

**Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenol
Beberapa Jenis Bayam dan Sayuran Lain**
(*Effect of Solvent Extraction on Antioxidant Activity and Phenolic Content of
Variety of Amaranth and Other Vegetables*)

Melly Novita¹, M. Ikhsan Sulaiman¹, Saufa Yura¹

¹Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan fenol beberapa jenis bayam dan sayuran lain (bayam biji, bayam merah, bayam liar, bayam sayur, bayam ornamental, daun sawi, daun kangkung, daun kelor, daun ubi, dan daun melinjo). Hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor jenis pelarut dan jenis sayuran berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀) dan total fenol. Interaksi antara jenis pelarut dan jenis sayuran berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀), tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap total fenol. Daun ubi yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan (IC₅₀) yang tertinggi (16,06 µg/ml) dibandingkan sayuran lainnya (bayam biji, bayam merah, bayam liar, bayam sayur, bayam ornamental, daun sawi, daun kangkung, daun kelor, dan daun melinjo). Daun melinjo memiliki nilai total fenol tertinggi yaitu 1,56 (GAE) mg/g sayur. Hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut air menghasilkan nilai total fenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut metanol.

Kata kunci: pelarut, aktivitas antioksidan, total fenol.

Abstract. The aim of this study was to observe the effect of various solvent extraction on antioxidant activity and total phenols variety of amaranth and other vegetables (seed amaranth leaves, red amaranth leaves, wild amaranth leaves, green amaranth leaves, ornamental amaranth leaves, mustard leaves, kale leaves, moringa leaves, cassava leaves and melinjo leaves). The results showed that the solvent extraction and various vegetables had very significant effect on antioxidant activity (IC₅₀) and total phenols. The interaction between the type of solvents and type of vegetables had a significant effect on antioxidant activity (IC₅₀), although there was no significant effect on the total phenols. Cassava leaves extracted by using methanol had the higher antioxidant activity (IC₅₀) (16.06 µg/ml) than those of other vegetables (seed amaranth leaves, red amaranth leaves, wild amaranth leaves, green amaranth leaves, ornamental amaranth leaves, mustard leaves, kale leaves, moringa leaves and melinjo leaves). Melinjo leaves had the highest value of total phenol which was 1.56 (GAE) mg/g fresh vegetables. Extracted by water had higher total phenols compared to the methanol solvent.

Keywords: solvent, antioxidant activity, phenol content.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah terjadinya kerusakan diakibatkan oleh radikal bebas dengan jalan meredam aktivitas radikal bebas atau memutus rantai reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas (Bowen, 2003). Penggunaan antioksidan sintetik dewasa ini mulai mendapat perhatian serius karena ada yang bersifat merugikan dan karsinogenik. Oleh karena itu saat ini tengah digalakkan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam, yang relatif lebih mudah didapat dan aman dikonsumsi manusia.

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memisahkan campuran beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Proses ekstraksi yang dilakukan harus efisien. Pemilihan metanol dan air sebagai pelarut yang dipakai dalam penelitian ini karena metanol dan air memiliki sifat kepolaran sesuai dengan kepolaran senyawa yang diekstrak. Penggunaan

metanol ini juga didasarkan pada hasil penelitian Yuslinda et al. (2012) yang menunjukkan ekstrak metanol daun ubi kayu memiliki daya inhibisi terhadap radikal bebas DPPH paling tinggi dibandingkan ekstrak etanol (semipolar) dan ekstrak n-heksan (nonpolar). Selain itu penggunaan air sebagai pelarut dikarenakan harga yang tergolong murah, mudah didapat, dan relatif lebih aman penggunaannya. Adapun tujuan penggunaan air sebagai pelarut pada proses ekstraksi adalah untuk mendapatkan komponen fenolik yang paling banyak. Menurut Shahidi dalam Katja dan Suryanto (2009), pelarut seperti metanol dan air merupakan pelarut yang sangat efektif untuk ekstraksi komponen-komponen fenolik dari bahan alam.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

MATERI DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah beberapa jenis sayuran yaitu bayam biji, bayam merah, bayam sayur, daun sawi, daun kangkung, daun kelor, daun ubi kayu dan daun melinjo yang diperoleh dari pasar Lamnyong. Sedangkan 2 jenis sayuran lainnya yaitu bayam liar dan bayam ornamental diperoleh dari pekarangan rumah warga desa Jeulingke. Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu metanol, natrium karbonat, asam galat, DPPH, reagen *folin ciocalteu* dan akuades.

