

Jurnal AGROTEKNOLOGI

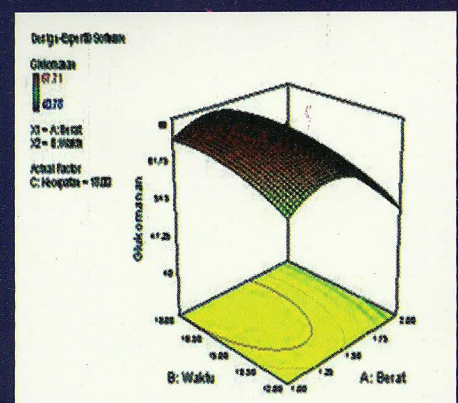
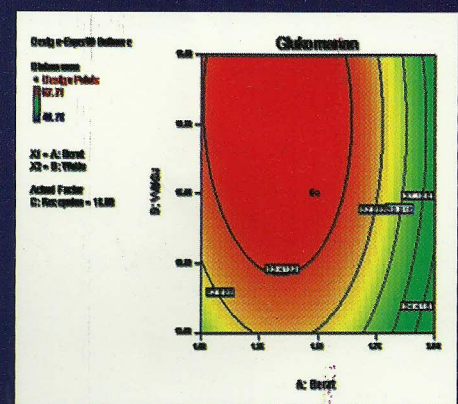
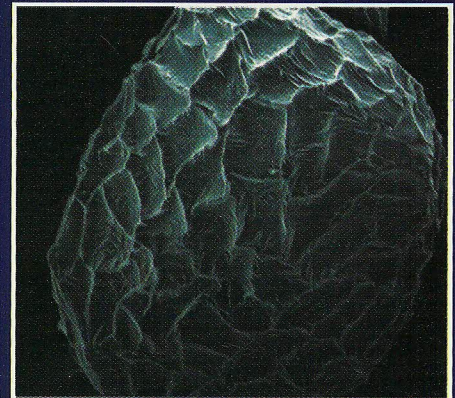
Volume 4, Nomor 2, Juli 2010

ISSN 1978-1555

Running Title :

- Tempe Ampas Tahu Campuran beras jagung
- Program Alokasi Air (PAA) Berbasis Open Office Calc
- Proses Compression Molding Dalam Pembuatan Edible Film
- Peningkatan Kadar Glukomanan Pada Proses Penepungan Chip Porang
- Metode Six Sigma Pada Perbaikan Mutu Tahu Putih
- Mutu Susu Kambing Terpasteurisasi sinar ultraviolet
- Model Pengeringan Gabah Lapis Tipis
- Modifikasi Proses Produksi Tepung Pisang
- Aktivitas Antioksidatif Daun Beluntas
- Analisis Keberlanjutan Agroindustri

Porang
(Amorphophallus oncophyllus)



DITERBITKAN OLEH :
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER

Jurnal AGROTEKNOLOGI

Volume 4, Nomor 2, Juli 2010

ISSN : 1978-1555

DAFTAR ISI

Hasil Penelitian

- Pembuatan Tempe Ampas Tahu dengan Pencampuran Beras Jagung dan Variasi Konsentrasi Ragi Tempe** 107-115
Wiwik Siti Windrati, Yhulia Praptiningsih, dan Candra Prasetya Utama
- Pengembangan Program Alokasi Air(PAA) Berbasis Open Office Calc** 116-123
Arif Faisol dan Indarto
- Penentuan Kondisi Optimum Proses *Compression Molding* dalam Pembuatan *Edible Film* Berbahan Baku ISP :Tapioka dengan Aplikasi Sistem Respon Permukaan** 124-136
Triana Lindriati, Simon Bambang Widjanarko, Hari Purnomo, dan I.N.G. Wardana
- Optimasi Peningkatan Kadar Glukomanan Pada Proses Penepungan dari Chip Porang (*Amorphophallus onchophyllus*) dengan Metode Mekanis** 137-147
Anni Faridah, S.B. Widjanarko, dan Aji Sutrisno
- Penerapan Metode *Six Sigma* Pada Perbaikan Mutu Tahu Putih di Produksi Tahu Arjasa Jember** 148-159
I. B. Suryaningrat, Djoko Pontjo Hardani, dan Aristariandi Wahyu
- Karakteristik Fisik, Kimia, dan Mikrobiologis Susu Kambing Terpasteurisasi dengan Sinar Ultraviolet Sistem Sirkulasi** 160-168
Budi Hariono, Sutrisno, Kudang Boro Seminar, dan Rarah Ratih A Maheswari
- Model Pengeringan Gabah Lapis Tipis dengan Energi Surya** 169-175
Suryanto
- Modifikasi Proses Secara Fermentasi Spontan dan Otoklaf-Pendinginan dalam Produksi Tepung Pisang** 176-184
Nurhayati, Betty Sri Laksmi Jenie, Harsi D. Kusumaningrum, dan Sri Widowati
- Pengaruh Ekstraksi dan Fraksinasi Terhadap Aktivitas Antioksidatif Daun Beluntas (*Pluchea Indica Less*)** 185-195
Paini Sri Widyawati, C Hanny Wijaya, Peni Suprapti Harjosworo, dan Dondin Sajuthi
- Analisis Keberlanjutan Agroindustri Perikanan Tangkap Potensial dan Kebijakan Pengembangannya di Kawasan Pesisir Kabupaten Tuban Lamongan dan Gresik** 196-205
Bambang Herry P, Machfud, Marimin, Aji Hermawan, dan Eko S Wiyono

PENGARUH EKSTRAKSI DAN FRAKSIINASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDATIF DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica Less*)

The Effect of Extraction and Fractination on Antioxidative Activity of Beluntas Leaves

