

AKTIVITAS ANTIFOTOOKSIDASI DAN FOTOPROTEKSI FRAKSI PELARUT DARI DAUN GEDI (*Abelmoschus manihot* L)

Reliana Abigael^{1*}, Edi Suryanto¹ dan Dewa G. Katja¹

¹Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi,
Jl. Kampus Unsrat, Kleak, Manado 95115 Sulawesi Utara

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antifotooksidasi mengukur nilai SPF dari ekstrak metanol daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L). Daun gedi diekstraksi dengan cara sokletasi. Dalam penelitian ini sampel diekstraksi dengan pelarut metanol, difraksinasi dengan pelarut petroleum eter, etil asetat, butanol dan akuades. Dari hasil fraksinasi tersebut kemudian diuji aktivitas antifotooksidasi dan fotoprotektif. Kandungan fenolik menggunakan asam galat sebagai larutan standart. Uji Aktivitas antifotooksidasi ditentukan dengan menghitung nilai diena terkojugasi yang merupakan pembentukan awal oksidasi pada lipid. Semakin rendah nilai diena terkojugasi, maka semakin baik sebagai antifotooksidasi. Untuk penentuan fotoprotektif, dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm dengan konsentrasi 100 µg/mL. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki kandungan fenolik, aktivitas antioksidan, antifotooksidasi, dan fotoprotektif yang paling tinggi. Hasil yang diperoleh menunjukkan total fenol paling tinggi pada fraksi etil asetat yaitu 110.204 µg/mL, sedangkan untuk aktivitas antioksidan 57.72%. Hasil pada aktivitas antifotooksidasi menunjukkan bahwa fraksi Etil asetat menunjukkan kemampuan yang paling baik dan untuk fotoprotektif memiliki nilai SPF yang tinggi adalah etil asetat yaitu 9.03.

Kata kunci: Daun gedi, fenolik, antioksidan, antifotooksidasi, fotoprotektif, SPF

ABSTRACT

This study aimed to determine the antifotooxidation activity measuring the SPF value of the solvent fraction of the leaves of Gedi (*Abelmoschus manihot* L). Gedi leaves extracted by sokletation. In this study the samples were extracted with methanol solvent, fractionated with petroleum ether, ethyl acetate, butanol and aquades. The results of the fractionation were then tested for antifotooxidation and photoprotective activity. Phenolic content uses gallic acid as a standard solution. The antifotooxidation activity test is determined by calculating the conjugated diene value which is the initial formation of oxidation in the lipid. The lower the conjugated diene value, the better it is antifotooxidation. For photoprotective determination, a UV-Vis spectrophotometer was carried out at a wavelength of 290-320 nm with a concentration of 100 µg / mL. The results of this study indicate that the highest ethyl acetate fraction has the highest phenolic content, antioxidant activity, antifotooxidation and photoprotective. The results obtained showed the highest total phenol in the ethyl acetate fraction of 110,204 µg / mL, while for antioxidant activity 57.72%. The results of the anti photooxidation activity showed that the ethyl acetate fraction showed the best ability and for the photoprotective the high SPF value was ethyl acetate namely 9.03.

Keywords: Gedi leaves, phenolic, antioxidants, antifotooxidation, photoprotective, SPF

PENDAHULUAN

Tumbuhan gedi (*Abelmoschus manihot* L) merupakan tanaman yang tumbuh di Sulawesi Utara biasanya digunakan sebagai daun sayuran segar oleh masyarakat sekitar, dan dilaporkan menjadi salah satu sumber antioksidan diantaranya mengandung senyawa fenolik dengan efek terapeutik seperti antibakteri, antikoagulan, dan antioksidan (Taroreh dkk., 2015). Ekstrak daun gedi memiliki kandungan antioksidan yang efektif dalam menghambat radikal bebas sekitar 50%. Ini didasarkan pada penggolongan keefektifan senyawa antioksidan berdasarkan IC₅₀, yakni jika suatu senyawa memiliki nilai IC₅₀

200-1000 ppm tergolong kurang aktif. Namun, masih bersifat antioksidan dan jika suatu senyawa memiliki nilai IC₅₀ <200 ppm tergolong sangat efektif. Vitamin C digunakan sebagai pembanding memiliki nilai IC₅₀ yang tergolong sangat efektif dalam menghambat radikal bebas.

