



PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA KLOROFIL
DAUN KATUK (*Sauropus androgynous*)**

Jenis kegiatan:
PKM Penulisan Ilmiah

Disusun oleh:

Ela Nurlaela	G44204010 (2004)
Faiz Sutanto	G44204038 (2004)
Nindy Rininta	G44204065 (2004)
Siti Komariah	G44060509 (2006)

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2008**

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA KLOROFIL DAUN KATUK (*Sauropus androgynous*)

Ela Nurhaela, Faiz Sutanto, Nindy Rironta, Siti Kormariah
Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor, Bogor

ABSTRAK

Kandungan gizi terbaik pada sayuran terdapat pada pigmen hijau atau zat hijau daun yang dikenal dengan klorofil. Klorofil diduga dapat berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan zat yang mempunyai fungsi berlawanan dengan zat oksidan. Zat oksidan atau yang dikenal dengan nama radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak jaringan. Antioksidan dinyatakan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm. Hal itu terlihat dari nilai IC_{50} dari BHT yaitu 17.4237 ppm. Nilai IC_{50} yang didapatkan dari persamaan kurva hubungan logaritma konsentrasi klorofil a terhadap %inhibisi antioksidan adalah sebesar 7.2141×10^{26} ppm sedangkan klorofil b sebesar 5.3100×10^{10} ppm.

HALAMAN PENGESAHAN PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

1. Judul Kegiatan : Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Klorofil Daun Katuk
(*Sauropus androgynous*)
2. Bidang Ilmu : Kesehatan Pertanian
 MIPA Teknologi dan Rekayasa
 Sosial ekonomi Humaniora
 Pendidikan
3. Ketua Pelaksana Kegiatan/ Penulis Utama
- a. Nama Lengkap : Ela Nurlaela
b. NIM : G44204010
c. Departemen : Kimia
d. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor

Menyetujui
Ketua Departemen Kimia,

(Prof. Dr. Ir. Tun Tedja Irawadi, MS)
NIP 130536664

Bogor, Maret 2008
Ketua Pelaksana,

(Ela Nurlaela)
NIM G44204010

Wakil Rektor/Bidang
Akademik dan Kemahasiswaan,

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 131.473.999

Dosen Pendamping,

(Wulan Tri Wahyuni, S.Si.)

LEMBAR PENGESAHAN SUMBER PENULISAN ILMIAH PKMI

1. Judul Tulisan yang Diajukan: Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Klorofil Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)
2. Sumber Penulisan:
(√) Nurlaela E, Sutanto F, Rininta N. 2007. Laporan Praktikum Mandiri dengan judul "Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Klorofil Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)" tempat kegiatan Laboratorium Analitik, Departemen Kimia, FMIPA Insitut Pertanian Bogor, Bogor.

Keterangan ini kami buat dengan sebenarnya.

Mengetahui
Ketua Departemen Kimia,



(Prof. Dr. Ir. Tun Tedja Irawadi, MS)
NIP 130536664

Bogor, Maret 2008
Ketua Pelaksana,



(Ela Nurlaela)
NIM G44204010

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Kegiatan dengan tema “Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Klorofil Daun Katuk (*Sauropus androgynous*)” ini dilaksanakan selama bulan November sampai Desember 2007 sebagai kegiatan praktikum mandiri analisis tumbuhan dan kromatografi.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan ini, terutama kepada Wulan Tri Wahyuni S.Si. selaku pembimbing serta kepada seluruh rekan-rekan Kimia 41 yang selalu menemani di kampus dan laboratorium, serta semua pihak terkait yang telah membantu dalam penyelesaian laporan ini. Terima kasih atas bantuan dan semangat yang telah diberikan.

Banyak kiranya kekurangan dan kesalahan yang terdapat dalam karya ilmiah ini, untuk itu penulis mengharapkan kritik serta saran, dan semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat baik bagi penulis maupun bagi pembaca.

