

UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN MIMBA (*Azadiracta indica Juss*)

Supriyanto¹, Simon.BW², Rifa'i.M³, Yunianta²

¹ Mahasiswa S3 Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

² Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

³ Staf Pengajar Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang

E-mail: maspri1704@yahoo.com

Abstrak

Tanaman mimba salah satu tanaman herbal asli Indonesia yang mempunyai banyak manfaat. Salah satu potensi tanaman mimba sebagai antioksidan yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Ekstrak daun mimba mengandung berbagai bioaktif diantaranya berfungsi sebagai anti oksidan, anti bakteri, anti jamur. Pada penelitian ini daun mimba ekstrak dengan metode maserasi selama 3x 24 jam dengan variasi pelarut yaitu air, etanol 60%, etanol 80%, methanol 60% dan methanol 80%. Hasil ekstraksi daun mimba selanjutnya dianalisa fitokimia meliputi flavonoid, tannin, terpenoid, dan saponin. Serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak methanol 80% mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC50 sebesar 83,28.

Kata kunci: daun mimba, Antioxidant, DPPH, IC50

1. PENDAHULUAN

Tanaman mimba (*Azadirachta indica Juss.*) adalah tanaman yang termasuk dalam family *meliaceae* dan banyak ditemukan di negara-negara tropic seperti India, Pakistan, Burma dan Indonesia (Asif 2012). Tanaman mimba di India dikenal dengan nama *neem* atau *nimb* (Puri 2006), sedangkan di Indonesia dikenal sebagai imba atau mimba (jawa), membha (Madura) atau intaran (Bali). Tanaman ini tumbuh di dataran rendah pada ketinggian 300 meter di atas permukaan air laut. Mimba di Indonesia bisa ditemui hampir di semua daerah terutama di Jawa Barat, Jawa Timur dan Madura. Selama ini daun mimba hanya digunakan untuk pagar, pakan ternak atau digunakan sebagai obat secara tradisional.

Tanaman mimba (*Azadirachta indica Juss.*) merupakan pohon yang tinggi batangnya dapat mencapai 20 m. Tanaman mimba mengandung senyawa bioaktif baik pada bagian batang, daun maupun bijinya. Menurut (Asif 2012). Hampir semua bagian dari pohon mimba mempunyai khasiat obat. Daun mimba mengandung senyawa-senyawa bioaktif diantaranya adalah β -sitosterol, hyperoside, nimbolide, quercetin, quercitrin, rutin, azadirachtin, dan nimbine (Asif, 2012).

Ekstrak daun mimba mempunyai aktifitas sebagai antioksidan (Balaji and Cheralathan 2015). Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda atau memperlambat kecepatan oksidasi bahan-bahan yang teroksidasi (Nawar, 1996). Antioksidan dapat menghambat oksidasi lipid melalui pengikatan oksigen secara kompetitif, menghambat tahap *inisiasi*, memblokir tahap propagasi dengan cara merusak atau mengikat radikal bebas, menghambat catalis atau menstabilkan hidrogenperoxide (Saeed *et al.*, 1999). Selain bersifat antioksidan daun mimba juga bersifat anti bakteri. Menurut (Susmitha *et al.* 2013) mimba mengandung senyawa bioaktif alkaloid, steroid, flavonoid saponin dan tannin. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella* dan *E. coli*.

Senyawa bioaktif tersebut terdapat dalam jaringan sehingga perlu dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan senyawa bioaktifnya. Metode maserasi dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa bioaktif yang ada pada daun mimba. Ekstraksi menggunakan maserasi mempunyai kelebihan yaitu mudah dan murah. Keberhasilan metode ekstraksi menggunakan maserasi ditentukan oleh jenis pelarut, konsentrasi pelarut serta waktu maserasi. Sehingga perlu dilakukan perlakuan pendahuluan untuk mengetahui kondisi optimum dalam mengekstrak senyawa bioaktif tersebut.