Black (1999), menyatakan bahwa antioksidan memiliki potensi sebagai fotoprotektor. Oleh karena itu, tanaman fenolik dapat digunakan dalam pencegahan generasi radikal bebas oksigen dan peroksidasi lipida yang diinduksi oleh cahaya ultraviolet (UV), yaitu peristiwa yang melibatkan keadaan patologis seperti antiaging dan kanker kulit. Paparan sinar matahari dapat menyebabkan berbagai reaksi

* Korespondensi :

Telpon: +62 858-5775-3700

E-mail : jdpswanger@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.12.1.2019.27297>

fotokimiawi seperti fotooksidasi. Tabir surya dapat menyerap sedikitnya 85% sinar matahari pada panjang gelombang 290-320 nm untuk UVB tetapi dapat meneruskan sinar pada panjang gelombang lebih dari 320 nm untuk UVA (Suryanto, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antifotooksidasi mengukur nilai SPF dari ekstrak metanol daun gedi. Oleh karena itu, dilakukan penelitian dengan tujuan menganalisis aktivitas antifotooksidasi dan fotoprotektif yang terdapat dalam daun gedi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan antara lain daun gedi, methanol, larutan DPPH, asam linoleat, tween 20, petroleum eter, etil asetat, butanol dan aquades. Alat yang digunakan antara lain alat gelas laboratorium, alat soxhlet, spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, dan neraca analitik.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara soxhletasi menggunakan pelarut metanol. Sebanyak 26 g sampel dibungkus menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam tabung soxhlet, ditambahkan pelarut metanol sebanyak 250 mL kemudian di soxhletasi. Filtrat disaring lalu diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya dengan menggunakan rotary evaporator, sehingga diperoleh ekstrak kental daun gedi.

Penentuan penangkal radikal DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas serbuk daun gedi ditentukan dengan metode Burda & Oleszcz (2001). Sebanyak 0,5 mL masing-masing ekstrak daun gedi 1000 µg/mL ditambahkan dengan 1,5 mL larutan DPPH 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 waktu inkubasi, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$APRB (\%) = \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}}\right) \times 100\%$$

Penentuan potensi antifotooksidasi terhadap asam linoleat

Dibuat stok emulsi dari 1,5 g asam linoleat ditambahkan 6 mL aquades, distirer selama 5 menit, lalu ditambahkan 2,5 gr tween 20 kemudian distirer kembali selama 10 menit. Diambil 1 g stok tersebut, dan ditambahkan 5 mL aquades distirer selama 2 menit, selanjutnya ditambah 5 mL aquades sebanyak 4 kali penambahan sehingga total stirrer sebanyak 10 menit. Pengaruh masing-masing ekstrak terhadap oksidasi oksigen singlet diuji dalam asam linoleat yang mengandung 5 µg/mL eritrosin dalam emulsi sebagai sensitiser.

Efek ekstrak terhadap fotooksidasi asam linoleat menggunakan konsentrasi 500 µg/mL. Sampel dari campuran tersebut diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam botol serum berukuran 10 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Analisis hidroperoksida diena terkonjugasi dilakukan selama 5 jam penyinaran. Pengukuran nilai hidroperoksida diena terkonjugasi dimulai dengan memipet sampel emulsi 30 µg/mL. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 3 mL metanol absolute. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 234 nm. Setelah diketahui absorbansi, dengan rumus Lambert-Beer ($A=εbc$) maka dapat dicari konsentrasi hidroperoksida diena terkonjugasi karena diketahui: $ε = 26\ 000\ M^{-1}cm^{-1}$ untuk linoleat hidro peroksida, $b = 1\ cm$

Penentuan nilai SPF secara *in vitro*

Penentuan efektifitas fotooksidasi daun dilakukan dengan penentuan nilai SPF secara *in vitro* untuk sampel petroleum eter, etil asetat, butanol dan aquades dengan konsentrasi 1000 µg/mL menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 290-320 nm. Berikut adalah perhitungan nilai SPF menurut Mansur dkk. (1986):

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{absorbansi}(\lambda)$$

Keterangan CF: faktor koreksi (10), EE: Efisiensi Eritemal, I: spectrum simulasi sinar surya dan abs (I) absorbansi produk tabir surya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Menurut Harborne (1987) pelarut metanol diduga mempunyai sifat yang dapat melarutkan semua jenis komponen yang berupa senyawa polar, non polar dan semi polar. Proses sokletasi

akan menghasilkan filtrat dan residu. Filtrat yang didapat kemudian dilanjutkan pada tahap fraksinasi. Pada proses ekstraksi sokletasi serbuk daun gedi (*Abelmoscus manihot L*) menghasilkan ekstrak sebanyak 1.093g dengan ekstrak berwarna cokelat dan diperoleh nilai rendemennya sebesar 6.83% dan juga senyawa fenoliknya 43.78 $\mu\text{g/mL}$.