Bogor, Maret 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Tanaman Katuk	1
Klorofil	2
Uji Antioksidan	2
BAHAN DAN METODE	3
Alat dan Bahan	3
Metode	3
PEMBAHASAN	4
Uji Antioksidan	5
SIMPULAN	7
DAFTAR PUSTAKA	8
LAMPIRAN	9

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Perkembangan industri makanan cepat saji yang sangat luar biasa memberikan dampak terhadap konsumennya, yang secara tidak langsung telah membentuk pola makan masyarakat yang kurang asupan sayur. Di sisi lain, riset medis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tingkat konsumsi sayuran seseorang berpengaruh besar terhadap usia hidupnya. Oleh karena itu, asupan sayuran dalam bentuk sayur-mayur yang segar ataupun telah diolah sangat diperlukan oleh tubuh.

Sayuran memiliki kandungan zat tertentu yang memiliki manfaat spesifik. Tetapi secara umum sayuran memiliki komposisi utama zat hijau daun yang berfungsi sebagai tempat berlangsungnya fotosintesis pada tumbuhan. Kandungan gizi terbaik pada sayuran terdapat pada pigmen hijau atau zat hijau daun yang dikenal dengan klorofil. Pasokan nutrisi yang masuk ke dalam tubuh manusia lewat sayuran tersedia oleh klorofil yang terdapat dalam sayuran tersebut. Riset tentang klorofil membuktikan bahwa klorofil terbukti mampu mendetoksifikasi racun yang masuk ke dalam tubuh manusia.

Klorofil diduga dapat berfungsi sebagai antioksidan (Putra & Saiful 2007). Menurut penelitian Rahayu dan Limantara (2005), kandungan klorofil tertinggi terdapat pada tanaman katuk. Penelitian yang dilakukan penulis diarahkan untuk menyelidiki kemampuan ekstrak klorofil daun katuk berfungsi sebagai antioksidan.

Tanaman Katuk

Daun katuk kaya kandungan gizi yang setara dengan kandungan gizi daun pepaya dan daun singkong. Bahkan, kandungan zat besi daun katuk lebih unggul daripada daun pepaya dan daun singkong. Di samping kaya protein, lemak, vitamin A, vitamin B₁, vitamin C dan mineral, daun katuk juga memiliki kandungan tanin, saponin flavonoid, dan alkaloid papaverin, sehingga sangat potensial untuk dijadikan bahan pengobatan alami. Berikut ini adalah identitas tanaman katuk dan gambar bagian daunnya (Welzen 2003).



Gambar 1 Daun katuk

Klasifikasi tanaman katuk

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Famili	: Phyllanthaceae
Genus	: <i>Sauropus</i>
Spesies	: <i>S. androgynous</i>

Klorofil

Klorofil merupakan pigmen dari tanaman yang berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas sel tanaman. Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa klorofil mampu merangsang pembentukan sel darah merah. Selain itu klorofil juga mampu berfungsi sebagai pembersih alamiah (mendorong terjadinya detoksifikasi), antioksidan, pencegah penuaan, dan anti kanker (Herba 2003). Wigmore dalam *The Wheatgrass Book* (1985) menyatakan bahwa klorofil dapat melindungi tubuh dari senyawa-senyawa karsinogen. Klorofil bertindak menguatkan sel-sel, melepaskan zat racun dari hati dan aliran darah, dan secara kimiawi menetralsasi polutan-polutan.

Uji Antioksidan

Analisis dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) adalah sebagai uji untuk mencari kemampuan menangkap radikal suatu komponen dalam ekstrak suatu tumbuhan. DPPH adalah komponen berwarna ungu yang tidak berdimerisasi dan berbentuk kristalin. DPPH adalah radikal bebas yang stabil diikuti interaksi dengan antioksidan, DPPH mentransfer elektron atau atom hidrogen ke radikal bebas menyebabkan karakter radikal bebas ternetralsasi (Masoko 2007).

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *hair dryer*, TLC chamber $10 \times 5 \times 10$ cm, lapis tipis silika gel plate, kolom kromatografi silika, mortar, *flash* kromatografi, spektrofotometer tampak, alat-alat gelas, dan aluminium foil.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun katuk, petroleum benzena, aseton, Na_2SO_4 anhidrat, metanol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 1 mM, hidroksi toluena terbutilasi (BHT), dan akuades.