Ekstraksi senyawa bioaktif yang telah dilakukan pada daun mimba dengan menggunakan pelarut yang berbeda-beda (Khan et al. 2010). (Aristiani & Astuti 2005) melakukan ekstraksi daun mimba dengan pelarut chloroform dengan metode maserasi selama 24 jam. Namun hasilnya belum optimal karena ekstrak yang dihasilkan rendemennya sedikit dan masih banyak senyawa bioaktif yang belum terekstrak. Metode yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi selama 3x 24 jam dengan melakukan variasi jenis pelarut metanol, etanol dan air dan Konsentrasi pelarut.

2. METODOLOGI

2.1. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi antara lain : Rotary evaporator, shaker, spektrofotometer, timbangan dan alat-alat gelas untuk analisa

2.2. Bahan

Daun mimba yang diperoleh dari kecamatan Kamal Bangkalan, DPPH, methanol, etanol, aluminium klorida 1%, ammonia encer, ammonium hidroksida pekat dan encer, asam asetat anhidrida, asam asetat glasial, asam klorida 1%, asam klorida 0,1 N, asam sulfat pekat dan bahan-bahan lain untuk analisa kimia

2.3. Jalannya penelitian

2.3.1. Pembuatan ekstrak

Daun mimba yang digunakan adalah yang berwarna hijau tua. Sebelum digunakan daun mimba dikeringanginkan selama satu hari kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan blender. Sebanyak 100 gram serbuk daun mimba di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut air, etanol 60%, etanol 80%, methanol 60% dan methanol 80%.

Perbandingan antara serbuk daun mimba dengan pelarut adalah 1 : 3. Kemudian larutan tersebut dimaserasi selama 48 jam dalam ruang tertutup dengan dilakukan penggojogan/shaker. Setelah 48 jam sampel disaring dan filtrate yang diperoleh ditampung dalam Erlenmeyer. Filtrat yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan evaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak pekat.

2.3.2. Analisis fitokimia

Tanin

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 20 mL aquades lalu dididihkan dan disaring. Setelah itu 0,5 mL filtrat ditambahkan ferriklorida 0,1% dan diamati terjadinya perubahan warna.

Saponin

2 gram sampel dimasukan ke dalam gelas kimia, lalu ditambah dengan 20 mL aquades kemudian dididihkan lalu disaring. Diambil 10 mL filtratnya dan ditambahkan 5 mL aquades kemudian dikocok kuat hingga terbentuk busa. Lalu busanya ditambahkan 3 tetes minyak zaitun, setelah itu dikocok kembali dan diamati terbentuknya emulsi

Flavonoid

Sebanyak 2 gram sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambah dengan 20 mL aquades kemudian dididihkan lalu disaring. 0,5 mL Filtratnya kemudian ditambah 5 mL ammonia encer dan 5 mL asam sulfat pekat dan diamati.

Terpenoid

Ke dalam gelas kimia dimasukkan 2 gram sampel dan ditambahkan 10 mL etanol dididihkan dan disaring, setelah itu diambil 5 mL ekstrak kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan 3 mL asam sulfat pekat, lalu diamati perubahannya.

2.3.3. Analisis antioksidan

Disiapkan 5 sampel ekstrak daun mimba yang memiliki variasi jenis pelarut dan konsentrasi pelarut. Langkah pertama yaitu membuat larutan induk masing-masing sampel sebesar 100 ppm dengan melarutkan 10 mg ekstrak pada 100 ml metanol PA. Selanjutnya melakukan pengenceran menggunakan pelarut metanol PA dengan membuat variasi konsentrasi yaitu 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm dan 9 ppm pada tiap masing-masing sampel.

Disiapkan larutan stock DPPH 50 ppm. Larutan stock DPPH dibuat dengan melarutkan 5 mg padatan DPPH ke dalam 100 ml metanol PA. Kemudian disiapkan larutan perbandingan, yaitu larutan kontrol yang berisi 2 ml metanol PA dan 1 ml larutan DPPH 50 ppm. Untuk sampel uji, disiapkan masing-masing 2 ml larutan sampel dan 2 ml larutan DPPH. Kemudian, di inkubasi selama 30 menit pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH. Semua sampel dibuat triplo. Semua sampel yaitu sampel ekstrak yang telah di inkubasi di uji nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan menghitung nilai IC50 yang diperoleh dari persamaan regresi linier dari data absorbansi di atas.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil uji fitokimia secara kualitatif

