

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Fraksi-Fraksinya

Antioxidant Activity of Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) Leaf Ethanol Extract and It's Fractions

Chatarina Lilis Suryani*, Siti Tamaroh, Agusta Ardiyan, Astuti Setyowati

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Mercu Buana Yogyakarta

Jl. Wates Km. 10 Yogyakarta 55753, Indonesia

Email: chlilis05@yahoo.com

Submisi: 1 Maret 2016; Penerimaan: 27 Februari 2017

ABSTRAK

Proses fraksinasi ekstrak daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dapat meningkatkan aktivitas antioksidannya karena dengan proses fraksinasi akan diperoleh komponen bioaktif yang lebih murni. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi-fraksi ekstrak etanol daun pandan dan menentukan fraksi yang mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Penelitian dibagi dalam 3 tahap yaitu ekstraksi dan fraksinasi ekstrak daun pandan, analisis fitokimia fraksi-fraksi daun pandan, dan uji aktivitas antioksidannya. Uji aktivitas antioksidan meliputi analisis daya mereduksi dengan metode feritiosianat (FTC) dan daya tangkap radikal DPPH serta perhitungan EC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun pandan mempunyai kemampuan mereduksi lebih tinggi dibanding ekstrak etanolnya, namun daya tangkap radikal DPPH-nya lebih rendah. Komponen fenol dan flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat > ekstrak etanol > heksan. Ekstrak etanol daun pandan dan fraksi etil asetat secara kualitatif mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, dan saponin. Senyawa terpenoid terdapat pada ekstrak etanol sedangkan steroid terdapat pada fraksi etil asetat. Fraksi heksan hanya mengandung senyawa steroid dan fenolik. Daya mereduksi yang dimiliki fraksi etil asetat > ekstrak etanol > heksan > vitamin E komersial. Aktivitas antioksidan yang dimiliki BHT > vitamin E > fraksi etil asetat > ekstrak etanol > fraksi heksan. Daya tangkap radikal DPPH dari BHT > ekstrak etanol > fraksi heksan atau fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat, fraksi heksan, ekstrak etanol, dan vitamin E komersial mempunyai nilai EC_{50} berturut-turut sebesar: 0,90; 8,66; 4,51; dan 11,76 mg/mL. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun pandan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Kata kunci: Ekstrak etanol daun pandan, fraksinasi, antioksidan, daya mereduksi, DPPH.

ABSTRACT

Fractionation process of pandan leaf (*Pandanus amaryllifolius*) extract could enhance its antioxidant activity as higher purity of bioactive compounds was achieved. The aims of this study were to determine the antioxidant activity of ethanol extract fractions of pandan leaves and to determine the fraction that has the highest antioxidant activity. The research was divided into three stages: (1) extraction and fractionation of pandan leaf extract, (2) phytochemical analysis of pandan leaf fractions, and (3) analysis of antioxidative activity. The analysis of antioxidant activity includes reducing power approach by ferrithiocyanate (FTC), DPPH radical scavenging, and the calculation of EC_{50} . The results showed that the ethyl acetate fraction of ethanol extract of pandan leaves had a higher reductive ability than the ethanol extract, while its DPPH radical scavenging activity was lower. Phenolic and flavonoid compounds were quantified in ethyl acetate fraction > ethanol extract > hexane fraction. Ethanol extract of pandan leaves and ethyl acetate fraction qualitatively contained alkaloid, flavonoid, phenolic, and saponin. Terpenoid compounds were present in ethanol

extract whereas steroid compounds were present in ethyl acetate fraction. Hexane fraction only contained steroid and phenolic compounds. Higher reducing power values were ethyl acetate fraction, ethanol extract, hexane fraction, and vitamin E commercial respectively. Ethyl acetate fraction had higher antioxidant activity value (FTC method) than hexane fraction and ethanol extract. Ethyl acetate had a higher DPPH radical scavenging activity value than vitamin E. Ethyl acetate fraction, hexane fraction, ethanol extract, and vitamin E commercial had EC_{50} values of 0.90; 8.66; 4.51; and 11.76 mg/mL respectively. Ethyl acetate fraction of ethanol extract of pandan leaves is a potential source of natural antioxidant.