Paini Sri Widyawati¹⁾, C Hanny Wijaya²⁾, Peni Suprapti Harjosworo³⁾ dan Dondin Sajuthi⁴⁾

¹⁾Fakultas Teknologi Pertanian Unika Widya Mandala Surabaya

²⁾Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan FTP IPB

³⁾Fakultas Peternakan IPB Bogor

⁴⁾Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB Bogor

Email : wiwied@gmail.com

ABSTRACT

Beluntas (*Pluchea indica Less*) is herb plant used as a food and a traditional medicine. Polyphenol is a major compound of beluntas leaves. This research studied an effect of solvent extraction by petroleum ether, followed by soxhlet extraction by methanol and fractionation by different polarity of solvent (ethyl acetate, n-butanol and aquades). The measurement parameter was 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) free radical scavenging activity, phytochemical content, total phenol, total flavonoid and inhibition concentration (IC₅₀). Furthermore, antioxidant activity of beluntas extract and its fraction was compared to natural antioxidant (green tea and rosemary) and synthetic antioxidant (BHT and α -tocopherol succinate). The result showed that beluntas leaves contained phytochemical compounds, such as flavonoid, phenol hydroquinon, tannin and sterol. Methanolic extract had the highest yield, TP and TF, 15.22 %, 304.42 mg GAE/100 g dry basis, 116.38 mg CE/100 g dry basis, respectively. The high concentration of TP and TF of methanol extract did not show the high DPPH free radical scavenging activity. Ethyl acetate fraction (IC₅₀ = 3.3 mg/L) had antioxidant activity higher than methanol extract (IC₅₀ 4.3 mg/L), n-butanol fraction (IC₅₀ 3.6 mg/L) and water fraction (IC₅₀ = 7.9 mg/L). Nevertheless its antioxidant activity was lower than green tea methanol extract (IC₅₀ = 1.9 mg/L). The classification order of IC₅₀ value showed green tea methanolic extract > ethyl acetate fraction > n-butanol fraction > rosemary extract > beluntas extract > BHT > water fraction > α -tocopherol succinate.

Key Words : extraction and fractionation, antioxidant activity of belunas leaves (*Pluchea indica Less*)

PENDAHULUAN

Beluntas (*Pluchea indica Less*) merupakan tanaman perdu kelompok *Asteraceae* yang telah dikenal masyarakat sebagai lalapan dan obat tradisional (Ardiansyah *et al.* 2003). Berbagai penelitian telah menyebutkan bahwa beluntas mengandung senyawa lignan, seskuiterpena, fenilpropanoid, benzoid, monoterpena, triterpena, sterol, dan alkana (Luger *et al.* 2000), akar mengandung stigmasterol (+ β -sitosterol), stigmasterol glikosida (+ β -

sitosterol-glikosida), 2-(prop-1-unil)-5-(5,6-dihidroksi heksa-1,3-diunil)-thiofena, dan (-)-katekin (Biswas *et al.* 2005), sedangkan daun mengandung hidrokuinon, tannin, alkaloid, dan sterol (Ardiansyah *et al.* 2003), flavonol, seperti mirisetin, kuersetin, dan kaemferol (Andarwulan *et al.* 2010). Beluntas terbukti mempunyai aktivitas farmakologi, diantaranya antiinflamasi, hipoglisemik, antiamuba, antimikrobia (Biswas *et al.* 2005), dan antioksidan (Widyawati, 2004; Andarwulan *et al.* 2010).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah kerusakan pangan atau

Telah diseminarkan di Seminar Nasional Rekayasa dan Proses Kimia 2010, Fakultas Teknik Kimia UNDIP Semarang tgl 4-5 Agustus 2010

produk pangan karena oksidasi, sehingga dapat memperpanjang masa simpan.

Pencarian antioksidan alami alternatif untuk mencegah kerusakan oksidatif terus dilakukan untuk meminimalkan penggunaan antioksidan sintetik yang masih diragukan tingkat keamanannya, seperti butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluena (BHT), dan tersier butil hidrokuinon (TBHQ) (Orhan *et al.* 2009).

Proses ekstraksi dan fraksinasi dengan pelarut organik yang mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda akan mempengaruhi senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidannya (Sousa *et al.* 2008). Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi didasarkan pada kemampuan pelarut untuk melarutkan senyawa yang akan diekstrak, mudah dipisahkan (diuapkan) dan dimurnikan kembali. Menurut Colin *et al.* (2007) bahwa pelarut organik digunakan didasarkan pada sifat kepolaran, kelarutan, dan transfer massa dari senyawa yang diekstrak. Kelarutan senyawa sangat ditentukan oleh kepolaran, momen dipol, polarisabilitas, dan ikatan hidrogen (Martins *et al.* 2001). Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh ekstraksi dan fraksinasi terhadap sifat antioksidatif daun beluntas melalui pengujian fitokimia, total fenol, total flavonoid, dan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrasil).

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian laboratories ini dilaksanakan dalam dua kegiatan utama yaitu : 1) proses ekstraksi dan fraksinasi daun beluntas dan analisis rendemennya, 2) analisis fitokimia (senyawa fenol dan flavonoid), dan 3) analisis kemampuan