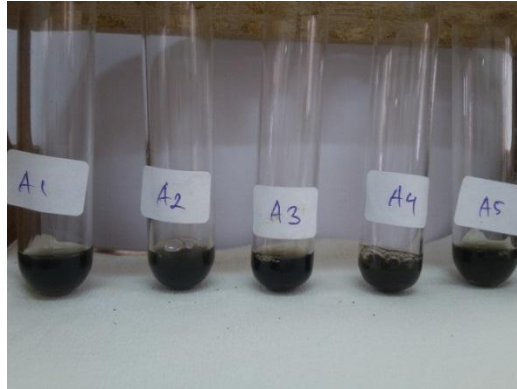
Hasil analisa fitokimia secara kualitatif menunjukkan semua ekstrak daun mimba positif mengandung tannin, saponin, flavonoid dan terpenoid. Hasil uji fitokimia ekstrak daun mimba dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun mimba

Perlakuan	Tanin	Saponin	Flavonoid	Terpenoid
Air	+	+	+	+
Etanol 60%	+	+	+	+
Etanol 80%	+	+	+	+
Metanol 60%	+	+	+	+
Metanol 80%	+	+	+	+

3.1.1 Tanin

Hasil uji tanin dari semua sampel ekstrak daun mimba dengan pereaksi FeCl₃ 0,1 % menunjukkan uji positif yaitu warna larutan menjadi coklat kehijauan. Hal tersebut disebabkan karena tannin dapat larut dalam air, alcohol dan aseton. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol, polifenol mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II) (Hanani, 2014). Hal ini juga merupakan cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol, yaitu dengan menambahkan larutan besi(III) klorida 1% dalam air atau etanol pada larutan cuplikan menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam (Harborne, 1987). Menurut Hanani, 2014 tanin dapat larut dalam air, alcohol dan aseton. Senyawa ini berfungsi sebagai antimikroba, antidiare, antihelminik (Tiwari *et al*, 2011). Gambar hasil uji tannin pada ekstrak daun mimba dapat dilihat pada Gambar 1.



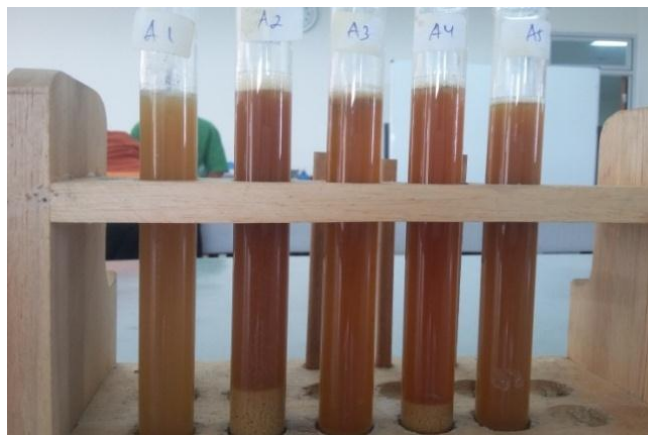
Gambar 1. Hasil Uji tannin ekstrak daun mimba

Keterangan :

A1: Ekstrak Air A2: Ekstrak etanol 60% A3: ekstrak etanol 80%
A4: ekstrak metanol 60% A5: ekstrak methanol 80%

3.1.2 Saponin

Hasil analisa saponin secara qualitative dapat dilihat pada Gambar 2. Pada gambar 2. Terlihat bahwa semua sampel ekstrak daun mimba mengandung saponin. Saponin larut dalam pelarut polar seperti air. Sedangkan etanol dan methanol adalah pelarut semi polar sehingga saponin dalam daun mimba dapat terekstrak. Pada uji ini, 10 mL ekstrak sampel ditambah 5 mL akuades, kemudian dikocok hingga berbusa. Pada busa tersebut ditambahkan 3 tetes minyak zaitun kemudian dikocok kembali. Hal ini terlihat terbentuk emulsi dari kedua sampel tersebut. Hal ini menunjukkan uji positif adanya senyawa saponin. Penambahan minyak zaitun disini sebagai sumber kolesterol, karena untuk memurnikan banyak saponin dengan menambahkan kolesterol, yang Menyebabkan pembentukan senyawa kompleks adisi yang tidak larut dalam air (Robinson, 1995).