Fraksinasi

Ekstraksi cair-cair merupakan proses pemisahan terlarut dari cairan pembawanya (diluen) dengan menggunakan pelarut cair. Dalam prosedur telah dijelaskan tentang cara dan prinsip kerja dari partisi cair-cair yaitu dengan penggunaan lebih pelarut polar dan nonpolar, karena prinsip ekstraksi adalah senyawa polar cenderung lebih larut dalam pelarut polar dan sebaliknya. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa keseluruhan berat rendemen memiliki angka di bawah 1 (satu). Hal tersebut dipengaruhi oleh jumlah rendemen awal dari ekstrak metanol.

Tabel 1. Rendemen dari fraksi fraksi daun gedi

Fraksi	Berat akhir (g)	Rendemen (%)
PE	0,14	13,81
EA	0,21	21,15
B	0,23	23,38
AK	0,73	72,64

Keterangan: PE (fraksi petroleum eter), EA (fraksi etil asetat), B (butanol), AK (akuades)

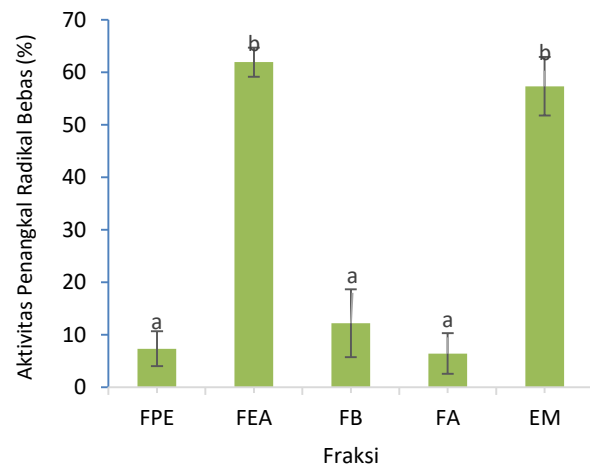
Taroreh dkk. (2015) menyatakan bahwa metanol dapat mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti senyawa fenolik, protein dan karbohidrat. Sedangkan heksana dan aseton dapat melarutkan senyawa-senyawa yang kurang polar seperti lemak, fosfolipid, klorofil serta senyawa fenolik yang kurang polar. Hal ini menunjukkan bahwa komponen senyawa bersifat polar pada daun gedi persentasenya lebih besar dibandingkan dengan komponen senyawa yang bersifat non polar. Oleh karena itu digunakan ekstrak metanol yang kemudian lanjutkan kefraksinasi dengan cara ekstraksi cair-cair.

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas

Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH membentuk DPPH-H yang tereduksi. Reaksi ini diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH

telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux dalam Malangngi 2004). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, efektif dan praktis (Molyneux, 2003).

Senyawa yang berperan dalam menangkal radikal diduga adalah tanin. Hal ini dikarenakan senyawa tanin dapat berikatan dengan protein. Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville dkk., 2010). Perbedaan kemampuan antioksidatif senyawa antioksidan ini terhadap radikal bebas DPPH disebabkan karena perbedaan kemampuan mentransfer atom hidrogen (Nakiboglu dkk., 2007). Metode DPPH merupakan senyawa radikal nitrogen. DPPH akan mengambil atom hidrogen yang terdapat dalam suatu senyawa, misalnya senyawa fenol. Pengujian aktivitas penangkal radikal bebas ini dilakukan dengan mereaksikan larutan ekstrak masing-masing fraksi dengan larutan DPPH dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Metode penangkalan radikal ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas ini menangkap satu elektron dari senyawa antioksidan (Pokorny dkk., 2001) Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 1.