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, penumbuk porcelen, orbital shaker, vortek, kuvet, spatula, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, kertas saring, tabung reaksi, aluminium foil dan alat-alat analisis berupa spektrofotometer UV-Vis untuk analisis.

Metode

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 10×2 yang terdiri dari dua faktor, yaitu faktor jenis sayuran (S) dan faktor jenis pelarut (P). Faktor jenis sayuran terdiri atas sepuluh taraf, yaitu: S_1 = daun bayam biji, S_2 = daun bayam merah, S_3 = daun bayam liar, S_4 = daun bayam sayur, S_5 = daun bayam ornamental, S_6 = daun sawi, S_7 = daun kangkung, S_8 = daun kelor, S_9 = daun ubi kayu, dan S_{10} = daun melinjo. Faktor jenis pelarut (P) terdiri dari dua taraf, yaitu: P_1 = air dan P_2 = metanol. Dengan demikian terdapat 20 kombinasi perlakuan dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali sehingga diperoleh 40 satuan percobaan.

Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan untuk membandingkan dua jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi antioksidan pada daun sayuran yaitu air dan metanol. Daun sayuran yang akan diekstrak diambil sebanyak 5 gram kemudian dihancurkan dengan penumbuk porcelen. Sayuran yang sudah hancur dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian ke dalam hancuran daun sayuran tersebut ditambahkan 100 ml pelarut (metanol/air) dan diberi goyangan selama 3 jam menggunakan *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Hasil maserasi yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring whatmann No. 4 sehingga diperoleh filtrat dan

residu. Filtrat yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu kamar selama 30 menit untuk dianalisis aktivitas antioksidan dan total fenol.

Analisis Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol

Beberapa jenis daun sayuran yang telah diekstrak kemudian dianalisis aktivitas antioksidan (IC_{50}) (Amin *et al.*, 2006) dan total fenol (Velioglu *et al.*, 1998).

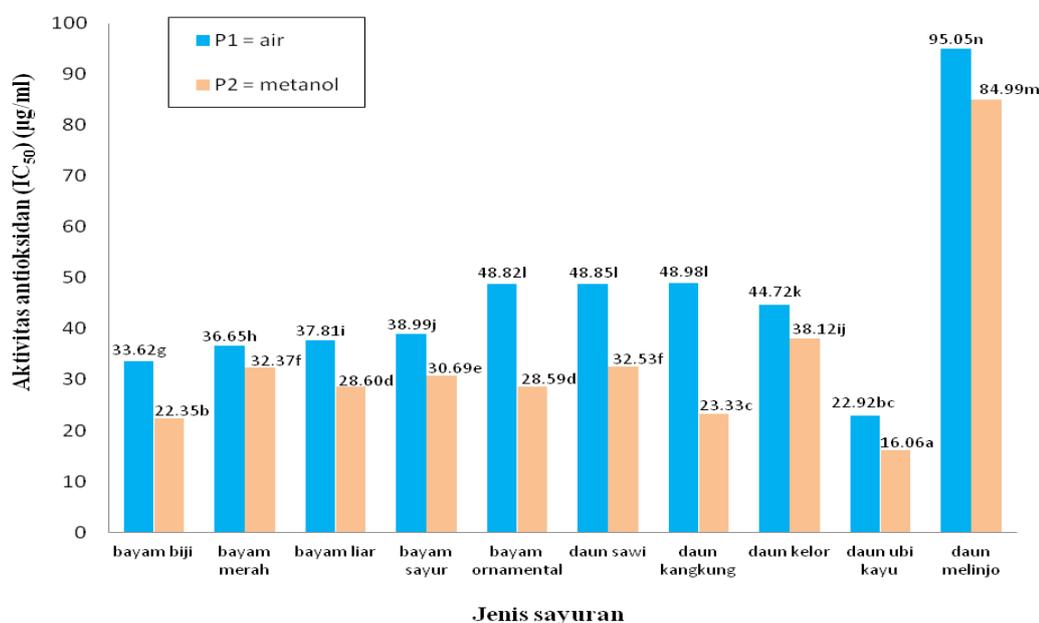
Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA = Analysis of Variance). Bila perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap parameter yang diuji maka akan diteruskan dengan uji lanjutan, yaitu Beda Nyata Terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antioksidan (IC_{50})