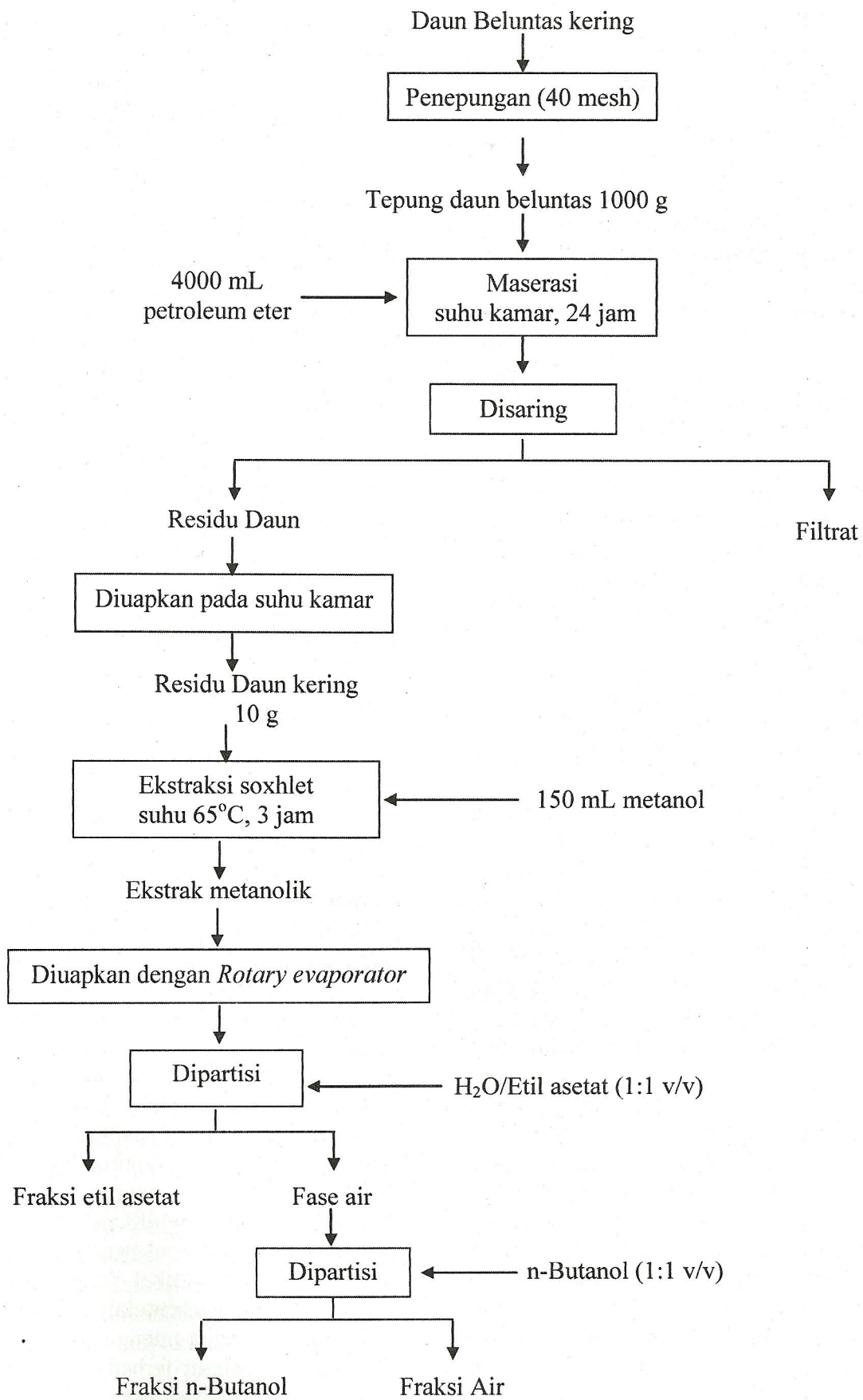
menangkap radikal bebas DPPH. Semua kegiatan dilakukan di Laboratorium Kimia SEAFast IPB dan *Food Science and Technology Programme, Chemistry Department, National University of Singapore* mulai bulan Juni 2009-Januari 2010.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan adalah daun beluntas yang diperoleh dari daerah Dramaga, Bogor. Teh hijau yang disuplai oleh pabrik teh di Singapura (*Lim Lam Thye PTE, LTD*). Rosemary kering yang dibeli di *Cold Storage Supermarket* di Holland Evaneu Singapura. Alat yang digunakan adalah seperangkat alat ekstraksi soxhlet dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 21D).

Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Beluntas

Daun beluntas ruas 1-6 diekstraksi berdasarkan modifikasi metode Dorman dan Hiltunen (2004). Daun beluntas yang telah dikeringkan pada suhu kamar selama 7 hari ditepungkan dengan ukuran 40 mesh, lalu dianalisa kadar air dan fitokimianya. Kemudian tepung daun kering dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya residu yang sudah kering diekstraksi dengan metanol (1:15 b/v) menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam. Pelarut metanol diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut etil asetat dan akuades (1:1 v/v). Selanjutnya fase air difraksinasi lagi dengan pelarut n-butanol (1:1 v/v). Fraksi etil asetat, n-butanol, dan air dikeringkan dengan menguapkan pelarut dengan *rotary evaporator*. Masing-masing ekstrak dan fraksi disimpan pada suhu 4°C dan gelap sampai waktunya untuk analisis berikutnya (**Gambar 1**).



Gambar 1. Diagram proses ekstraksi dan fraksinasi daun beluntas dan fraksinya (Modifikasi Dorman dan Hiltunen 2004)

Analisis Rendemen dan Kadar Air

Analisis rendemen. Ekstrak daun beluntas dan fraksi-fraksinya yang diperoleh ditentukan rendamennya dengan metode gravimetri berdasarkan metode Ljubuncic *et al.* (2005), dengan cara membandingkan berat ekstrak daun beluntas atau fraksi-fraksi terhadap berat sampel yang digunakan, sehingga diperoleh persen ekstrak atau fraksi (b/b).

Analisis kadar air. Kadar air ditentukan berdasarkan metode AOAC 925.45 (1999). Sampel daun sebanyak 3 gram dimasukkan dalam oven suhu 100°C sampai diperoleh berat konstan.

