

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN INHIBITOR NITRIT OKSIDA  
EKSTRAK ETANOL KULIT BIJI KACANG HIJAU (*Vigna radiata* L.)**

***ANTIOXIDANT ACTIVITY AND NITRIC OXIDE INHIBITION OF ETHANOL  
EXTRACT FROM MUNG BEAN (*Vigna radiata* L.) SEED COAT***

**Suryani<sup>1\*</sup>, Rizanty Amalia<sup>1</sup>, Julia Rahma Fajriati<sup>1</sup>, Yudhistira Eko Febrianto<sup>1</sup>, Retno  
Nuur Aziizah<sup>1</sup>, Mutia Ghaida Kahla<sup>1</sup>, Rd. Isma Zikra Hanifa<sup>1</sup>, Inayat Syahra Anjali<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi,  
Indonesia

\*Corresponding author email: suryani@lecture.unjani.ac.id

**Abstrak**

Kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) saat ini tidak dimanfaatkan dan menjadi limbah sisa produksi makanan, salah satunya sebagai limbah dari tauge. Kulit biji kacang hijau diketahui kaya akan flavonoid sehingga besar peluang untuk memanfaatkan limbah menjadi salah satu komponen yang baik untuk kesehatan tubuh yaitu sebagai sumber antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan potensi inhibisi nitrit oksida dari ekstrak etanol kulit biji kacang hijau. Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi menggunakan etanol 96% dengan rendemen sebesar 0,9947%. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), sedangkan potensi inhibisi nitrit oksida diukur melalui penguraian SNP menjadi NO yang diukur dengan pereaksi Griess. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit biji kacang hijau memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 91,36 µg/mL terhadap radikal bebas DPPH. Selain itu, ekstrak juga menunjukkan kemampuan yang signifikan dalam menghambat pembentukan nitrit oksida dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 88,05 µg/mL. Aktivitas ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak, terutama vitexin dan luteolin. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol kulit biji kacang hijau berpotensi sebagai sumber antioksidan alami dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk pencegahan penyakit degeneratif terkait stres oksidatif.

**Kata kunci** : antioksidan, dpph, nitrit oksida, *Vigna radiata* (L.)

**Abstract**

*Mung bean (*Vigna radiata* L.) seed coats are currently underutilized and become waste from food production, including as a waste product of bean sprouts. Mung bean seed coats are known rich in flavonoids compound. It was presenting a significant opportunity to utilize this waste as a beneficial component for human health as antioxidant. This study aimed to evaluate the antioxidant activity and potential nitric oxide inhibition of ethanol extracts from mung bean seed coats. The extract was obtained through maceration using 96% ethanol, yielding 0.9947%. Antioxidant activity was assessed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, while nitric oxide inhibition potential was measured through the decomposition of SNP into NO, quantified using Griess reagent. Results*

*showed that the ethanol extract of mung bean seed coats exhibited strong antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> 91.36 µg/mL against DPPH free radicals. Additionally, the extract demonstrated significant ability to inhibit nitric oxide formation with an IC<sub>50</sub> 88.05 µg/mL. This activity is likely related to the flavonoid content in the extract, particularly vitexin and luteolin. These findings indicate that the ethanol extract of mung bean seed coats has potential as a natural antioxidant source and could be further developed for the prevention of degenerative diseases associated with oxidative stress.*