Keywords: Antioxidant; DPPH; fractionation; pandan leaf extract; reducing power

PENDAHULUAN

Daun pandan merupakan salah satu jenis herbal yang banyak digunakan untuk penambah aroma dan rasa serta pewarna pada makanan kudapan masyarakat Indonesia. Di Malaysia, daun pandan banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional bagi penderita diabetes (Sasidharan dkk., 2011). Faktor makanan, termasuk antioksidan, mempunyai efek yang besar dalam penanganan penderita diabetes dan komplikasinya (Alberti dkk., 1997; Parker dkk., 2000). Ekstrak etanol daun pandan mempunyai aktivitas antioksidan walaupun masih lebih rendah dibanding BHT (Suryani dan Tamaroh, 2014) dan bersifat hipoglisemik (Suryani dan Tamaroh, 2015). Prameswari dan Widjanarko (2014) melaporkan bahwa ekstrak air daun pandan mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa aktivitas hipoglisemik disebabkan oleh aktivitas antioksidan dari bahan tersebut (Luo dkk., 2004; Tiwari dkk., 2011; Aadil dkk., 2012; Lee dkk., 2014). Daun pandan mengandung polifenol, tanin, alkaloid, saponin dan flavonoida (Sugati dan Jhony, 1991). Beberapa senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas antioksidan dan hipoglisemik (Negri, 2005).

Oleh karena itu peningkatan kemampuan aktivitas antioksidan penting untuk dilakukan. Berbagai hasil penelitian diketahui berhasil meningkatkan aktivitas antioksidan bahan. Perlakuan blansing pada bahan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan kemampuan aktivitas antioksidannya (Kwan dkk., 2007; Viña dkk., 2007; Olivera dkk., 2008; Pujimulyani dkk., 2012). Sedangkan Rohman dkk. (2010) melaporkan bahwa fraksinasi ekstrak etil asetat dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) dapat meningkatkan kemampuan daya mereduksi dibanding daya mereduksi ekstraknya. Jarald dkk. (2013) menyatakan bahwa fraksi air dari ekstrak etanol *Cassia fistula* Linn mempunyai kemampuan hipoglisemik yang lebih tinggi dibanding ekstrak etanolnya. Penelitian ini akan mengkaji pengaruh fraksinasi ekstrak etanol daun pandan terhadap kemampuan aktivitas antioksidannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun pandan dan menentukan fraksi yang mempunyai kemampuan antioksidan yang tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama penelitian ini adalah daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dari petani di Desa Argomulyo, Kabupaten Bantul Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol (95%), heksan, dan etil asetat sebagai pelarut (teknis). Bahan-bahan kimia antara lain metanol, reagen Folin-Ciocalteu, natrium karbonat, asam sulfat pekat, natrium hidroksida, asam trikloroasetat (TCA), asam linoleat dan amonium tiosianat seluruhnya dengan kualifikasi *pro analysis* dari Merck, 1.1-Diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) dan asam galat (Sigma Aldrich, Jerman) dari PT Bratako Yogyakarta, sedangkan BHT dari Sigma Chemical Co., St. Lois, USA, serta vitamin E komersial dari PT Darya-Varia Indonesia. Alat yang digunakan adalah *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-114 dari PT Buchi Indonesia), *food processor* merk Philips dari PT. Citra Kreasi Makmur Jakarta, spektrofotometer (Shimadzu UV-VIS 1601 dari Shimadzu Corporation), alat ekstraksi dan alat preparasi sampel, serta alat-alat gelas untuk analisis kimia.