Metode

Preparasi Ekstraksi pigmen daun

Sebanyak 15.0088 g sampel daun katuk dihaluskan dengan mortar, lalu di ekstraksi dengan 150 mL aseton. Ekstrak pigmen di saring dan siap diuji.

Pencarian Eluen Terbaik dan Pemisahan Komponen Sampel

Larutan pengembang atau fase gerak terdiri dari campuran petroleum benzena (PB):aseton (8:2, 9:1, dan 9.75:0.25). Pelarut pengembang ditempatkan ke dalam chamber KLT sampai ketinggian kira-kira 0,5 cm. Chamber ditutup untuk penjenuhan ruang. Setelah 15 menit, chamber akan jenuh dengan uap pelarut. Pelat KLT dipotong berukuran 1×10 cm. Garis digambarkan menggunakan pensil dengan jarak 1 cm dari dasar pelat. Ekstrak daun dispotkan ke garis pelat KLT.

Kolom yang digunakan adalah silika gel dengan menggunakan teknik *flash chromatography*. Sebanyak 1 ml ekstrak daun dimasukkan dengan menggunakan suntikan ke dalam kolom. Fase gerak menggunakan eluen petroleum benzena dan aseton (9:1) (hasil penentuan eluen terbaik) yang dialirkan secara kontinu. Cerat kolom dibuka. Eluen mengalir turun melalui kolom, komponen yang tercampur mulai menuruni kolom. Pemisahan zona menuruni kolom, eluat dikumpulkan ke dalam Erlenmeyer. Penggantian labu disesuaikan dengan perubahan warna. Setelah selesai kolom, filtrat dipekatkan untuk uji fitokimia.

Penentuan Kadar Klorofil dengan metode spektrofotometri

Eluat yang telah dikumpulkan dalam erlenmeyer diukur serapannya pada panjang gelombang 663 nm dan 646 nm dengan petroleum benzena dan aseton 9:1 sebagai blanko.

Uji Fitokimia Senyawa Antioksidan Metode DPPH (Blois 1958 dalam Hanani et al. 2005)

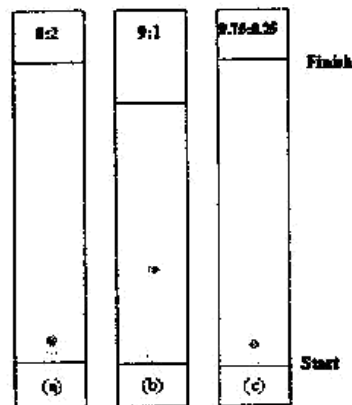
Ekstrak daun dilarutkan dalam metanol dan dibuat dalam berbagai konsentrasi (0, 10, 30, 50, dan 70 ppm). Masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tiap tabung reaksi ditambahkan 500 μ l larutan DPPH 1mM dalam metanol. Volume dicukupkan sampai 5,0 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai kontrol positif, dan untuk pembanding digunakan BHT (konsentrasi 0, 2, 4, 6 dan 8 ppm). Nilai IC₅₀ masing-masing dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

PEMBAHASAN

Klorofil daun katuk diekstrak dengan menggunakan aseton. Aseton digunakan sebagai pelarut karena klorofil dapat larut dalam aseton yang bersifat kurang polar. Klorofil adalah molekul ampifilik, rantai fitolnya bersifat hidrofobik sedangkan gugus-gugus karbonilnya bersifat hidrofilik.

Menurut Harborne (1987), eluen yang terbaik adalah campuran antara petroleum eter dan aseton dengan perbandingan 9:1. Hasil perbandingan pemisahan ketiga kromatogram pada Gambar 2 diketahui bahwa pemisahan komponen yang paling baik adalah kromatogram dengan perbandingan eluen petroleum benzena dan aseton 9:1. Hal ini dikarenakan pemisahan spot terpisah sempurna antara senyawa satu dengan lainnya dalam waktu elusi yang bersamaan antara ketiga kromatogram. Bila dibandingkan dengan kromatogram eluen PB:aseton 8:2, hasil pemisahan tidak dapat terpisah sempurna antara senyawa 2, 3, dan 4. Hasil pemisahan yang ditunjukkan pada kromatogram eluen PB:aseton

9,75:0,25 belum terpisah sempurna, namun pemisahan spot pertama berbentuk memanjang horizontal.