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan berdasarkan metode Harborne (1996) untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, flavonoid, sterol, triterpenoid, fenol, hidrokuinon, saponin, dan tannin.

Analisis Total Fenol. Total fenol ditentukan berdasarkan metode Kumar *et al.* (2008). Sampel sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4 mL larutan natrium karbonat (75g/L) kemudian dikocok dan ditambahkan 0,2 mL pereaksi Folin-ciocalteu fenol. Selanjutnya campuran ditambahkan akuades hingga volume 10 mL dan dikocok kembali. Setelah sampel dibiarkan selama 1 jam diukur absorbansinya pada λ 760 nm. Total fenol dinyatakan sebagai ekuivalen asam gallat (GAE).

Analisis total flavonoid. Total flavonoid ditentukan berdasarkan metode Kumar *et al.* (2008). Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu takar 10 mL yang berisi 4 mL akuades dan ditambahkan 0,3 mL larutan NaNO₂ 5% (b/v). Sesudah 5 menit ditambahkan 0,3 mL larutan AlCl₃ 10% (b/v), lalu sesudah 6 menit ditambahkan 2 mL larutan 1 M NaOH dan diencerkan hingga volume 10 mL dengan akuades. Absorbansi larutan diukur pada λ 510 nm. Total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen katekin (CE).

Analisis Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH

Aktivitas antioksidan sampel diukur berdasarkan modifikasi metode Aicha *et al.* (2006). Sampel sebanyak 1 mL pada berbagai variasi konsentrasi dalam pelarut metanol ditambahkan 3 mL larutan DPPH (60 μ M) dan metanol hingga volume 10 mL. Absorbansi larutan diukur pada λ 517 nm setelah 30 menit menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemampuan menghambat radikal bebas DPPH dinyatakan dengan % penghambatan = $(A_0 - A_t) / A_0 \times 100\%$, Dimana A₀ adalah absorbansi kontrol pada saat t = 0 detik dan A_t adalah absorbansi antioksidan pada saat t. Nilai IC₅₀ ditentukan dari grafik hubungan antara aktivitas menangkap radikal bebas versus konsentrasi ekstrak daun beluntas atau fraksi-fraksinya, nilai tersebut menyatakan kemampuan total antioksidan menurunkan radikal bebas DPPH dengan konsentrasi 50%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun beluntas kering suhu kamar direduksi ukuran partikelnya menjadi 40 mesh. Hal ini dilakukan untuk memperluas permukaan kontak antara partikel daun dengan pelarut sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh maksimal. Matricardi *et al.* (2009) menjelaskan bahwa reduksi ukuran partikel pada biji kacang tanah dapat meningkatkan jumlah minyak yang terekstrak. Penurunan ukuran partikel dari 3,35-4,75 mm menjadi 0,86-1,19 mm, total minyak yang dihasilkan meningkat sebesar 36%- 82%. Menurut Pileo *et al.* (2007) bahwa reduksi ukuran partikel pada biji kopi secara signifikan berpengaruh positif terhadap fenol yang terekstrak. Reduksi ukuran partikel yang berlebihan menyebabkan terbentuknya fenomena pelapisan sehingga mengurangi efisiensi pembasahan pelarut terhadap sampel dan menurunkan efisiensi ekstraksi. Zhang *et al.* (2009) menyebutkan bahwa kerusakan jaringan daun dan dinding sel akan

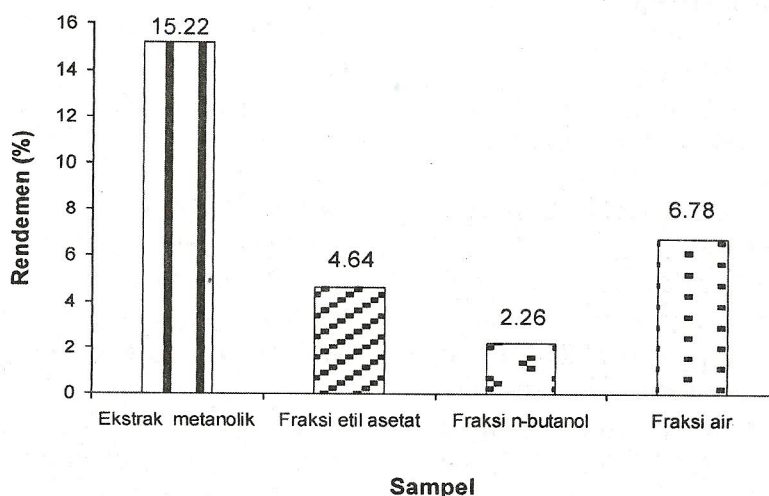
meningkatkan transfer massa pelarut ke dalam material dalam daun dan senyawa yang larut dalam pelarut.

Rendemen Ekstrak Metanol Daun Beluntas

Kadar rendemen ekstrak metanolik beluntas dan fraksi-fraksinya ditunjukkan pada **Gambar 2**. Ekstrak metanolik daun beluntas mempunyai rendemen sebesar 15,22% bk atau 13,64 % bb. Kadar rendemen ekstrak metanolik pada kondisi segar diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol yaitu sebesar 1,40 % bb (Widyawati 2004). Hal ini disebabkan metanol dapat mengekstrak senyawa fitokimia lebih banyak (Akroum *et al.* 2009). Yu Lin *et al.* (2009) juga

mendukung bahwa metanol dapat mengekstrak senyawa dengan berat molekul rendah, tingkat kepolaran sedang karena sifat kelarutannya yang luas.

