

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI FENOLIK DARI EMPULUR BATANG SAGU BARUK (*ARENGA MICROCARPA*)

Shinta Hardyasar¹⁾, Edy Suryanto²⁾, Defny S. Wewenggang¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi

²⁾Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sam Ratulangi

ABSTRACT

The objectives of this research was to determine the antioxidant activity of the phenolic fraction of sago baruk (Arenga microcarpa). Sago baruk extracted for 2 hours used 80 % ethanol and was fractionation used ethyl acetate, n-butanol, and ethanol. The total phenolic compounds analysis and determination of free radical scavenger activity used DPPH method. Analysis of total phenolic compounds showed fractionation with ethyl acetate I has the highest value to wit 53,77 %, followed by ethyl acetate fraction (39,79%), ethyl acetate fraction II (31,93) %, ethanol extract (18,67%), butanol fractions (15,91 %), and ethanol fraction (4,79%). Results of the determination of free-radical scavengers activity using DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhidrazil) is ethyl acetate fraction has the highest antioxidant activity value to wit 77,58 %, followed by ethyl acetate fraction (61,22%), ethyl acetate fraction II (33,17%), extract ethanol (18,22 %), butanol fraction (15,91%), ethanol fraction (4,68%). The result concluded ethyl acetate fraction sago baruk has phenolic compounds and has ability as antioxidant

keywords: sago baruk, fractionation, phenolic, antioxidant

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan fraksi fenolik dari empulur batang sago baruk (*Arenga microcarpa*). Empulur batang sago baruk diekstraksi selama 2 jam menggunakan pelarut etanol 80% dan difraksinasi dengan etil asetat, n-butanol dan etanol. Ekstrak yang didapat ditentukan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhidrazil). Analisis kandungan total fenolik menunjukkan fraksinasi dengan etil asetat I yaitu 53,77%, diikuti fraksi etil asetat II (31,93%), ekstrak etanol (18,67%), fraksi butanol (15,91%), dan fraksi etanol (4,79%). Hasil dari penentuan aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan metode DPPH yaitu etil asetat I memiliki nilai aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu 77,58%, fraksi etil asetat II (61,22%), ekstrak etanol (18,22%), fraksi butanol (15,91%), fraksi etanol (4,68%). Hasil penelitian menyimpulkan fraksi etil asetat empulur batang sago baruk memiliki kandungan fenolik yang berperan sebagai antioksidan.

Kata kunci : sago baruk, fraksinasi, fenolik, antioksidan

PENDAHULUAN

Berbagai penyakit dalam tubuh dapat disebabkan oleh adanya radikal bebas. Radikal bebas adalah atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas dijumpai pada lingkungan, beberapa logam (contohnya besi dan tembaga), asap rokok, obat, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan lain-lain (Droge, 2002).

Untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, substansi antioksidan berfungsi untuk menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat reaksi berantai (Windono *et al.*, 2001). Senyawa antioksidan mempunyai peranan penting yaitu untuk menyehatkan tubuh, mencegah penyakit seperti kanker yang diakibatkan oleh jenis spesies reaktif (SOR) dan radikal bebas atau bahkan untuk menyembuhkan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat digunakan untuk melindungi komponen biologi seperti lipida, protein, vitamin, dan DNA melalui perlambatan kerusakan, ketengikan dan perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi (Jadhav *et al.*, 1996). Antioksidan ialah molekul yang dengan mudah dapat memberikan elektronnya ke molekul radikal

bebas sehingga dapat menstabilkan molekul radikal bebas dan mencegah proses oksidasi yang tidak diinginkan dalam sel (Zheng dan Wang, 2001). Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa resiko penyakit kronis akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan memanfaatkan peran senyawa antioksidan seperti vitamin C, E, A, karoten, asam-asam fenol, polifenol dan flavonoid (Okawa *et al.*, 2001).

Saat ini beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman fenolik terbukti berguna sebagai antioksidan karena senyawa fenolik terbukti melawan efek bahaya radikal bebas dan

diketahui mampu menurunkan resiko kanker, penyakit jantung koroner, inflamasi dan penyakit neurodegenerative lain yang dihubungkan dengan stres oksidatif (Shahidi dan Naczki, 1995).