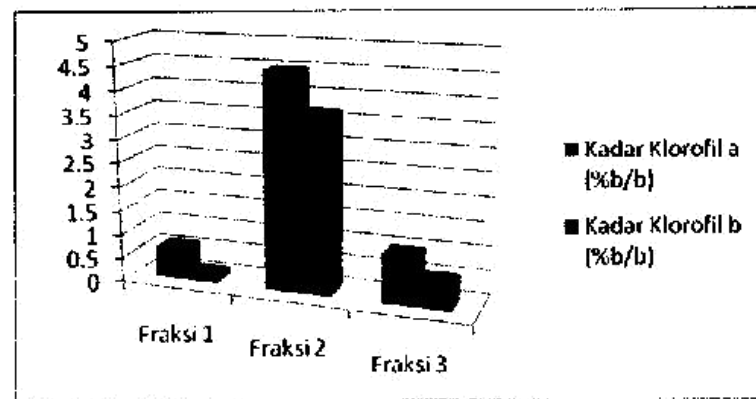
Gambar 2 Kromatogram hasil analisis metode KLT dengan eluen petroleum benzena:aseton dengan perbandingan 8:2, 9:1, dan 9,75:0,25

Setelah mendapatkan eluen terbaik, komponen-komponen ekstrak daun katuk dipisahkan dengan menggunakan *flash* kromatografi. Pemisahan komponen dengan *flash* kromatografi menggunakan prinsip yang sama dengan metode kolom kromatografi. Injeksi sampel yang digunakan sebanyak 10 kali injeksi yang tiap injeksinya sebanyak 1000 μL ekstrak daun. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 3 fraksi.

Kadar klorofil a dan b diukur dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak (Dere *et al.* 1998). Kadar klorofil a pada daun katuk sebesar 6,1569 %b/b, sedangkan klorofil sebesar 4,3922 %b/b sehingga terlihat bahwa daun katuk mengandung senyawa klorofil a lebih banyak dibandingkan senyawa klorofil b (Gambar 3).

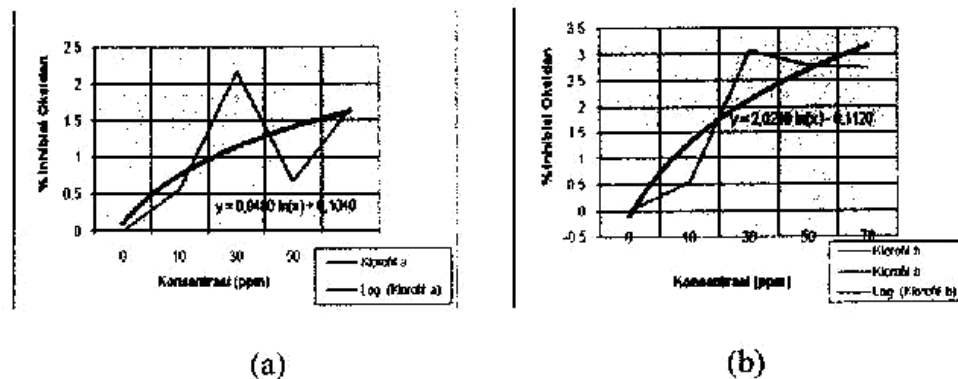
Uji Antioksidan

Berdasarkan uji aktivitas antioksidan senyawa klorofil a dan klorofil b didapatkan kurva yang menunjukkan hubungan logaritma konsentrasi senyawa klorofil a dan klorofil b terhadap % inhibisi antioksidan dengan persamaan $y = 0,9480 \ln(x) + 0,1040$ (Gambar 4a) dan $y = 2,0290 \ln(x) - 0,1120$ (Gambar 4b).