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan (IC_{50}) secara spektrofotometer dengan metode DPPH. Berdasarkan hasil sidik ragam aktivitas antioksidan (IC_{50}) terlihat bahwa aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang dihasilkan berkisar antara 15,89 $\mu\text{g/ml}$ – 95,28 $\mu\text{g/ml}$, dengan rata-rata sebesar 39,70 $\mu\text{g/ml}$. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa jenis perlakuan jenis pelarut (P) dan jenis sayuran (S), dan interaksi antara kedua faktor tersebut (PS) berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap aktivitas antioksidan (IC_{50}). Pengaruh interaksi jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan (IC_{50}) beberapa jenis bayam dan sayuran lain dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh interaksi jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan (IC_{50}) beberapa jenis bayam dan sayuran lain (BNT_{0,01} = 0,96; KK = 1,04%) (Notasi huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata).

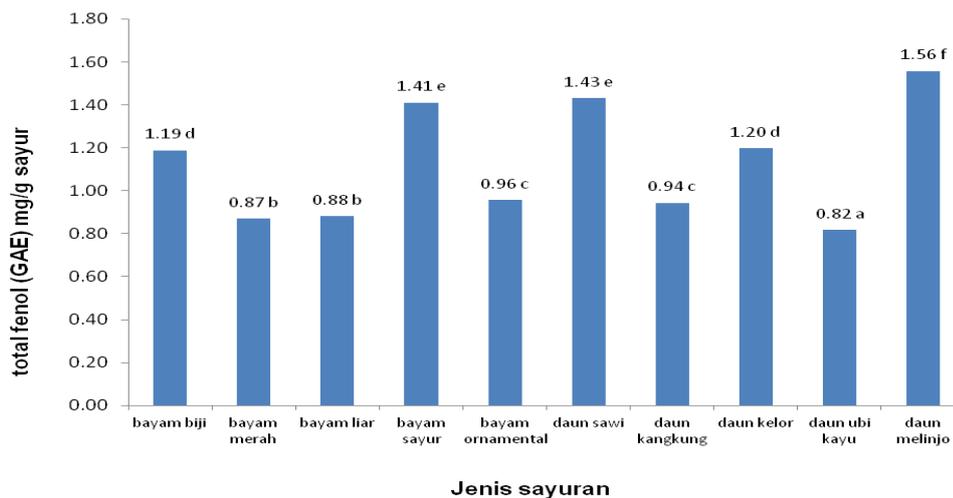
Hasil uji BNT (Gambar 1) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang paling rendah diperoleh pada daun melinjo ($95,05 \mu\text{g/ml}$) yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut air yang berbeda nyata dengan aktivitas antioksidan sayuran lainnya. Nilai IC_{50} menunjukkan kemampuan suatu antioksidan untuk meredam sebanyak 50% radikal bebas. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antioksidan. Dari semua hasil data analisis IC_{50} dengan pelarut metanol maupun air memberikan nilai IC_{50} dibawah $100 \mu\text{g/ml}$ terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan senyawa antioksidan yang dihasilkan pada berbagai jenis sayuran dalam penelitian ini tergolong ke dalam senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Molyneux (2004) bahwa suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari $50 \mu\text{g/ml}$, antioksidan kuat jika nilai IC_{50} bernilai $50-100 \mu\text{g/ml}$, antioksidan sedang jika nilai IC_{50} bernilai $100-150 \mu\text{g/ml}$, dan antioksidan lemah jika nilai IC_{50} bernilai $151-200 \mu\text{g/ml}$.