Komponen yang terfraksinasi oleh pelarut air memiliki rendemen paling tinggi dibandingkan pelarut n-butanol dan etil asetat, diperkirakan sebagian besar komponen yang terkandung dalam fraksi air adalah senyawa sangat polar. Kahkonen *et al.* (2001) menjelaskan bahwa penggunaan pelarut yang berbeda pada ekstraksi daun beluntas dapat mengubah profil senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel. Houghton dan Raman (1998) menginformasikan bahwa air dapat mengekstrak senyawa glikosida, aglikon, gula, dan asam amino.



Gambar 2. Rendemen ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya

Kadar Air Tepung Beluntas

Kadar air tepung daun beluntas sebesar 10,38%. Kadar air ini ditentukan dengan pengering oven vakum suhu 70°C, karena dalam tepung daun beluntas mengandung sejumlah senyawa volatil yang mudah menguap. Penggunaan oven vakum untuk meminimalkan kehilangan senyawa volatil karena oksidasi. Beberapa senyawa volatil yang terkandung daun beluntas merupakan kelompok terpena, seperti boehmeril asetat, HOP-17 (21)-en 3β-asetat, linaloil glukosida, linaloil apiosil glukosida, linaloil hidroksi glukosida, plusheosida C, cuauhermone, 3-(2'-3'-

diasetoksi- 2'-metil-butiril), plucheol A, plucheol B, plucheosida A, plucheosida B, plucheosida E, dan pterocarpritol (Traithip 2005), seskuis-terpena, monoterpena, dan triterpena (Luger *et al.* 2000).

Fitokimia Tepung Beluntas

Hasil pengujian fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun beluntas, meliputi tannin, flavonoid, sterol, dan fenol hidrokuinon (**Tabel 1**). Keberadaan tannin sterol, flavonoid, dan fenol hidrokuinon ditunjukkan oleh terbentuknya warna biru tua atau hijau

kehitaman, hijau, merah, dan merah (Harbone 1996). Hasil ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa daun beluntas mengandung senyawa fitokimia, seperti fenol hidrokuinon, sterol, dan tannin (Ardiansyah *et al.* 2003), senyawa flavonoid, dan polifenol (Traithip 2005).

Keberadaan senyawa fitokimia pada ekstrak metanolik beluntas dan fraksi-fraksinya sangat ditentukan oleh tingkat kepolaran pelarut. Hal ini terbukti pada hasil penelitian bahwa senyawa flavonoid, tannin, dan fenol

hidrokuinon ditemukan pada ekstrak metanolik beluntas, fraksi etil asetat, dan fraksi n-butanol, sedangkan fraksi air tidak ditemukan adanya sterol. Hal ini disebabkan tingkat kepolaran air dan sterol berbeda. Kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak metanolik daun beluntas maupun fraksi-fraksinya menentukan aktivitas antioksidatif. Jenis dan struktur senyawa bioaktif dalam ekstrak sangat ditentukan oleh pelarut dan proses ekstraksi yang dipakai (Zhang *et al.* 2009).

Tabel 1. Fitokimia pada ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya

Jenis Sampel	Jenis Fitokimia			
	Sterol	Flavonoid	Tannin	Fenol Hidrokuinon
Ekstrak metanolik Metanolik	+	+	+	+
Fraksi Etil Asetat	+	+	+	+
Fraksi Air	-	+	+	+
Fraksi n-butanol	+	+	+	+

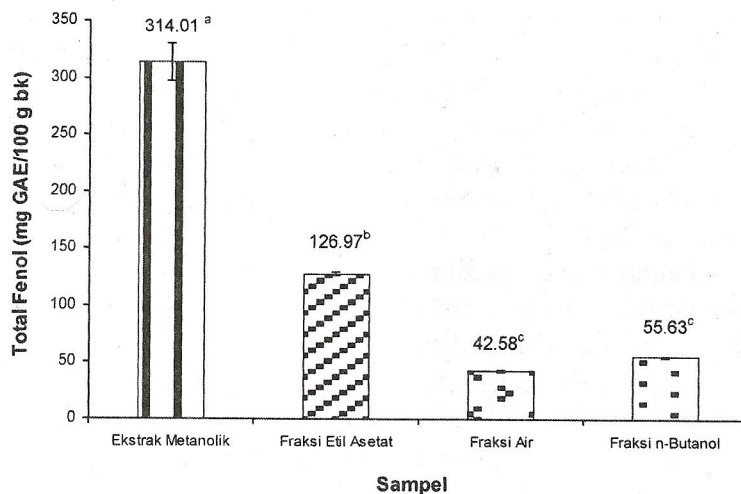
Keterangan : + terdeteksi, - tidak terdeteksi

Total Fenol Ekstrak Metanolik Beluntas dan Fraksi-Fraksinya

Gambar 3 menunjukkan hasil pengujian total fenol secara spektrofotometri dengan pereaksi Folin ciocalteu fenol. Ekstrak metanolik mempunyai kadar total fenol tertinggi dibandingkan fraksi-fraksinya, hal ini seperti yang dijelaskan oleh Akroum *et al.* (2009) dan Yu Lin *et al.* (2009). Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa kadar total fenol secara berturutan fraksi etil asetat > fraksi air > fraksi n-butanol. Etil asetat dapat mengekstrak senyawa alkaloid, aglikon, dan glikosida, fenolik dengan berat molekul rendah hingga tinggi. n-Butanol dapat mengekstrak senyawa polar seperti glikosida, aglikon, dan gula, sedangkan air dapat mengekstrak senyawa polar seperti

glikosida, aglikon, asam amino, dan gula (Houghton dan Raman 1998).