Menurut Tahir (2004) bahwa ekstrak empulur, limbah empulur dan limbah cair dari proses pengolahan sagu memiliki aktivitas antioksidan dan tidak memiliki sifat toksik. Penelitian lain menyatakan bahwa senyawa polifenolik dari ekstrak cair sagu menunjukkan secara efektif menurunkan radikal bebas dalam semua jaringan hewan coba (Ramasamy *et al.*, 2005). Suryanto dan Pupilaya (2013) melaporkan bahwa sagu *Metroxylon* jenis sagu ihur memiliki aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik dan flavonoid daripada sagu jenis molat, tuni, duri hitam, kaang dan makanaru.

Sagu baruk merupakan tanaman endemik yang dapat memproduksi karbohidrat yang banyak tumbuh di Kabupaten Situro, Sangihe, dan Talaud. Sagu baruk termasuk tanaman perkebunan karena masa perumbuhan yang panjang, juga sebagai tanaman pangan karena menghasilkan sagu atau karbohidrat yang berasal dari empulur batang, serta dimanfaatkan oleh masyarakat lokal sebagai pangan lokal pengganti beras. Tanaman tersebut membentuk rumpun, sama halnya dengan sagu *Metroxylon* sp yang membedakannya antara lain sagu baruk tumbuh pada lahan kering sedangkan sagu *Metroxylon* sp pada lahan yang basah. Sagu baruk dikenal sebagai tanaman yang melindungi tanah dan ketersediaan air tanaman disekitarnya. Hal ini ditandai dengan kondisi tanaman sagu baruk tetap hijau pada musim kemarau panjang (Marianus, 2011). Pada penelitian sebelumnya belum ada data yang terungkap tentang aktivitas antioksidan fraksi fenolik dari empulur batang sagu.

METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu empulur tanaman sagu baru diperoleh dari daerah Kabupaten Sangihe. Bahan analisis antara lain : etanol 98%, natrium karbonat 5% , asam klorida , etil asetat, butanol, etanol 80%, reagen Folin Ciocalteu, natrium karbonat 2%, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil, dan Akuades.

Pembuatan ekstrak

Sebanyak 500 g serbuk empulur batang sagu baru ditimbang dan dimasukkan dalam tabung destilat dan ditambahkan 1500 mL etanol 80% lalu dipanaskan selama 6 jam pada suhu 98°C. Filtrat diambil untuk dipisahkan dengan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator, lalu di keringkan hingga diperoleh ekstrak etanol.

Fraksinasi dengan beberapa pelarut

Ekstrak etanol sebanyak 5 g dilarutkan dalam natrium karbonat 5% sebanyak 50 mL dan diekstraksi dengan etil asetat maka akan terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas dan lapisan bawah. Lapisan atas adalah fraksi etil asetat pertama, selanjutnya lapisan bawah ditambahkan dengan larutan asam klorida sampai pH 7 kemudian diekstraksi kembali dengan etil asetat maka akan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas fraksi etil asetat kedua dan lapisan bawah. Lapisan bawah kemudian dipisahkan dengan lapisan atas dan ditambahkan dengan butanol maka akan terbentuk 2 lapisan, lapisan atas diambil sebagai fraksi butanol, selanjutnya lapisan bawah ditambahkan dengan etanol 80% maka akan terjadi 2 lapisan, lapisan atas di ambil sebagai fraksi etanol. Setiap fraksi dimasukkan dalam rotary evaporator untuk dipisahkan dengan pelarutnya. Diagram alir fraksinasi dapat dilihat pada gambar 4. Pada penelitian yang sama dilakukan tanpa menggunakan larutan natrium karbonat, ekstrak etanol sebanyak 5 g dilarutkan dalam aquadest sebanyak 50 mL dan diekstraksi dengan etil asetat maka akan

terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas dan bawah. Lapisan atas adalah fraksi etil asetat.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Fraksi kemudian ditentukan kandungan total fenolik dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Jeong *et al.*, 2004). Sebanyak 0,1 mL masing-masing fraksi 1000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex selama 2 menit, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya di baca pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai ekivalen asam galat mg/kg ekstrak.