Gambar 3 Kurva hubungan kadar klorofil a dan klorofil b (%b/b)

Nilai IC_{50} yang didapatkan dari perpanjangan persamaan kurva hubungan logaritma konsentrasi klorofil a dan klorofil b terhadap %inhibisi antioksidan adalah sebesar $7,2141 \times 10^{22}$ ppm dan $5,3100 \times 10^{10}$ ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa senyawa klorofil a dan klorofil b akan menghasilkan daya inhibisi terhadap oksidan atau adanya aktivitas antioksidan sebesar 50%, jika terdapat konsentrasi klorofil a sebesar $7,2141 \times 10^{22}$ ppm dan klorofil b sebesar $5,3100 \times 10^{10}$ ppm. Berdasar nilai tersebut dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi klorofil maka semakin besar pula daya inhibisi terhadap oksidan.



Gambar 4 Kurva hubungan logaritma konsentrasi (a) klorofil a dan (b) klorofil b terhadap %Inhibisi Antioksidan

Antioksidan dinyatakan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm. Hal itu terlihat dari nilai IC_{50} dari BHT yaitu 17.4237 ppm. BHT dengan konsentrasi sebesar 17.4237 ppm dapat menghambat/meredam aktivitas DPPH sebesar 50%.

Daya antioksidan sampel daun katuk kurang baik jika dibandingkan dengan daya antioksidan standar BHT.

SIMPULAN

Eluen terbaik diperoleh dari campuran antara petroleum benzena dan aseton dengan perbandingan 9:1. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh kandungan senyawaan klorofil a sebesar 6,1569 %b/b, sedangkan jumlah senyawaan klorofil b sebesar 4,3922 %b/b. Nilai IC_{50} yang didapatkan dari persamaan kurva hubungan logaritma konsentrasi klorofil a terhadap %inhibisi antioksidan adalah sebesar $7,2141 \times 10^{22}$ ppm, klorofil b sebesar $5,3100 \times 10^{10}$ ppm, dan BHT sebesar 17,4227 ppm. Klorofil daun katuk kurang mampu berfungsi sebagai antioksidan karena nilai IC_{50} sangat tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Dere S, Gunes T, dan Ridvan S. 1997. Spectrofotometric Determination of Chlorophyll A, B, dan Total Karotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvent. *Jurnal of Biology* 22:13-17.
- Hanani E, Abdul M, Ryany S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2:127-133.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Herba. 2003. Panduan Pengembangan Tanaman Obat. [terhubung berkala]. <http://www.karyasari.com/>. [10 November 2007].
- Masoko P, Picard J, Ellof JN. 2007. Characterization of compound isolated from *Combretum* and *Terminalia* species (Combretaceae). [Tesis]. Faculty of veterinary science, University of Pretoria.
- Putra SE, Saiful B. 2007. Klorofil Sebagai Darah Hijau Manusia. *Jurnal Biokimia*. Lampung: FMIPA UNILA.
- Rahayu P, Limantara L. 2005. Studi lapangan kandungan klorofil *in vivo* beberapa spesies tumbuhan hijau di Salatiga dan sekitarnya. Seminar Nasional MIPA 2005. Depok: FMIPA, Universitas Indonesia. [13 November 2007].
- Wigmore A. 1991. klorofil: si emas hijau-detoksin alami yang menyehatkan. Terjemahan dari: *Rebuild your health*. *Situs Web Indonesia Media Online Kesehatan*. [terhubung berkala]. [http://sumber asli sekolah-bisnis.com/klorofil.php](http://sumber.asli.sekolah-bisnis.com/klorofil.php). [10 November 2007].
- Welzen PC. 2003. *Sauropus. Malesian Euphorbiaceae Descriptions* Vol 92. Nederland: National Herbarium.