Perbedaan kadar total fenol dalam ekstrak metanolik beluntas dan fraksi-fraksinya dipengaruhi oleh jenis pelarut dan tingkat kepolaran. Perbedaan ini menentukan struktur kimia senyawa fenol yang terekstrak. Pengujian total fenol sangat tergantung pada struktur kimianya. Senyawa fenol yang mempunyai gugus fungsi hidroksil yang banyak atau dalam kondisi bebas (aglikon) menghasilkan kadar total fenol yang tinggi (Deore *et al.* 2009). Semakin tinggi kemampuan senyawa fenolik untuk mendonorkan elektron akan semakin banyak senyawa kompleks asam fosfotungstat /fosfomolibdat yang terdeteksi secara spektrofotometri (Apak *et al.* 2007).

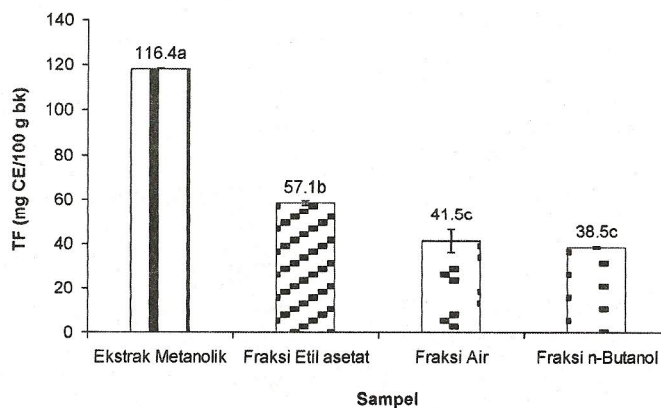


Gambar 3. Total fenol ekstrak methanol daun beluntas dan fraksi-fraksinya

Total Flavonoid Ekstrak Metanol Beluntas dan Fraksinya

Hasil pengujian total flavonoid ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya seiring dengan kadar total fenol, hal ini disebabkan senyawa flavonoid merupakan komponen terbesar penyusun senyawa fenolik (Tapas *et al.* 2008). Secara berturutan kadar flavonoid adalah ekstrak metanolik beluntas > fraksi

etil asetat > fraksi air > fraksi n-butanol (Gambar 4). Senyawa flavonoid yang terekstrak dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran mempunyai struktur yang berbeda, hal ini menentukan reaktivitasnya terhadap pereaksi $AlCl_3$ dan $NaNO_2$ dalam kondisi basa kuat (NaOH), yang ditandai dengan terbentuknya kompleks warna antara orange hingga merah.



Gambar 4. Total flavonoid ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksinya

Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH Ekstrak Metanol Beluntas

Hasil pengujian kemampuan antioksidatif senyawa aktif dari ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya dibandingkan dengan ekstrak antioksidan alami lain dan antioksidan sintetis (Gambar 5 dan 6) diperoleh hasil

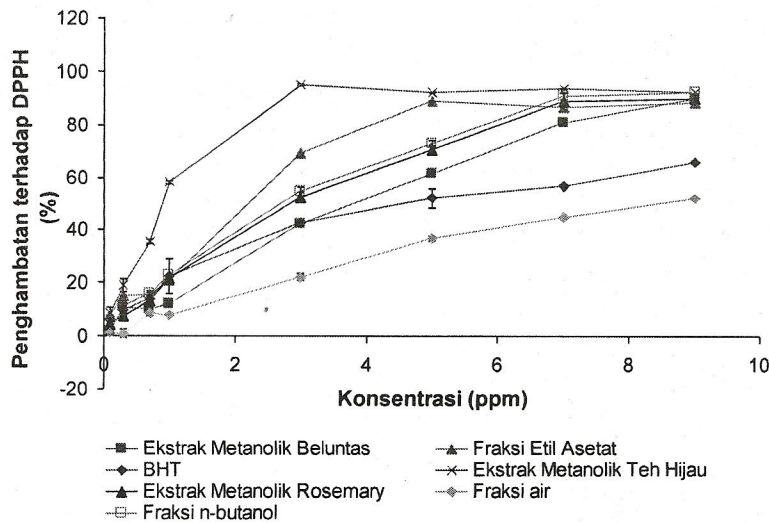
sebagai berikut ekstrak teh hijau > fraksi etil asetat > fraksi n-butanol > ekstrak rosemary > ekstrak beluntas > BHT > fraksi air > α - tokoferol suksinat.

Kemampuan antioksidatif terhadap radikal bebas DPPH dapat mewakili radikal bebas sesungguhnya, yang ditandai dengan kemampuan mereduksi warna

ungu dari radikal DPPH dalam pelarut metanol (Huang dan Prior 2005) karena terjadinya reaksi transfer elektron atom hidrogen dari senyawa fenol (Nakiboglu *et al.* 2007) dan terbentuk senyawa difenil pikrilhidrasin berwarna kuning yang stabil (Chang *et al.* 2007).

Aktivitas menangkap radikal bebas DPPH dipengaruhi oleh polaritas dari medium reaksi, struktur kimia dari penangkap radikal, dan pH campuran reaksi (Sharma dan Bhat 2009). Aktivitas antioksidan fenolik sangat ditentukan oleh struktur kimia, jumlah, dan posisi gugus hidroksil dan metil pada cincin. Molekul tersubstitusi gugus hidroksil semakin banyak semakin kuat