Gambar 2. Hasil Uji saponin ekstrak daun mimba

Keterangan :

A1: Ekstrak Air A2: Ekstrak etanol 60% A3: ekstrak etanol 80%
A4: ekstrak metanol 60% A5: ekstrak methanol 80%

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa, jika dikocok dengan air. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon). Saponin ini terdiri dari dua kelompok yaitu Saponin triterpenoid dan saponin steroid. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995)

3.1.3. Flavonoid

Dalam uji ini, 0,5 mL ekstrak sampel ditambah 5 mL amonia encer. Terlihat perubahan warna larutan menjadi agak kuning. Hal ini terjadi karena flavonoid termasuk dari senyawa fenol. Bila fenol direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik (Hanani, 2014). Hasil uji flavonoid secara kualitatif menunjukkan bahwa semua sampel ekstrak daun mimba positif mengandung flavonoid. Menurut Hanani, 2014 flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mudah larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, methanol dan aseton. Hasil uji flavonoid pada ekstrak daun mimba dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Uji flavonoid ekstrak daun mimba

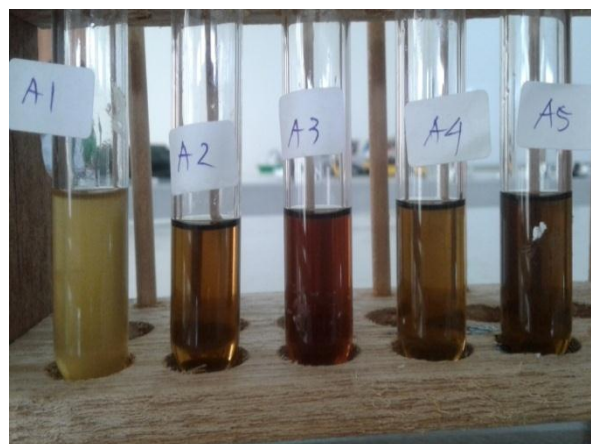
Keterangan :

A1: Ekstrak Air A2: Ekstrak etanol 60% A3: ekstrak etanol 80%
A4: ekstrak metanol 60% A5: ekstrak methanol 805

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid umumnya terdapat di dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida sebagai aglikon. Flavonoid terdapat di dalam tumbuhan sebagai campuran sehingga jarang dijumpai sebagai bentuk tunggal. Senyawa ini mencakup banyak pigmen pada tumbuhan, seperti pigmen bunga sehingga dapat menarik perhatian burung dan serangga penyerbuk bunga. Selain itu, flavonoid berfungsi sebagai pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, bersifat antimikroba dan antivirus. Dalam tubuh, flavonoid berfungsi menghambat enzim lipooksigenase yang berperan dalam biosintesis prostagaldin. Hal ini disebabkan karena flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik sehingga menghambat reaksi oksidasi (Robinson, 1995).

3.1.4. Terpenoid

Hasil uji terpenoid pada ekstrak daun mimba dapat dilihat pada Gambar 4. Pada Gambar 4. Menunjukkan bahwa semua sampel ekstrak daun mimba mengandung terpenoid. Pada uji ini, sampel diekstrak dengan etanol, kemudian filtratnya ditambahkan kloroform dan asam sulfat pekat. Hasil yang teramati terbentuk warna cokelat kemerahan pada antarmuka. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung senyawa terpenoid (Odeoga, 2005). terbentuknya warna cokelat kemerahan pada daerah antarmuka karena ditambahkan pereaksi asam klorosulfonat atau pereaksi Brieskorn dan Briner yang sering digunakan untuk membedakan secara khas triterpenoid yang berwarna merah dan senyawa steroid yang berwarna cokelat (Robinson, 1995) sehingga pada daerah antar muka terlihat warna cokelat