**Keywords:** *antioxidant, dpph, nitrite oxide, Vigna radiata (L.)*

## PENDAHULUAN

Penuaan didefinisikan sebagai proses penurunan fungsi fisiologis secara bertahap yang berpengaruh terhadap kesehatan dan penurunan kualitas hidup individu, sehingga dapat mengakibatkan mortalitas dan morbiditas (Chen *et al.* 2021). Penuaan menjadi salah satu kontributor utama yang berkaitan erat dengan patofisiologi beberapa penyakit degeneratif kronis seperti diabetes melitus, alzheimer, parkinson, aterosklerosis, infark miokard, stroke, dan gagal jantung (Cruz-Almeida *et al.* 2019). Berdasarkan data WHO pada tahun 2020, tingkat kematian akibat penyakit degeneratif di Indonesia mencapai 73% dari total populasi (World Health Organization 2020). Pada tahun 2018 prevalensi penyakit tidak menular di Indonesia mengalami peningkatan sejak tahun 2013 yaitu sebesar 34,1% untuk hipertensi; 10,9% untuk stroke; 8,5% untuk diabetes; 3,8% untuk gagal ginjal; dan 1,8 % untuk penyakit kanker. Program pemerintah saat ini adalah menurunkan prevalensi penyakit degeneratif (Kemenkes RI, 2018), Oleh karena itu, peningkatan pola hidup sehat dapat menjadi cara untuk meningkatkan taraf kesehatan penduduk Indonesia. Penggunaan suplemen kesehatan yang

bersifat *anti-aging* yang kaya akan antioksidan adalah salah satu strategi mencegah penyakit degeneratif akibat penuaan, karena dapat mencegah kerusakan sel dan organ penyusun tubuh. Hal tersebut diharapkan akan menekan angka mortalitas serta prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia.

Antioksidan merupakan zat yang dapat melindungi sistem biologis dari toksisitas radikal bebas melalui penghambatan reaksi oksidasi, sehingga mencegah terjadinya kondisi stres oksidatif yang berakhir dengan penuaan sel. Stress oksidatif merupakan suatu kondisi yang terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas dapat diklasifikasikan menjadi Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dan Spesies Nitrogen Reaktif (RNS) (Agarwal and Majzoub, 2017). ROS dapat bereaksi dengan Nitric Oxide (NO) yang dapat menyebabkan disfungsi endotel. NO cepat berinteraksi dengan banyak ROS lain, terutama O<sub>2</sub><sup>-</sup>, untuk menghasilkan ONOO<sup>-</sup> dan menyebabkan peningkatan produksi RNA dapat menyebabkan stress nitrosative dan mengganggu fungsi fisiologis normal tubuh. Nitric oxide (NO) adalah radikal RNS. Target

antioksidan didalam tubuh adalah mampu menghambat ROS dan RNS (Gulcin, 2020)

Berdasarkan sumbernya antioksidan terdiri dari antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan alami yang dihasilkan oleh tubuh secara intraseluler maupun ekstraseluler, seperti *superoxide dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* (GPx) dan *Catalase* (Cat). Untuk memenuhi kebutuhan jumlah antioksidan tubuh dalam menangkal radikal bebas tubuh memerlukan antioksidan tambahan dari luar tubuh yang disebut antioksidan eksogen (Ardalan 2014).

Antioksidan eksogen dapat berasal dari antioksidan alami yang berasal dari hewan atau tumbuhan. Penggunaan bahan alam dan obat tradisional di Indonesia semakin digemari masyarakat. Indonesia dikenal sebagai negara tropis yang kaya akan sumber daya alam dan biodiversitas hayati yang tinggi, banyak tumbuhan khas Indonesia yang berpotensi dan dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami di Indonesia adalah kacang hijau (*Vigna radiata* (L.). R. Wilczek). Kacang hijau kaya akan kandungan polifenol dengan konstituen utama adalah asam fenolat, flavonoid, dan tannin. Hasil penelitian menunjukkan, ekstrak etanol dari biji kacang hijau memiliki kadar flavonoid total yang lebih besar dari daun (Singh *et al.* 2015).

Kacang hijau merupakan salah satu komoditi pangan nasional yang sudah banyak dikonsumsi oleh

masyarakat Indonesia dan banyak dibudidaya (Kepmentan RI 2020). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik pada tahun 2018, produksi kacang hijau di Indonesia terus meningkat dan mencapai 234,718 ton. Secara tradisional masyarakat Indonesia sering memanfaatkan biji kacang hijau sebagai bahan olahan pangan seperti isian kue, bubur kacang hijau, dan sayur (tauge). Saat ini, masyarakat memanfaatkan kulit biji kacang hijau sebagai campuran pakan ternak, industri tepung, dan adjuvan olahan panga. Hal ini menunjukkan bahwa kulit biji kacang hijau terutama yang terbuang dari tauge, belum dimanfaatkan secara optimal sehingga menjadi limbah dan terbuang (Handayani 2009).