Gambar 1 juga menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan (IC_{50}) tertinggi terdapat pada daun ubi kayu ($16,06 \mu\text{g/ml}$) yang diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol yang berbeda nyata dengan aktivitas antioksidan (IC_{50}) jenis sayuran lainnya. Byamukama *et al.* (2009) menyatakan bahwa daun ubi kayu merupakan salah satu jenis sayuran yang mengandung komponen senyawa flavonoid yang memiliki tingkat aktivitas antioksidan tinggi. Tingginya aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada daun ubi kayu diduga karena di dalam daun ubi kayu terdapat komponen senyawa flavonoid (senyawa rutin) yang terekstrak dengan menggunakan pelarut metanol. Tsumbu *et al.* (2011) berhasil mengidentifikasi senyawa rutin di dalam daun ubi kayu yang diperkirakan merupakan senyawa yang berperan dalam penghambatan aktivitas radikal bebas. Banyaknya gugus hidroksil pada senyawa flavonoid (rutin) cenderung lebih mudah berikatan dengan metanol yang juga memiliki gugus hidroksil. Menurut Oktiani *et al.* (2009) dan Tsumbu *et al.* (2011), senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun ubi kayu yaitu rutin, rutin merupakan flavonoid jenis flavonol yang mengandung satu glikosida (monoglikosida). Monoglikosida ini menyebabkan kelarutan senyawa rutin dalam air rendah dan lebih larut dalam metanol.

Total Fenol

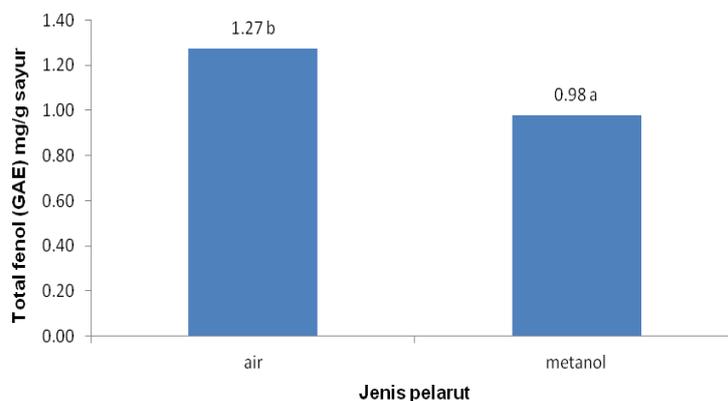
Dari hasil analisis, total fenol sayur-sayuran diperoleh berkisar antara $0,33$ (GAE) mg/g sampai $0,85$ (GAE) mg/g dengan rata-rata $0,56$ (GAE) mg/g (Lampiran 4a). Hasil sidik ragam terhadap total fenol menunjukkan bahwa faktor jenis pelarut (P) dan jenis sayuran (S) berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap total fenol yang dihasilkan. Namun, faktor interaksi antara jenis pelarut dan sayuran (PS) berpengaruh tidak nyata terhadap ($P > 0,05$) terhadap total fenol yang dihasilkan.

Hasil uji BNT (Gambar 2) menunjukkan bahwa total fenol tertinggi diperoleh pada daun melinjo ($1,56$ (GAE) mg/g) yang berbeda nyata dengan jenis sayuran lainnya. Total fenol terendah diperoleh pada daun ubi kayu ($0,82$ (GAE) mg/g) yang berbeda nyata dengan jenis sayuran lainnya. Subekti (1998) menyatakan daun ubi kayu termasuk kelompok sayuran dengan kandungan fenol yang rendah. Tinggi total fenol pada daun melinjo tidak sejalan dengan tingginya aktivitas antioksidan pada daun tersebut. Hal ini diduga karena daun melinjo banyak mengandung senyawa fenol (tanin) dibandingkan dengan sayuran lainnya. Diketahui kandungan tanin dalam daun melinjo sebesar $4,55\%$ (Lestari, 2013). Menurut Ummah (2010), kandungan tanin dalam daun melinjo tertinggi terdapat pada daun muda.



Gambar 2. Nilai total fenol pada beberapa jenis sayuran ($BNT_{0,01} = 0,04$; $KK = 7,12\%$) (Notasi huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata).