Penentuan Penangkal Radikal Bebas DPPH (Burda dan Olezek, 2001)

Sebanyak 0,5 mL masing- masing fraksi ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 93 µm dalam etanol dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrometer UV-Vis. Aktivasi penangkal radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

Aktivitas penangkal radikal bebas (%) =

$$1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi control}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Empulur batang sagu baru diekstraksi dengan pelarut etanol 80% dengan metode refluks yang umum untuk mengekstraksi sampel tumbuhan. Empulur batang sagu baru

dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Serbuk empulur batang sagu baruk ditimbang sebanyak 500 g lalu di refluks dengan menggunakan pelarut etanol 80% selama 2 jam pada suhu 98°C, sampel disaring menggunakan kertas saring. Kemudian filtratnya dievaporasi untuk memisahkan ekstrak dan pelarutnya. Ekstrak yang telah terpisah dari pelarut dikeringkan dalam oven pada suhu 40 °C sampai ekstrak kering. Setelah kering ekstrak dikeruk dan ditempatkan dalam wadah.

Randemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi 500 g serbuk empulur batang sagu baruk dengan pelarut etanol 80% sebanyak 1500 mL dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen hasil ekstrak dari empulur batang sagu baruk

Massa (g)		Rendemen (%)
Sampel	Ekstrak kering	
500	7,73	1,54
500	5,02	1,00

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa rendemen pada ekstrak empulur batang sagu baruk dengan pelarut etanol 80% sebanyak (1,54%) dan (1,00%). Rendemen yang dihasilkan merupakan jumlah senyawa yang terekstrak oleh berbagai macam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda (Syahbirini, dkk, 2005). Harborne (1983), menyatakan bahwa komponen fenolik dapat diekstraksi dari bahan tumbuhan dengan menggunakan pelarut polar seperti air, etanol, methanol dan aseton. Penggunaan etanol sebagai pelarut membuat senyawa fenolik dalam empulur batang sagu baruk terekstraksi, karena senyawa polar melarutkan polar. Etanol 80% diduga dapat melarutkan senyawa fitokimia secara maksimal dan mampu menarik beberapa senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, glikosida flavonoid serta klorofil yang terlarut dalam

pelarut polar. Senyawa-senyawa yang diekstrak oleh pelarut etanol 80% cukup banyak dan menghasilkan rendemen yang tinggi (Melodita, 2011). Harborne (1983), menyatakan bahwa komponen fenolik dapat diekstraksi dari bahan tumbuhan dengan menggunakan pelarut polar seperti air, etanol, methanol dan aseton. Penggunaan etanol sebagai pelarut membuat senyawa fenolik dalam empulur batang sagu baruk terekstraksi, karena senyawa polar melarutkan polar.

Fraksinasi dengan beberapa pelarut

Sebanyak 5 g ekstrak etanol yang diperoleh dilarutkan dalam larutan Na₂CO₃ 5% sebanyak 100 mL sehingga ekstrak etanol dari empulur batang sagu baruk dalam keadaan basa kemudian diekstraksi dengan etil asetat (fraksi etil asetat I) sebanyak 50 mL. Kemudian ekstrak sisa di netralkan menggunakan asam menjadi pH 7 dan diekstraksi kembali menggunakan etil asetat (fraksi etil asetat II), butanol dan etanol. Rendemen yang di peroleh dari hasil partisi 5 g sampel dapat lihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen hasil fraksinasi ekstrak empulur batang sagu baruk. Keterangan : FEA I = Fraksi etil asetat I, FEA II = Fraksi etil asetat II, FB= Fraksi butanol, FE= Fraksi etanol, FEA= Fraksi etil asetat

Fraksi	Berat (g)	Rendemen (%)
FEA	0,5	10
FEA I	0,46	9,2
FEA II	0,22	4,4
FB	0,63	12,6
FE	2,64	52,8