Kulit biji kacang hijau memiliki potensi besar sebagai antioksidan dalam menghambat kondisi stress oksidatif sehingga dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kesehatan. Pada pengujian *in vivo* menunjukkan, pemberian ekstrak etanol biji kacang hijau dapat meningkatkan status antioksidan pada mencit dengan peningkatan aktivitas SOD, katalase, dan GPx di hati (Jang *et al.* 2014). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Hou *et al.* (2019) yaitu uji pada tikus yang diinduksi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), menunjukkan hidrolisat protein biji kacang hijau memiliki aktivitas antioksidan dengan menghambat pembentukan LDH, mengurangi kadar malonaldehid, meningkatkan tingkat *glutathione*, dan meminimalkan jumlah ROS dari 58,3% hingga 26,6% (Hou *et al.* 2019).

Pada penelitian ini mengembangkan potensi kulit biji kacang hijau yang berasal dari limbah taoge dimana memiliki kandungan fitokimia yang bermanfaat untuk tubuh yaitu flavonoid sebagai sumber antioksidan alami. Potensi yang dihasilkan oleh kulit biji kacang hijau dapat menjadi pilihan alternatif dalam upaya pencegahan terjadinya penyakit degeneratif akibat stres oksidatif dengan menjadi sumber antioksidan eksogen dengan memanfaatkan limbah makanan yang saat ini belum dikelola. Namun potensi dan mekanisme kerja antioksidan yang dimiliki oleh kulit biji kacang hijau sendiri belum diketahui maka perlu dilakukan pengujian secara ilmiah salah satunya dengan pembuktian aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas secara langsung yaitu melalui pengamatan aktivitas terhadap pencegahan pembentukan nitrit oksida (NO) melalui pendekatan NOS dan aktivitas terhadap radikal bebas 2,2-diphenyl - 1 - picrylhydrazyl (DPPH) dalam mencegah stres oksidatif.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit biji kacang hijau yang diperoleh dari petani taoge di Pasar Antri, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia. Pelarut ekstraksi yaitu etanol 96% (CV. Fadillah, Cimahi). Bahan uji aktivitas yaitu DPPH (Sigma), metanol (Mercks), sodium nitropusid (SNP) (Mercks), dapar fosfat (Mercks), asam klorida (HCl) (Mercks), natrium hidroksida (NaOH) (Mercks), kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Mercks),

asam sulfanilat ( $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ ) (Mercks), asam fosfat ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) (Mercks), N-(1-Napthil) etilendiamin dihidroklorid (NEDD), aquadest, *water for injection* (WFI).

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Biji Kacang Hijau**

Pembuatan ekstrak etanol kulit biji kacang hijau dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dimasukan 500 g simplisia yang telah menjadi serbuk ke dalam alat maserator dan ditambahkan 2,5 L etanol 96%. Direndam sambil sesekali diaduk pada 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Proses maserasi diulang sebanyak tiga kali dengan komposisi simplisia berbanding etanol 96% adalah 1:5. Dikumpulkan semua maserat dan diuapkan menggunakan alat penguap vakum putar (*Rotary evaporator*) hingga diperoleh ekstrak kental.