Gambar 1. Hasil Uji terpenoid ekstrak daun mimba

Keterangan :

A1: Ekstrak Air A2: Ekstrak etanol 60% A3: ekstrak etanol 80%
A4: ekstrak metanol 60% A5: ekstrak methanol 80%

Terpen atau terpenoid aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa. Triterpenoid betulinic acid yang merupakan salah satu dari terpenoid telah memperlihatkan efek menghambat HIV. Mekanisme kerja terpen belum diketahui dengan baik dan dispekulasi terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik. Terpenoid yang terdapat dalam minyak esensial tanaman telah bermanfaat untuk mengontrol *Listeria monocytogenes* pada makanan. Suatu kandungan terpenoid pada cabai yang dikenal dengan capsaicin memiliki sejumlah aktivitas biologik pada manusia yang dapat memengaruhi sistem syaraf, kardiovaskuler, dan degestif. Capsaicin bersifat bakterisida terhadap *Helicobacter pylori*. Terpenoid yang disebut dengan petalostemumol memperlihatkan aktivitas terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, bakteri gram negatif, dan *Candida albicans*.

3.2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba dinyatakan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi efektif ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari totalradikal bebas DPPH. Hasil analisa IC₅₀ ekstrak daun mimba dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ ekstrak daun mimba

IC ₅₀	Jenis pelaut				
	Air	Etanol 60%	Etanol 80%	Metanol 60%	Metanol 80%
	90.3922	88.6988	88.1273	87.5173	83.2796

Berdasarkan Tabel 1. nilai IC₅₀ dari seluruh sampel berkisar 83, 28 sampai 90,39. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan aktivitas antioksidan semakin tinggi. Berdasar parameter nilai IC₅₀ pada Tabel 3, ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat (nilai IC₅₀ <100). Nilai IC₅₀ yang terendah adalah ekstrak daun mimba dengan pelarut methanol dengan konsentresi 80%.

Perbedaan nilai IC₅₀ ini dapat disebabkan oleh jumlah antioksidan yang terkandung didalam ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi pelarut senyawa antioksidan yang terekstrak semakin banyak. Metanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga mempunyai kemampuan untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar. Metanol mempunyai kemampuan yang lebih baik dibanding dengan etanol dan air dalam melarutkan senyawa polar maupun non polar.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50

Nilai IC50	Aktivitas Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 ppm – 100 ppm	Kuat
100 ppm – 150 ppm	Sedang
150 ppm – 200 ppm	Lemah

Sumber : Molyneux 2004

DAFTAR PUSTAKA

- Apristiani, D.W.I. dan Astuti, P., 2005. Isolasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kloroform Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Dengan Bioautografi. *Biofarmasi*, 3(2), pp.43–46.
- Asif, M., 2012. Antimicrobial Potential of *Azadirachta indica* Against Pathogenic Bacteria and Fungi. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(4), pp.78–83.
- Balaji, G. & Cheralathan, M., 2015. Experimental investigation of antioxidant effect on oxidation stability and emissions in a methyl ester of neem oil fueled DI diesel engine. *Renewable Energy*, 74(x), pp.910–916. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2014.09.019>.
- Hanani, E., 2014, Analisis Fitokimia, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. ITB Bandung. Hal 1-10
- Khan, I. et al., 2010. Phytochemical studies and screening of leaf extracts of *Azadirachta indica* for its anti-microbial activity against dental pathogens. *Archives of Applied Science Research*, 2(2), pp.246–250.
- Molyneux, P. 2004, The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26, 211–219
- Odeoga, H. O. Okwu, D. E. and Mbaebie, B. O. 2005 Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology* Vol. 4(7), 685-688.
- Puri, H., 2006. *Neem The Divine Tree*, Available at: harwood academic publishers.
- Robinson, Trevor. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung. Hal 71-285.
- Susmitha, S. et al., 2013. Phytochemical extraction and antimicrobial properties of *azadirachta indica* (neem). *Global Journal of Pharmacology*, 7(3), pp.316–320.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, and Harleen Kaur, 2011, Phytochemical screening and Extraction, Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol. 1(1), p 98-106