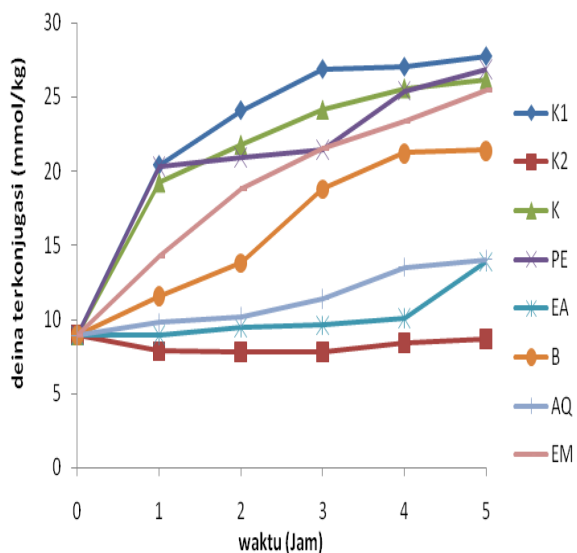
Gambar 1. Penangkal radikal bebas dari ekstrak metanol dan fraksi pelarut daun gedi. Keterangan: fraksi petroleum eter (FPE), fraksi etil asetat (FEA), fraksi butanol (FB), fraksi air (FA) dan ekstrak metanol (EM).

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui bahwa hasil analisis penangkal radikal bebas terhadap fraksi etil asetat menunjukkan persentase penangkal radikal bebas pada daun gedi memiliki

aktivitas antioksidan yang paling tinggi etil asetat sebesar (57,72%) apabila dibandingkan dengan ekstrak metanol (61,91%), fraksi butanol (7,33%), fraksi petroleum eter (12,17%), dan fraksi air (6,414%). Hal ini membuktikan bahwa hasil ini hampir berbanding lurus dengan kandungan fenolik dari hasil masing-masing fraksi tersebut.

Potensi fotooksidasi terhadap asam linoleat

Dalam Gambar 2 asam linoleat yang tidak diberi cahaya tidak mengalami perubahan, begitupun sebaliknya. Maka dapat dikatakan bahwa semakin rendah dinilai diena terkonjugasi maka semakin baik suatu sampel sebagai antifotooksidasi. Cahaya berpengaruh pada proses pembentukan oksigen singlet, dengan demikian oksigen singlet yang terbentuk pada keadaan tanpa cahaya (K2) sangatlah kecil sehingga menghasilkan diena terkonjugasi yang kecil pula. Gambar 3 menunjukkan kandungan diena terkonjugasi dalam emulsi dari ekstrak daun gedi dengan konsentrasi 500 µg/mL.



Gambar 2. Kandungan diena terkonjugasi dari fraksi pelarut petroleum eter (FPE), fraksi etil asetat (FEA), fraksi butanol (FB), fraksi air (FA), ekstrak metanol (EM), kontrol cahaya (K1), kontrol tanpa cahaya (K2), kontrol emulsi (K).

Pengaruh 500 ppm ekstrak daun gedi terhadap diena terkonjugasi asam linoleat yang diberi cahaya dapat dilihat dalam gambar 3, fraksi EA mempunyai pengaruh yang paling kuat untuk penstabil oksigen singlet dibandingkan dengan fraksi lainnya. Pada konsentrasi tinggi eritrosin juga mempengaruhi fotooksidasi asam linoleat hal ini dibuktikan dalam penelitian Suryanto dkk. (2004) dimana eritrosin dibandingkan dengan

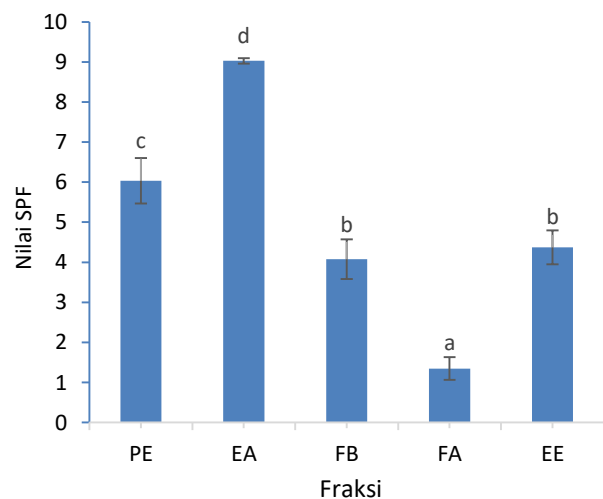
riboflavin pada konsentrasi yang sama namun didapatkan hasil bahwa eritrosin lebih efektif.

Dari data tersebut diperoleh bahwa semua fraksi memiliki kemampuan untuk menghambat oksidasi oksigen singlet dengan kapasitas masing-masing. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mampu melindungi lipid yang terdapat pada sistem emulsi. Diikuti dengan fraksi air, fraksi butanol, ekstrak methanol, dan fraksi petroleum eter. Pada pengujian ini, fraksi air juga menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan fraksi etil asetat pada sampel uji.