### **Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH**

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas 2,2-difenil-1-Pikril Hidrasil (DPPH) bertujuan untuk mengukur kapasitas antioksidan total sampel menggunakan spektrofotometri UV-sinar tampak. Prinsip pengujian adalah mengukur absorbansi larutan DPPH yang berisi sampel uji, kemudian dihitung aktivitas antioksidan dengan menghitung persentase peredaman, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH (Blois 1958, Liu *et al.* 2013). Pembanding yang digunakan adalah vitamin C yang diuji dengan konsentrasi 1-10  $\mu\text{g/mL}$  sedangkan ekstrak dibuat

dalam konsentrasi 10-100 µg/mL. Sampel uji dilarutkan dalam metanol dan direaksikan dengan DPPH 50 µg/mL dengan perbandingan volume 1:1. Campuran larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan tanpa cahaya. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm. Aktivitas antioksidan diukur sebagai persen penurunan absorbansi (abs) DPPH pada sampel uji yang dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

#### **Pengujian Inhibitor Nitrit Oksida (NOI)**

Pengujian sebagai inhibitor pembentukan nitrit oksida dilakukan dengan pembuatan larutan sampel konsentrasi 10-100 µg/mL dan menggunakan Vitamin C (1-10µg/mL) sebagai pembanding. Penghambatan NO diuji dengan menambahkan pada setiap konsentrasi uji (0,1 mL) dengan 0,1 mL larutan 10 mM natrium nitroprusside (SNP) dalam 20 mM buffer fosfat pH 7,4, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Nitrit oksida dihasilkan dari larutan sodium nitroprusside (SNP) berinteraksi dengan oksigen sehingga menghasilkan ion nitrit. Hasil direaksi dideteksi dengan penambahan reagen Griess (0,1 mL). Serapan kromofor NO kemudian diukur menggunakan microplate reader pada λ 540 nm. Aktivitas NOI diukur sebagai persen penurunan absorbansi (abs) SNP pada sampel uji yang dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas NOI (\%)} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

$$= \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

#### **Analisis Hasil**

Kekuatan suatu sampel dalam menghambat radikal bebas digambarkan dengan nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan dengan pembuatan kurva antara persentase penghambatan terhadap konsentrasi sampel melalui persamaan regresi liniernya (Quintans-Júnior *et al.* 2013).

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian limbah kulit dari biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) dari tauge.



**Gambar 1.** Kulit biji kacang hijau (*Vigna Radiata* (L.))

Kulit biji kacang hijau diperoleh dari Pasar Antri Cimahi, yang bertempat di Jalan Sriwijaya, Kota Cimahi, Jawa Barat. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 0,9947%. Berdasarkan hasil tersebut ditunjukkan bahwa senyawa dalam kulit biji kacang hijau yang tersari oleh pelarut sangat kecil sehingga diperlukan optimasi jenis pelarut dan metode ekstraksi yang dapat

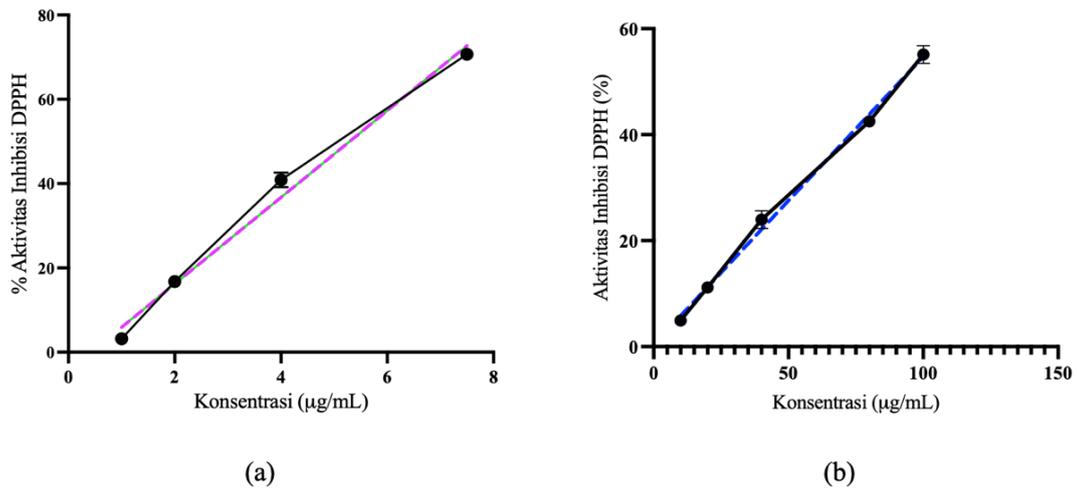
menarik kandungan senyawa dalam kulit biji kacang hijau secara lebih optimal melalui penggunaan pelarut yang memiliki perbedaan kepolaran, durasi ekstraksi dan penggunaan suhu ekstraksi pada berbagai kondisi (Dhanani *et al.* 2017). Komponen fitokimia utama yang terdapat dalam kacang hijau meliputi flavonoid (kuersetin, mirisetin, dan kaemferol) dan asam fenolat (asam galat) yang memiliki sifat semipolar (Jang *et al.* 2014, Hou *et al.* 2019).