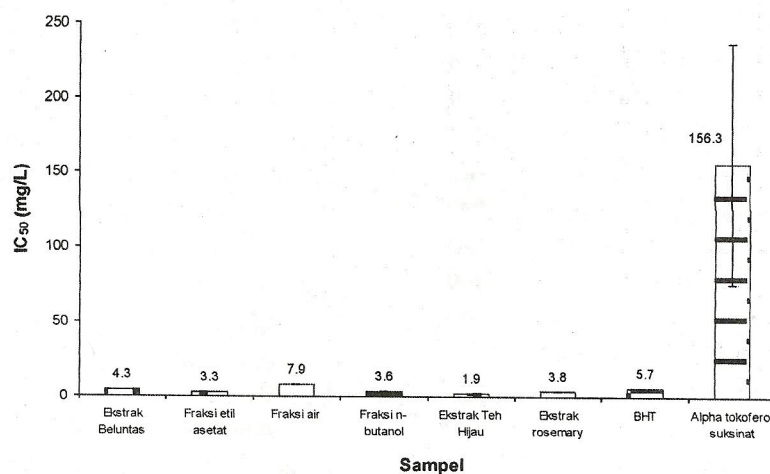
menangkap radikal bebas DPPH karena kemampuan mendonorkan atom hidrogen semakin besar (Yu Lin *et al.* 2009). Struktur aglikon mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan struktur glikosida (Li *et al.* 2009). Ordaudi *et al.* (2006) menyatakan bahwa struktur kimia senyawa antioksidan, seperti jumlah dan posisi gugus OH serta karakteristik rantai samping akan menentukan tingkah laku senyawa tersebut. Butkovic *et al.* (2004) berpendapat bahwa ada hubungan antara struktur dan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH, namun tidak mudah membuktikan efek struktur terhadap kecepatan bereaksi dengan radikal bebas.



Gambar 5. Kemampuan menangkap radikal bebas DPPH berbagai sumber antioksidan

Senyawa flavonoid efektif sebagai penangkap radikal bebas (Tapas *et al.* 2008), karena dapat menghasilkan radikal fenoksil yang terstabilkan oleh efek resonansi dari cincin aromatis (Yu Lin *et al.* 2009). Efektivitas flavonoid sebagai penangkap radikal bebas ditentukan, oleh struktur (katekol) orthodihidroksi pada cincin B, ikatan

rangkap pada atom C₂₋₃ yang terkonjugasi dengan gugus fungsi C₄-okso, gugus OH pada C₃ di cincin C dan gugus OH pada C₅ di cincin A (Lugasi *et al.* 2003; Tapas *et al.* 2008). Kombinasi gugus C₃-OH dan C₅-OH dengan C₄-karbonil dan ikatan rangkap C₂-C₃ dapat meningkatkan aktivitas penangkap radikal bebas (Amic *et al.* 2003).



Gambar 6. Nilai IC₅₀ dari berbagai sumber antioksidan

Berdasarkan data total fenol dan total flavonoid untuk ekstrak metanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya, maka ada korelasi positif antara kadar total fenol dan total flavonoid terhadap aktivitas antioksidan, hal ini membuktikan bahwa ada efek struktur dan komposisi senyawa fenolik dan flavonoid terhadap aktivitas antioksidan.

Nilai IC₅₀ adalah ukuran keefektifan suatu senyawa dalam menghambat fungsi biologis atau biokimia. Ukuran ini mengindikasikan banyaknya senyawa yang dibutuhkan untuk menghambat proses biologis menjadi setengahnya. Semakin rendah nilai IC₅₀nya maka semakin besar potensinya sebagai antioksidan (Kosuar *et al.* 2004). Berdasarkan hasil perhitungan secara regresi linear dari Gambar 5 diperoleh nilai IC₅₀ sebagai berikut ekstrak beluntas sebesar 4,3 mg/L; fraksi etil asetat 3,3 mg/L; fraksi air 7,9 mg/L; fraksi n-butanol 3,6 mg/L; ekstrak teh hijau 1,9 mg/L; ekstrak rosemary 3,8 mg/L; BHT 5,7 mg/L dan α -tokoferol suksinat 156,3 mg/L.

KESIMPULAN

Tingkat kepolaran pelarut yang digunakan selama ekstraksi dan fraksinasi menentukan senyawa fitokimia, rendemen, kadar total fenol, kadar total flavonoid, dan aktivitas menangkap radikal bebas DPPH.

Senyawa fitokimia yang terdeteksi meliputi flavonoid, fenol hidrokuinon, tannin, dan sterol, kecuali pada fraksi air yang tidak ditemukan adanya sterol. Kadar rendemen, total fenol dan flavonoid secara berturut-turut ekstrak metanolik beluntas > fraksi etil asetat > fraksi air > fraksi n-butanol. Berdasarkan IC₅₀, aktivitas antioksidan fraksi etil asetat paling tinggi dibandingkan ekstrak metanolik beluntas, fraksi air, dan fraksi n-butanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DP2-M, Dirjen DIKTI atas biaya yang diberikan melalui dana Penelitian Hibah Bersaing 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Aicha N, Ines I, Ines B, Mohamed BS, Jamila HS, Jemni BC, Mohamed N, Daniel B, Leila G dan Kamel G (2006). A comparative evaluation of mutagenic, antimutagenic and scavenging radicals activity of essential oil from *Pituranthos chloranthus*. *SIPAM* 362-371.
- Akroum S, Satta D dan Lalaoui K (2009). Antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities and phytochemical screening of some Algerian plants. *European J. Scientific Research* 31(2) : 289-295.