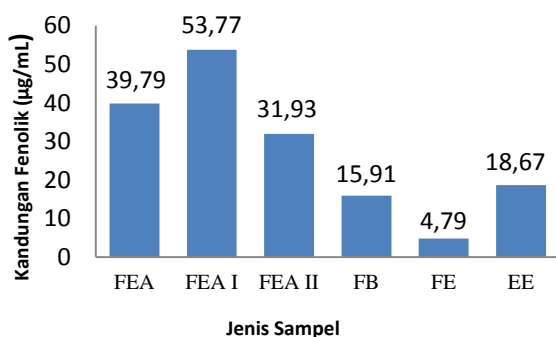
Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa fraksi etanol mempunyai rendemen paling tinggi diikuti dengan fraksi butanol, fraksi etil asetat , fraksi etil asetat I dan fraksi etil

asetat II. Hasil perolehan rendemen berturut-turut adalah 52,58; 12,6; 10; 9,2; 4,4 %. Tingginya rendemen fraksi etanol disebabkan karena terdapat senyawa polar yang terkandung dalam ekstrak kasar empulur batang sagu baruk sehingga senyawa polar tersebut larut dalam pelarut etanol.

Kandungan Total Fenolik

Penentuan kandungan total fenolik, flavonoid dan tannin dilakukan untuk mengetahui potensi antioksidan dalam suatu ekstrak (Pratt dan Hudson, 1990). Dalam penelitian ini, kandungan total fenolik dilihat berdasarkan perbedaan pelarut yaitu etil asetat, butanol, dan etanol.

Penentuan kandungan total fenolik dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak empulur batang sagu baruk sebagai penangkal radikal bebas dan mengetahui peranan senyawa fenolik sebagai antioksidan. Pengujian ini menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Huang dan Yen, 2002) untuk menentukan secara kuantitatif senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak tanaman. Metode Folin digunakan secara luas dalam beberapa penelitian karena reagen Folin-Ciocalteu dapat mendeteksi semua senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak. Total kandungan fenolik untuk kelima sampel dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kandungan total fenolik ekstrak empulur batang sagu baruk (Ket : FEA = Fraksi etil asetat, FEA I= Fraksi etil asetat I, FEA II = Fraksi etil asetat II, FB= Fraksi butanol, FE = Fraksi etanol, EE= Ekstrak etanol)

Berdasarkan Gambar 4 diatas, dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat I memiliki kandungan total fenolik yang paling tinggi yaitu 53,77%, diikuti dengan fraksi etil asetat (39,79%), fraksi etil asetat II (31,93%), ekstrak etanol (18,67%), fraksi butanol (15,91%), dan fraksi etanol (4,79 mg/kg). Total fenolik pada fraksi etil asetat I memiliki total fenolik paling tinggi dari fraksi lainnya karena pada uji kandungan total fenolik menghasilkan warna paling biru dibandingkan dengan fraksi lainnya.

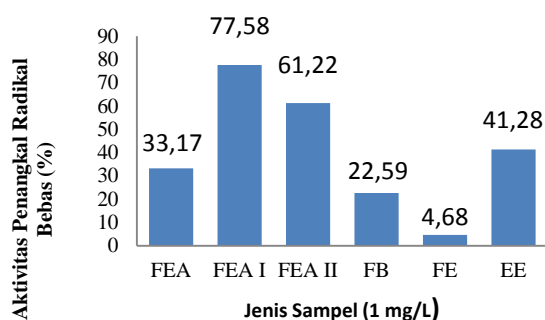
Kandungan total fenolik dalam sampel ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam empulur batang sagu baruk, bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu yang berwarna kuning dan akan berubah menjadi warna biru. Semakin tua intensitas warnanya menandakan semakin tingginya kandungan total fenol di dalam ekstrak (Shahidi dan Naczki, 1995).

Aktivitas penangkal radikal bebas dengan DPPH

Aktivitas antioksidan dari ekstrak empulur batang sagu baruk dilakukan dengan metode penangkal radikal bebas DPPH. Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Proses penangkapan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron (Pokorny *et al.*, 2001).

Senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal bebas akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan

warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004). Aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan uji DPPH pada konsentrasi 1000 ppm dapat dilihat pada gambar 5 dibawah:



Gambar 5. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH Empulur Batang Sagu Baruk. (Ket : FEA = Fraksi etil asetat, FEA I= Fraksi etil asetat I, FEA II = Fraksi etil asetat II, FB= Fraksi butanol, FE = Fraksi etanol, EE= Ekstrak etanol).

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Gambar 5, maka dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat I memiliki kemampuan penangkal radikal bebas yang paling tinggi yaitu 77,58%, diikuti fraksi etil asetat II (61,22%), fraksi etil asetat (33,17), ekstrak etanol (41,28%), fraksi butanol (22,59%), dan fraksi etanol (4,68%). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak empulur batang sagu baruk memiliki kemampuan yang baik dalam menangkal radikal bebas.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa fraksi etil asetat I memiliki total fenolik paling tinggi diikuti fraksi etil asetat, fraksi etil asetat II, ekstrak etanol, fraksi butanol dan fraksi etanol sedangkan pada pengujian penangkalan

radikal bebas DPPH fraksi etil asetat I menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi daripada fraksi etil asetat II, ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi butanol dan fraksi etanol.

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai antioksidan dalam empulur batang tanaman sagu baruk.

DAFTAR PUSTAKA

- Burda, S. Dan W. Oleszek. 2001. Antioxidants and Antiradical Activities of Flavanoids. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2774-2779
- Droge, W. 2002. Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 82: 47-95
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. dan Madhavi, D.L. 1996. Lipid Oxidation in Biological and System. Dalam D.L. Madhavi, S.S. Deshpande and D.K. Salunkhe (eds.) *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health, Drespctives.* Marcel Dekker, Inc, New York.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia* . Jilid II. Penerbit ITB : Bandung.
- Hung, C-Y. dan G-C. Yen, 2002 antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Hems. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 2993-2997
- Marianus. 2011. *Tanaman sagu baruk (Arenga microcarpha) sebagai sumber pangan local di Kabupaten Kepulauan Sangihe.* Pasca sarjana Universitas Brawijaya. Malang.

- Melodita, R. 2011. *Identifikasi Pendahuluan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hitam Dengan Perlakuan Jenis Pelarut*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Molyneux, P. 2004. The use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J.Sci Technol.* 26: 211-219.
- Okawa M., Kinjo., Nohara, T., Ono, M., 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medical Plants, *Biol Pharm Bull.* 24(10): 1202-1205.
- Pratt, D.E. dan B.J.F. Hudson. 1990. Natural Antioxidant not Exploited Commercially. Di dalam: B.J.F. Hudson, eds. *Food Antioxidants*. Elsevier Science, London.
- Pokorny J, and Korczak, J. 2001. Preparation of natural antioxidant. In: M. Gordon (Ed.), *Antioxidant In Food*. CRC Press. New York, Washington D.C. 311-330.
- Ramasamy, P., Perumal, P., Laura, D., dan Melisa, H., 2005. Effect of Metroxylon sago polyphenol feeding on the free radical scavenging enzymes in hamster tissue. In IUBMB 50th Anniversary Symposium, Budapest, Hungary
- Suryanto, E., dan Papilaya, M. 2013. Komposisi Fenolik dan Aktivitas Antioksidan dari 6 Jenis Tanaman Sagu (*Metroxylon sago* Rottb). Proseding. Seminar Nasional Kimia Terapan Indonesia. Solo.
- Tahir, N.I.M., 2004. Extraction and Screening of Antioxidants in Metroxylon sago. Thesis. Biotechnology Programme, School of Science & Technology. Universiti Malaysia Sabah.
- Windono, T., Soediman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielita, Erowati, T. I. 2001. Uji Perendaman Radikal Bebas Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) probolinggo Birudan Bali. *Artocarpus*. 1, 34-43
- Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric Food Chem.* 49: 5165-5170.