Penapisan awal dalam penentuan aktivitas antioksidan ekstrak kulit biji kacang hijau dilakukan dengan metode DPPH. Hal tersebut dilakukan karena metode uji antioksidan terhadap DPPH adalah salah satu mekanisme yang diterima untuk memeriksa aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak tanaman. Dalam analisis DPPH, larutan DPPH berwarna ungu dan mengalami reaksi kolorimetri menjadi produk berwarna kuning yaitu reaksi yang didasarkan pada pengurangan elektron yang tidak berpasangan pada atom nitrogen oleh atom hidrogen dari antioksidan dan membentuk kelompok hydrazine kuning. Dengan metode ini, perubahan dalam penyerapan DPPH yang belum bereaksi dengan antioksidan dapat diukur. Metode ini telah banyak digunakan untuk memprediksi aktivitas antioksidan karena waktu yang relatif singkat yang dibutuhkan untuk analisis (Rahman *et al.* 2015).

Hasil uji aktivitas ekstrak etanol

kulit biji kacang hijau (Tabel 1 dan Gambar 1) terhadap radikal bebas DPPH memiliki aktivitas yang kuat karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 100  $\mu\text{g/mL}$  yaitu sebesar 89,10  $\mu\text{g/mL}$  ( $y=0,5625x-0,1237$ ,  $r=0,994$ ) yang didapat dengan replikasi sebanyak tiga kali. Sedangkan Vitamin C memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 5,24  $\mu\text{g/mL}$  ( $y=10,552x-5,3072$ ,  $r=0,997$ ). Aktivitas antioksidan yang dimiliki EVR tidak sekuat vitamin C namun untuk kategori ekstrak yang berasal dari tanaman EVR menunjukkan aktivitas yang kuat. Kulit pada biji kacang hijau mengandung senyawa polifenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian daging biji. Senyawa utama yang telah teridentifikasi dalam kulit biji kacang hijau adalah vitexin dan isovitexin (Cao *et al.* 2011). Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa dalam biji kacang hijau mengandung luteolin dan dari ekstrak aseton kulit biji kacang hijau memiliki aktivitas antioksidan total dengan penghambatan radikal bebas menggunakan metode DPPH sebesar  $86,31 \pm 0,57\%$  (Singh *et al.* 2017).

Kandungan senyawa flavonoid memiliki peranan penting terhadap aktivitas antioksidan terhadap DPPH yang ditunjukkan oleh EVR karena flavonoid adalah antioksidan alami yang kuat dan dapat secara efektif menetralkan radikal bebas seperti DPPH melalui donasi atom hidrogen, dengan



**Gambar 2.** Kurva regresi linier aktivitas inhibisi (a) vitamin C dan (b) ekstrak etanol kulit biji kacang hijau (EVR) terhadap radikal Bebas DPPH (n=3)

