'Pengaruh Pemanasan terhadap Aktivitas Antioksidan pada Beberapa Jenis Sayuran', *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 6(2), pp. 0–4. Available at: <https://doi.org/10.17969/jtipi.v6i2.2063>.
- Anugrah P.M.D.Kamoda1, Maria Nindatu2, I. (2021) 'Uji aktivitas antioksidan alga cokelat *saragassum* sp. dengan metode 1,1- difenil-2-pikrihidrasil (dpph)', *Patimura Medical Review*, 3(April), pp. 60–72.
- Arnanda, Q.P. and Nuwarda, R.F. (2019) 'Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M Dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker', *Farmaka Suplemen*, 14(1), pp. 1–15.
- Fitriana, N. and Frisella, E. (2024) 'PENGARUH TEKNIK PENGOLAHAN TERHADAP MUTU BROKOLI The Influence of Processing Techniques to Quality Broccoli Plants', 10(2), pp. 136–146.
- Ifa Nurhasanah (2022) 'Analisis Kandungan Vitamin C dan Zat Besi (Fe) Pada Brokoli (*Brassica Oleracea* Var. *Italica*)', *Journal of Health Educational Science And Technology*, 5(2), pp. 75–82. Available at: <https://doi.org/10.25139/htc.v5i2.4751>.
- Lutfiyati, H. et al. (2017) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica Oleracea* L Var *Italica*)', *Urecol*, pp. 93–98.
- Mahardani, O.T. and Yuanita, L. (2021) 'Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan', *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), pp. 64–78. Available at: <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n1.p64-78>.
- Marthen, K.B., Mariwy, A. and Untailawan, R. (2023) 'Kajian Kinerja Spektrofotometri Uv-Vis Pada Analisis Spesi Iodium Dalam Garam Konsumsi', *Molluca Journal of Chemistry Education (MJoCE)*, 13(2), pp. 64–73.
- Nurkhasanah, M.A. et al. (2023) *Antioksidan dan Stres Oksidatif*.
- Nurmila, Sinay, H. and Watuguly, T. (2019) 'Identifikasi dan Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Getah Angsana ( *Pterocarpus indicus* Willd )', *Jurnal Biopendix*, 5(2), pp. 65–71.
- Ompusunggu, H.E.S. and Daeli, P.M. (2024) 'Aktivitas antioksidan dari sayur pakcoy (*brassica rapa* subsp. *chinensis*) berbagai jenis tanam menggunakan metode dpph', *Jurnal Ners*, 8(1), pp. 728–733.
- ÖZER, Ç. (2021) 'Influence of Different Cooking Methods on Bioactive Properties of Broccoli', *International Journal of Contemporary Tourism Research*, 5, pp. 69–76. Available at: <https://doi.org/10.30625/ijctr.785266>.
- Pratama, A.N. and Busman, H. (2020) 'Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max* L) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), pp. 497–504. Available at: <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.333>.
- Šola, I. et al. (2023) 'Effect of Hot- and Cold-Water Treatment on Broccoli Bioactive Compounds, Oxidative Stress Parameters and Biological Effects of Their Extracts', *Plants*, 12(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/plants12051135>.
- Suharyanto, S. and Prima, D.A.N. (2020) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode

- Spektrofotometri UV-Vis', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), pp. 110–119. Available at: <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.89>.
- Susiloningrum, D. and Mugita Sari, D.E. (2021) 'Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga ( Curcuma Mangga Valetton & Zijp ) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), pp. 117–127. Available at: <https://doi.org/10.31596/cjp.v5i2.148>.
- Wibawa, J.C., Wati, L.H. and Arifin, M.Z. (2020) 'Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik', *JOSSAE: Journal of Sport Science and Education*, 5(1), p. 57. Available at: <https://doi.org/10.26740/jossae.v5n1.p57-63>.
- Yuslianti, E.R. (2017) 'Pengantar radikal bebas dan antioksidan', in *Pengantar radikal bebas dan antioksidan. pertama*. Yogyakarta, pp. 104–108.