Hasil uji BNT (Gambar 3) menunjukkan bahwa total fenol tertinggi diperoleh pada jenis pelarut air 1,27 (GAE) mg/g yang berbeda nyata dengan jenis pelarut metanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut air bersifat sangat polar dibandingkan pelarut metanol sehingga mampu menghasilkan nilai total fenol yang lebih tinggi. Tingginya kandungan total fenol dengan ekstraksi menggunakan pelarut air diduga karena adanya kandungan senyawa fenol (alkaloid, saponin, dan tanin) yang ikut terekstrak dengan pelarut air. Selain itu ekstrak air diduga mempunyai tingkat kesamaan kepolaran dengan senyawa yang didapatkan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Matanjun *et al.* (2008) bahwa air merupakan pelarut yang bersifat sangat polar yang memiliki konstanta dielektrik 80,10 sehingga dapat mengekstrak fenol dengan baik, sedangkan metanol merupakan pelarut yang bersifat polar yang memiliki konstanta dielektrik 30, sehingga kemampuannya untuk mengekstrak senyawa fenol lebih kecil.



Gambar 3. Pengaruh jenis pelarut terhadap total fenol ($BNT_{0,01} = 0,08$; $KK = 7,12\%$) (Notasi huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata)

KESIMPULAN DAN SARAN

Daun ubi kayu yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan (IC_{50}) yang tertinggi (16,06 $\mu\text{g/ml}$) dibandingkan sayuran lainnya (bayam biji, bayam merah, bayam liar, bayam sayur, bayam ornamental, daun sawi, daun kangkung, daun kelor, dan daun melinjo). Daun melinjo memiliki nilai total fenol tertinggi yaitu 1,56 (GAE) mg/g sayur. Hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut air menghasilkan nilai total fenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut metanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, I., Norazaidah, Y., dan Hainida, K.I.E. 2006. *Antioxidant Activity and Phenolic Content of Raw and Blanched Amaranthus Species*. Food Chem. 94: 47–52. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.048.
- Byamukama R, Namukobe J, Kiremire B. 2009. *Anthocyanins from Leaf Stalks of Cassava (Manihot esculenta Crantz)*. African J. Pure Appl. Chem. 3: 20-5.
- Katja, D.G., dan Suryanto, E. 2009. *Efek Penstabil Oksigen Singlet Ekstrak Pewarna dari Daun Bayam Terhadap Fotooksidasi Asam Linoleat, Protein, dan Asam Askorbat*. Chem. Prog., 2,79-86.
- Lestari, S., Malaka, R. dan Garantjang, S. 2013. *Pengawetan Telur dengan Perendaman Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon Linn)*. Tesis. Program Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Matanjun, P.S., Mohamed, Mustapha N.M., Muhammad K, dan Ming C.H. 2008. *Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweed from North Borneo*. J. Appl. Phycol. 20:367-373.
- Oktiani R, Aldi Y, Bakhtiar A. 2009. *Uji Aktivitas Bioflavonoid Rutin dari Daun Singkong (Manihot utilissima Pohl) Terhadap Waktu Pembekuan Darah dan Jumlah Sel Trombosit*. Artikel Hibah Strategis Nasional.
- Subekti. 1998. *Pengaruh Cara Pemasakan Terhadap Kandungan Antioksidan Beberapa Macam Sayuran Serta Daya Serap dan Retensinya pada Tikus Percobaan*. Tesis. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tsumbu, C.N., Dupont, G.D., Tits, M., Angenot, L., Franck, T., Serteyn, D., Mickalad, A.M. 2011. *Antioksidan dan Antiradical Activities of Manihot esculenta Crantz (Euphorbiaceae) Leaves and Other Selected Tropical Green Vegetables Investigated on Lipoperoxidation and Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) Activated Monocytes*. Nutrients. 3: 818-838.
- Ummah, M. K. 2010. *Ekstraksi dan Pengujian Aktivitas Anti Bakteri Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) (Kajian Variasi Pelarut)*. Skripsi. Jurusan Kimia, UIN Malang, Malang.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. dan Oomah, B.D. 1998. *Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products*. J. Agric. Food. Chem, 46, 4113-4117.
- Yuslinda E, Mukhtar H, Khairunnisa. 2012. *Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Beberapa Ekstrak Sayur-sayuran Segar dan Dikukus dengan Metode DPPH*. Scientia. 2 (1): 1-5.