**Tabel 1.** Aktivitas terhadap radikal bebas DPPH

Sampel	Konsentrasi (µg/mL )	Absorbansi	% Aktivitas	IC <sub>50</sub>
Ekstrak Kulit Biji Kacang Hijau (EVR)	10	0,7013±0,0254	4,93±0,026	91,36 µg/mL
	20	0,6623±0,0285	11,17±0,88	
	40	0,5584±0,0130	23,95±1,65	
	80	0,4305±0,0280	42,51±1,08	
	100	0,3098±0,0371	58,37±1,68	
Vitamin C	1	0,7147±0,0266	3,14±0,01	5,24 µg/mL
	2	0,6177±0,0370	16,29±0,34	
	4	0,4427±0,0232	40,01±0,65	
	7,5	0,2042±0,0435	72,32±0,52	

n=3

aktivitas yang tergantung pada struktur kimia dan konsentrasi. Hasil uji menunjukkan peningkatan konsentrasi seiring dengan adanya peningkatan aktivitas terhadap penghambatan radikal bebas (Tsimogiannis and

Oreopoulou 2006).

Salah satu mekanisme antioksidan didalam tubuh adalah menghambat pembentukan radikal bebas nitrit oksida pada jalur RNS. Nitrit oksida (NO) adalah molekul reaktif

radikal bebas dan gas larut dalam air yang dapat melewati membran lipoprotein sel. NO adalah mediator pro-inflamasi yang berpartisipasi dalam berbagai proses fisiologis, oleh karena itu produksinya sangat penting untuk pemeliharaan tubuh. Namun, produksi NO yang berlebihan dapat menyebabkan Nitrit Oksida yang berperan sebagai radikal bebas dalam tubuh yang dapat berinteraksi dengan O<sub>2</sub> dan H<sup>+</sup>/H<sup>-</sup> membentuk peroksinitrit serta radikal hidrogen, sehingga menyebabkan kerusakan substansi dalam jaringan dan sel yang berujung pada penuaan sel.

Kerusakan jaringan dan mengaktifkan mediator pro-inflamasi yang terkait dengan peradangan akut dan kronis (Mfotie Njoya et al., 2017).

Hasil uji aktivitas EVR terhadap pembentukan ion nitrit oksida dari SNP (Tabel 2) menunjukkan potensi yang kuat karena mendapatkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 88,05 µg/mL ( $y = 0,2669x + 26,499$ ,  $r = 0,982$ ) sedangkan vitamin C sebesar 66,83% pada konsentrasi 1 µg/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase kadar ion nitrit yang terukur menunjukkan seberapa besar aktivitas sampel sebagai inhibitor NO.

**Tabel 2.** Aktivitas inhibitor nitrit oksida ekstrak etanol kulit biji kacang hijau

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	Kadar NO (%)	Aktivitas Inhibisi (NO) (%)	IC <sub>50</sub>
10	0,2979±0,0148	73,41±0,50	28,67	88,05 µg/mL
20	0,2924±0,0100	70,12±3,18	31,08	
40	0,2654±0,0299	60,20±9,07	39,79	
80	0,2420±0,0091	61,02±2,85	45,29	
100	0,2028±0,0371	56,32±4,19	54,40	

n=3

Hal ini diperkuat dengan adanya berbagai kandungan senyawa flavonoid yang terkandung dalam EVR yang dapat berperan sebagai antioksidan seperti mekanisme terhadap DPPH. Selain itu, salah satu mekanisme antioksidan didalam tubuh tidak terlepas dari peran enzim katalase sebagai antioksidan endogen yang dapat melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif dengan bekerja memecah hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ini secara langsung menghancurkan

menjadi O<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O (Nandi *et al.* 2019). Hasil pengujian menunjukkan EVR mampu menghambat radikal bebas NO secara kuat.