- Amic D, Davidovic-Amic D, Bes'lo D dan Trinajstic N (2003). Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatia Chem. Acta* 76 : 55-61.
- Andarwulan N, Batari R, Sandrasari DA, Bollin B dan Wijaya CH (2010). Short communication flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chem.* 121:1231-1235.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist 925.45. (1999). *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*. Edition ke-15, Kenneth Helrich, USA.
- Apak R, Guclu K, Demirata B, Ozyurek M, Celik SE, Bektasoglu B, Berker KS dan Ozyurt D (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the cuprac assay. *Molecules* 12 : 1497-1547.
- Ardiansyah, Nuraida L dan Andarwulan N (2003). Aktivitas antimikroba daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH. *J. Tekn. Industri Pangan* 14(2) : 90-97.
- Biswas R, Dasgupta A, Mitra A, Roy SK, Dutta PK, Achari B, Dastidar SG dan Chatterjee TK (2005). Isolation, purification and characterization of four pure compounds from the root extract of *Pluchea indica Less* and the potentiality of the root extract and the pure compounds for antimicrobial activity. *European Bull. Drug Research* 13 : 63-70.
- Butkovic V, Klasinc L dan Bors W (2004). Kinetic study of flavonoid reactions with stable radicals. *J. Agric. Food Chem.* 52 : 2816-2820
- Deore SL, Khadabadi SS, Baviskar BA, Khadabadi SS, Khangenbam RA, Koli US, Daga NP, Gadail PA dan Jain PA (2009). In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *Intern. J. Chem. Tech. Research* 1(2) : 174-176.
- Dorman HJD dan Hiltunen R (2004). Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis L.*) extract and subfractions. *Food Chem.* 88 : 193-199.
- Chang HY (2007). Antioxidant and free radical scavenging activities of *Phellinus merrillii* Extracts. *Botanical Studies* 48 : 407-417.
- Colin HL, Hoa B, Juan E, Cacacea G dan Mazza (2007). Extraction of lignans, proteins and carbohydrates from flaxseed meal with pressurized low polarity water. *LWT* 40 : 1637-1647.
- Harbone JB (1996). *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah, Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Houghton PJ dan Raman A (1998). *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Capman and Hall, UK.
- Kahkonen MP, Hopia AI dan Heinonen (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric.Food Chem.* 49 : 4076-4082.
- Kosuar MB, Dorman HJD, Basuer KHC dan Hiltunen R (2004). Screening of free radical scavenging compounds in water extracts of mentha sampels using a postcolumn derivatization method. *J. Agric.Food Chem.* 52 : 5004-5010.
- Kumar S, Kumar D, Manjusha, Saroha K, Singh N dan Vashishta B (2008). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis (L.)* schrad. methanolic fruit extract. *Acta Pharmacol.* 58 : 215-220.
- Li C, Du H, Wang LS, Shu QY, Zheng Y, Xu Y, Zhang JJ, Zhang J, Yang R dan Ge Y (2009). Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia Section Moutan*) yellow flowers. *J. Agric.Food Chem.* 57 : 8496-8503.
- Ljubuncic P, Azaizeh H, Portnaya I, Cogan U, Said O, Saleh KU dan Bomzon A (2005). Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *J. Ethnopharmacol.* 99 : 43-47.
- Lugasi A, Hóvári J, Sági KV dan Bíró L (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of

- diseases. *Acta Biologica Szegediensis* 47(1-4) : 119-125.
- Luger P, Weber M, Dung NX, Ngoc PH, Tuong DT dan Rang DD (2000). The crystal structure of hop-17(21)-en-3 β -yl aasetat of *Pluchea pteropoda* Hemsl. from Vietnam. *Crystal Res. Tech.* 35(3) : 355-362.
- Martins MAP, Freitag RA, Zimmermann NEK, Sinhorina AP, Cúnico W, Bastos GP, Zanatta N dan Bonacorsoa HG (2001). Molecular structure of heterocycles: 6. solvent effects on the 17O NMR chemical shifts of 5-trichloromethylisoxazoles. *J. Braz. Chem. Soc.* 12(6) : 804-808.
- Matricardi M, Hesketh R dan Farrell S (2009). Effect of operating conditions on static/dynamic extraction of peanut oil using supercritical carbon dioxide. <http://www.Supercritical.com/publications/peanutoilextraction> by SF/1 November 2009
- Nakiboglu M, Urek RO, Kayali HA dan Tarhan L (2007). Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chem.* 104 : 630-635.
- Ordoudi SA, Tsimidou MZ, Vafiadis AP dan Bakalbassis EG (2006). Structure-DPPH scavenging activity relationships: parallel study of catechol and guaiacol acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 5763-5768.
- Orhan I, Kartal M, Asaker MA, Senol FS, Yilmaz G dan Sener B (2009). Free radical scavenging properties and phenolic characterization of some edible plants. *Food Chem.* 114 : 276-281.
- Pinelo M, Tress AG, Pedersen M, Amous A dan Meyer AS (2007). Effect of cellulases, solvent type and particle size distribution on the extraction of chlorogenic acid and other phenols from spent coffee grounds. *American J. Food Tech.* 2(7) : 641-651.
- Sharma OP dan Bhat TK (2009). Analytical methods DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem.* 113 : 1202-1205.
- Sousa A, Ferreira ICFR, Barros L, Bento A dan Pereira JA (2008). Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives "alcaparras". *LWT* 41:739-745.
- Tapas A, Sakarkar DM dan Kakde RB (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: a review. *Tropical J. Pharmaceutical Research* 7(3) : 1089-1099.
- Traithip A (2005). Phytochemistry and Antioxidant Activity of *Pluchea indica*. [Thesis] Mahidol University. Thailand.
- Widyawati PS (2004). Aktivitas Antioksidan Tanaman Herba Kemangi (*Ocimum basillicum* Linn) dan Beluntas (*Pluchea indica* Less) dalam Sistem Model Asam Linoleat- β -Karoten. Laporan Penelitian Wima Grant, Unika Widya Mandala Surabaya, Surabaya.
- Yu Lin H, Kuo YH, Lin YL dan Chiang W (2009). Antioxidative Effect and Active Component from Leaves of Lotus (*Nelumbo nucifera*). *J. Agric. Food Chem.* 57 : 6623-6629.
- Zhang HF, Yang XH, Zhao LD dan Wang Y (2009). Ultrasonic-assisted extraction of epimedin from fresh leaves of epimedium and extraction mechanism. *Innovative Food Sci. Emerging Tech.* 10 : 54-60