LAMPIRAN

Tabel 1 Data serapan klorofil a dan b

Jenis Klorofil	Volume (ml)	Transmitan		Absorbans		Kadar (%b/b)
		646 nm	663 nm	646 nm	663 nm	
a (hijau tua)	75	26.0	13.4	0.5850	0.8729	0.2703
b (kuning kehijauan)	100	83.8	72.0	0.0768	0.1427	0.0497

Bobot Daun Katuk = 15.0088 g

Contoh Perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{Klorofil a (mg/ml)} &= 12.21 A_{663} - 2.81 A_{646} \\ &= 12.21 (0.8729) - 2.81 (0.5850) \\ &= 9.0143 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Klorofil b (mg/ml)} &= 20.13 A_{646} - 5.03 A_{663} \\ &= 20.13 (0.0768) - 5.03 (0.1427) \\ &= 0.8282 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

$$\%b/b \text{ klorofil} = \text{kadar klorofil} \times \text{volume} \times \text{fp} \times 1/\text{bobot daun katuk} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \%b/b \text{ klorofil a} &= 9.0143 \text{ mg/ml} \times 75 \text{ ml} \times 9/150 \times 1/15008.8 \text{ mg} \times 100 \% \\ &= 0.2703 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%b/b \text{ klorofil b} &= 0.8282 \text{ mg/ml} \times 100 \text{ ml} \times 9/150 \times 1/15008.8 \text{ mg} \times 100 \% \\ &= 0.0497 \% \end{aligned}$$

Contoh perhitungan %inhibisi pada klorofil a

$$\begin{aligned} \bullet \quad \% \text{ inhibisi} &= \frac{ADPPH - Asampel}{A \text{ DPPH}} \times 100\% \\ &= \frac{0.9208 - 0.9157}{0.9208} \times 100\% = 0.5575 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \bullet \quad y (\% \text{ inhibisi}) &= 0.9483 \ln(x) + 0.1049 \\ 50 &= 0.9483 \ln(x) + 0.1049 \\ \ln(x) &= 52.6153 \\ x &= 7.0882 \times 10^{22} \text{ ppm} \end{aligned}$$

Diagram alir penentuan kadar klorofil a dan b

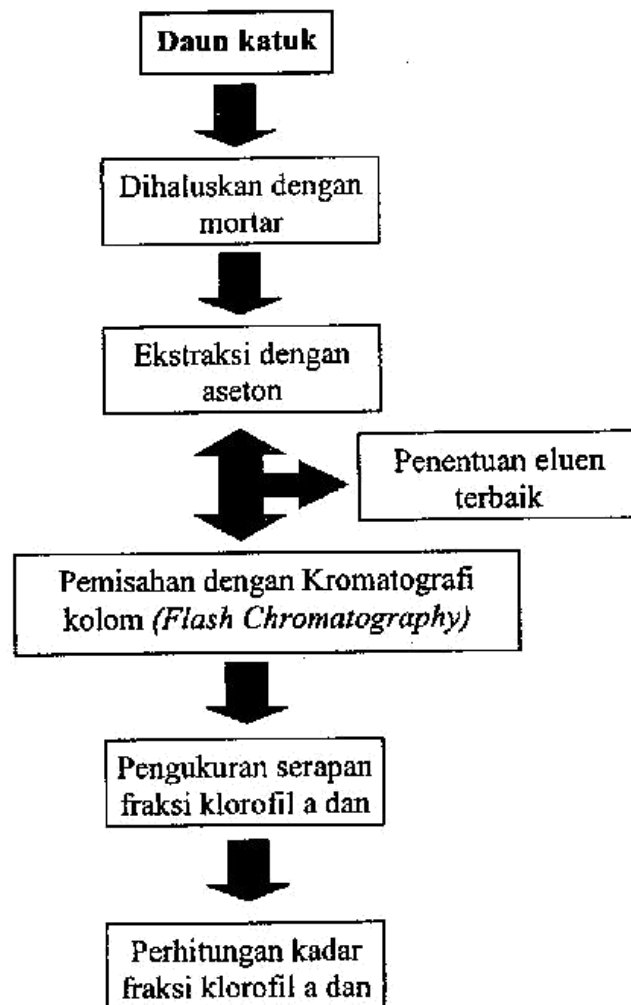


Diagram alir uji aktivitas antioksidan klorofil daun katuk