Vitexin dan luteolin, dua flavonoid yang kuat yang dimiliki dalam EVR, menunjukkan sifat antioksidan dan anti-inflamasi yang luar biasa melalui beberapa mekanisme yang secara efektif menghambat radikal bebas spesies nitrogen reaktif (RNS). Senyawa spesies oksigen reaktif (ROS) karena adanya gugus hidroksil pada cincin

flavonoid. Kandungan flavonoid dalam suatu tanaman meningkatkan pertahanan antioksidan alami tubuh dengan meningkatkan aktivitas enzim seperti superoxide dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroxidase (GPx), sementara juga mengatur protein respon antioksidan seperti Nrf2 (Al-Khayri *et al.* 2022). Selain itu, vitexin dan luteolin menghambat enzim pro-oksidasi seperti xanthine oxidase dan NADPH oksidase, mengurangi produksi ROS melalui aktivasi jalur sinyal MAPK untuk meningkatkan pertahanan antioksidan dan menghambat jalur inflamasi seperti NF- $\kappa$ B (Babaei *et al.* 2020). Adanya luteolin dalam EVR dapat membuat EVR mampu menghelat ion logam transisi mencegah generasi ROS (Almatroodi *et al.* 2024). Vitexin mampu menghancurkan oksida nitrat intracellular dan radikal peroksinitrit, dan luteolin menghalangi ekspresi sintase oksida nitrat (Babaei *et al.* 2020). Selain itu, penelitian menunjukkan flavonoid dalam suatu tanaman mampu melindungi komponen seluler dari kerusakan oksidatif dan mempertahankan fungsi mitokondria. Efek antioksidan vitexin dan luteolin sering ditingkatkan secara sinergis ketika dikombinasikan dengan antioksidan lain atau hadir dalam ekstrak tanaman, menjadikannya kombinasi yang kuat dalam memerangi stres oksidatif dan masalah kesehatan (Singh *et al.* 2017).

Pada pengujian *in vivo* menunjukkan, pemberian ekstrak etanol biji kacang hijau dapat meningkatkan status antioksidan pada mencit dengan

peningkatan aktivitas SOD, katalase, dan GPx di hati (Jang *et al.* 2014). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Xie *et al.*, 2020 yaitu uji pada tikus yang diinduksi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), menunjukkan biji kacang hijau memiliki aktivitas antioksidan dengan menghambat pembentukan LDH, mengurangi kadar malonaldehid, meningkatkan tingkat *glutathione*, dan meminimalkan jumlah ROS dari 58,3% hingga 26,6% (Xie *et al.* 2019).

## KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari kulit biji kacang hijau memiliki aktivitas dalam menangkal radikal DPPH secara kuat dan secara efektif menghambat produksi oksida nitrat. Hasil ini diduga dihasilkan dari kandungan senyawa flavonoid yang terkandung dalam kulit biji, yaitu seperti vitexin, isovitexin dan luteolin. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi berbagai senyawa bioaktif yang ada dan aplikasi potensial dalam makanan fungsional dan nutraceuticals. Temuan ini mendukung penggunaan tradisional kacang hijau dalam promosi kesehatan dan pencegahan penyakit dan membuka jalan untuk mengembangkan produk-produk suplemen kesehatan baru.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam artikel ilmiah yang ditulis.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM dan Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A. and Majzoub, A., 2017. Role of Antioxidants in Assisted Reproductive Techniques. *The World Journal of Men's Health*, 35 (2), 77.
- Al-Khayri, J.M., Sahana, G.R., Nagella, P., Joseph, B.V., Alessa, F.M., and Al-Mssallem, M.Q., 2022. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*, 27 (9), 2901.
- Almatroodi, S.A., Almatroudi, A., Alharbi, H.O.A., Khan, A.A., and Rahmani, A.H., 2024. Effects and Mechanisms of Luteolin, a Plant-Based Flavonoid, in the Prevention of Cancers via Modulation of Inflammation and Cell Signaling Molecules. *Molecules*, 29 (5), 1093.
- Ardalan, M.R., 2014. Antioxidant supplementation in hypertension. *Antioxidant supplementation in hypertension*, (2).
- Babaei, F., Moafizad, A., Darvishvand, Z., Mirzababaei, M., Hosseinzadeh, H., and Nassiri-Asl, M., 2020. Review of the effects of vitexin in oxidative stress-related diseases. *Food Science & Nutrition*, 8 (6), 2569–2580.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181 (4617), 1199–1200.
- Cao, D., Li, H., Yi, J., Zhang, J., Che, H., Cao, J., Yang, L., Zhu, C., and Jiang, W., 2011. Antioxidant Properties of the Mung Bean Flavonoids on Alleviating Heat Stress. *PLoS ONE*, 6 (6), e21071.
- Chen, G., Huang, C., Shi, P., Xu, H., Gao, S., Luo, D., Chen, T., Xie, Y., Huang, R., Song, H., Xu, H., and Xu, F., 2021. Mechanism of Chinese yam for the treatment of aging-related diseases based on network pharmacology. *European Journal of Integrative Medicine*, 41, 101254.
- Cruz-Almeida, Y., Filligim, R.B., Riley, J.L., Woods, A.J., Porges, E., Cohen, R., and Cole, J., 2019. Chronic pain is associated with a brain aging biomarker in community-dwelling older adults. *Pain*, 160 (5), 1119–1130.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N.A., and Kumar, S., 2017. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199.
- Gulcin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94 (3), 651–715.
- Handayani, D., 2009. Studi Eksperimen Pemanfaatan Tepung Kulit Tauge Kacang Hijau Sebagai Bahan Campuran Serta Pengaruhnya Terhadap Kualitas Cookies.
- Hou, D., Yousaf, L., Xue, Y., Hu, J., Wu, J., Hu, X., Feng, N., and Shen, Q., 2019. Mung Bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, and Health Benefits. *Nutrients*, 11 (6), 1238.
- Jang, Y.-H., Kang, M.-J., Choe, E.-O., Shin, M., and Kim, J.-I., 2014. Mung bean coat ameliorates hyperglycemia and the antioxidant status in type 2 diabetic db/db mice. *Food Science and Biotechnology*, 23 (1), 247–252.

- Kemenkes RI, 2018. Hasil Utama Rischesdas 2018.
- Kepmentan RI, 2020. *Komoditas Binaan Kementerian Pertanian*.
- Liu, P., Gao, Y.T., Yu, J.J., Cha, J.W., Zhao, D.M., Li, Y.H., and Chen, J.H., 2013. DPPH radical scavenging activity of kaempferol. *Advanced Materials Research*, 781–784, 1294–1297.
- Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C.K., and Das, N., 2019. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–19.
- Quintans-Júnior, L., Moreira, J.C.F., Pasquali, M.A.B., Rabie, S.M.S., Pires, A.S., Schröder, R., Rabelo, T.K., Santos, J.P.A., Lima, P.S.S., Cavalcanti, S.C.H., Araújo, A.A.S., Quintans, J.S.S., and Gelain, D.P., 2013. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes (+)-Camphene, *p*-Cymene, and Geranyl Acetate in Experimental Models. *ISRN Toxicology*, 2013, 1–11.
- Rahman, Md.M., Islam, Md.B., Biswas, M., and Khurshid Alam, A.H.M., 2015. In vitro antioxidant and free radical scavenging activity of different parts of *Tabebuia pallida* growing in Bangladesh. *BMC Research Notes*, 8 (1), 621.
- Singh, A., Nunes, J.J., and Ateeq, B., 2015. Role and therapeutic potential of G-protein coupled receptors in breast cancer progression and metastases. *European Journal of Pharmacology*, 763, 178–183.
- Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A., and Singh, N., 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International*, 101, 1–16.
- Tsimogiannis, D.I. and Oreopoulou, V., 2006. The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3',4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7 (1–2), 140–146.
- World Health Organization, 2020. *Noncommunicable diseases: progress monitor 2020*. Geneva: World Health Organization.
- Xie, J., Ye, H., Du, M., Yu, Q., Chen, Y., and Shen, M., 2019. Mung Bean Protein Hydrolysates Protect Mouse Liver Cell Line Nctc-1469 Cell from Hydrogen Peroxide-Induced Cell Injury. *Foods*, 9 (1), 14.