Fotosensitizer seperti eritrosin dapat menyerap cahaya dan mentransformasikan menjadi keadaan tereksitasi selanjutnya berubah menjadi sensitizer pada keadaan triplet yang kurang stabil. Sensitizer dapat memindahkan energinya pada oksigen pada keadaan triplet yang lebih stabil karena tingkat energy sensitizer sangat tinggi sehingga dapat mengubah oksigen triplet menjadi oksigen singlet yang menyerang ikatan rangkap dalam asam linoleat. Suryanto dkk. (2004).

Penentuan SPF secara *in vitro*

Analisis secara *in vitro*, dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan cara menghitung nilai absorbansi sampel yang dibaca pada panjang gelombang 290-400 nm kemudian setiap interval 5 nm. Penentuan efek fotoproteksi dilakukan dengan penentuan nilai SPF secara spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang 290 sampai 320 nm (sesuai panjang gelombang UV-B). Nilai SPF dari kelima fraksi pelarut dan ekstrak metanol daun gedi pada konsentrasi 100 µg/mL dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Perbandingan nilai SPF dari ekstrak metanol dan fraksi pelarut dari daun gedi.

Dari Gambar 3, dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai SPF yang paling tinggi yaitu 9.03 diikuti dengan petroleum eter sebesar 6.04, ekstrak metanol 4.37, fraksi butanol, fraksi air merupakan nilai terendah dari semua ekstrak. Data ini mengindikasikan bahwa fraksi etil asetat memiliki kemampuan sebagai fotoproteksi terhadap sinar matahari khususnya UV-B. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wulandari (2017) Hasil uji pada tikus putih setelah dioleskan krim ekstrak daun soyogik, tikus tidak memiliki eritema karena mempunyai Proteksi ultra sebagai perlindungan tabir surya. tikus yang terjadi iritasi sejak bulu punggung tikus dicukur, tapi setelah dilakukan penyinaran dengan krim ekstrak dan kontrol positif, kulit punggung tikus yang iritasi bisa sembuh. Proses penyembuhan iritasi pada punggung tikus karena adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak daun soyogik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun gedi memiliki aktivitas antifotooksidasi lebih efektif dibandingkan dengan fraksi butanol, fraksi petroleum eter, dan fraksi air. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan fraksi dalam melindungi lipid pada sistem emulsi yang induksi dengan cahaya. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas fotoprotektif paling tinggi daripada ekstrak metanol, fraksi petroleum eter, fraksi butanol dan fraksi air.

DAFTAR PUSTAKA

- Black, H.S., 1990. Antioxidant and caretenoids as potential photo-protectans. Sunscreen development evaluation and regularitory prospects. 10: Marcel Dekker Inc., New York.
- Burda, S.W., & Oleszek. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Jurnal of Agriculture and Food Chemistry*. 49 (6), 2774-2779.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Terjemahan K. Padmawinata dan I Soediro. ITB, Bandung.
- Wungkana, I., Suryanto, E. & Momuat, L. 2013. Aktivitas antioksidan dan tabir surya fraksi fenolik dari limbah tongkol jagung (*Zea mays* L.). *PHARMACON*. 4 (2), 149-155.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C., Han, D.U. & Lee, S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(11), 3389-3393.
- Katja, D.G. & Suryanto, E. 2009. Efek penstabil oksigen singlet ekstrak pewarna dari daun yayam terhadap fotooksidasi asam linoleat, protein dan vitamin C. *Chemistry Progress*. 2 (2), 79-86.
- Malangngi, P.L., Sangi, S.M. & Paendong, J.E. Jessy. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill. *Jurnal MIPA UNSRAT*. 1(1), 5-10.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Suryanto, E., Raharjo, S., Sastrihamidjojo & Tranggono. 2004. Aktivitas antiradikal ekstrak buah andalamin (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). *Indonesian Food and Nutriion Progress*. 11(1), 16-20.
- Taroreh, M., Raharjo, S., Hastuti, P. & Murdiati, A. 2014. Antioxidant activities of various solvent extracts of gedi's (*Abelmoschus manihot*) leaves. Report of International Conference on food for a quality life. Indonesia: *The Indonesian Association of Food Technologist*. 9 (2016), 271-278.
- Wulandari, S. Sartika., Runtuwene, R.J. Max., Wewengkan, S. Defny. 2017. Aktivitas perlindungan tabir surya secara in vitro dan in vivo dari krim ekstrak etanol daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Jurnal Pharmacon*. 3(6), 147-156.