Cara Penelitian

Ekstraksi dan fraksinasi

Ekstraksi dilakukan dengan metode yang digunakan oleh Suryani dan Setyowati (2008). Daun pandan segar 50 g dihancurkan dengan *food processor* sampai terbentuk bubur daun. Bubur yang telah diperoleh ditampung dalam erlenmeyer 500 mL dan kemudian dicampur dengan pelarut etanol 95% sebanyak 250 mL, digoyang dalam shaker selama 1 jam hingga homogen. Selanjutnya dimaserasi selama 36 jam. Filtrat yang diperoleh disaring menggunakan kertas Whatman no 41, dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C dalam kondisi vakum sampai pelarut yang terkondensasi tidak menetes.

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menurut metode Marsono dkk. (2005). Ekstrak etanol kental yang berwujud pasta sebanyak 10 g dicampur dengan pelarut air panas 70 °C 100 mL sambil diaduk hingga terlarut semua. Larutan yang diperoleh dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditambah dengan

heksan 150 mL dan dikocok kembali hingga tercampur secara merata, kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan, dan dipisahkan. Fraksi air dicampur lagi dengan heksan 150 mL, diaduk dan kemudian dipisahkan. Perlakuan tersebut diulang sebanyak 3 kali. Fraksi heksan dari 3 ulangan fraksinasi digabungkan dan kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* dalam kondisi vakum pada suhu 40 °C hingga pelarut yang terkondensasi tidak menetes dan diperoleh fraksi heksan (H). Fraksinasi dengan etil asetat dilakukan dengan cara yang sama dan akan diperoleh fraksi etil asetat (EA). Ekstrak dan fraksi dikemas dalam botol berwarna gelap dan disimpan suhu 10 °C.

Karakteristik fisik ekstrak etanol daun pandan dan fraksi-fraksinya

Ekstrak dan fraksi yang diperoleh diukur berat jenis (mg/L) dan rendemen (b/b terhadap berat basah daun) serta diamati secara visual warna, aroma, dan bentuknya. Berat jenis diukur menggunakan piknometer sedangkan rendemen dinyatakan sebagai berat ekstrak dibagi dengan berat basah bahan (Sarastani dkk., 2002).

Uji fitokimia

Ekstrak etanol daun pandan, fraksi heksan, dan fraksi etil asetat yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dengan uji fitokimia untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa fenolik, alkaloid, terpenoid/steroid, flavonoid, saponin, dan tanin (Harbone, 1996). Uji fitokimia antara lain uji alkaloid dengan menggunakan test Wagner dan Mayer (Harbone, 1996), uji flavonoid (Mojab dkk., 2003), uji terpenoid dan steroid (Edeoga dkk., 2005), uji fenolik dan uji saponin (Harbone, 1996).

Analisis Kadar Fenolik dan Flavonoid

Analisis kadar total fenol ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya dilakukan dengan metode Folin Ciocalteu (Tsai dkk., 2005) dan analisis kadar total flavonoid dengan metode spektrofotometri (Zhishen dkk., 1999, Bushra dkk., 2009).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pandan, fraksi heksan, dan fraksi etil asetat ditentukan dengan metode *reducing power* (Duh dkk., 1997), metode ferritiosianat (FTC) untuk menentukan kemampuan penghambatan peroksidasi lemak (Duh dkk., 1997), dan metode DPPH (Tsai dkk., 2006). Kemampuan menangkap tangkap radikal (*Radical Scavenging Activity*, RSA) diukur setelah larutan disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit (Ferreira dkk., 2007). Nilai RSA (*Radical Scavenging Activity*) dihitung dengan Persamaan (1).

$$RSA(\%) = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

A₀ adalah absorbansi blanko yaitu absorbansi dari DPPH tanpa penambahan ekstrak/fraksi, sedangkan A_t adalah absorbansi DPPH hasil peneraan setelah ditambah dengan ekstrak etanol daun pandan atau fraksi-fraksinya, vitamin E atau BHT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Ekstrak Etanol, Fraksi Heksan, dan Fraksi Etil Asetat Daun Pandan

Karakteristik ekstrak etanol daun pandan dan fraksi-fraksinya disajikan pada Tabel 1. Ekstrak etanol daun pandan berwarna hijau kecoklatan, berbentuk kental, dan berbau khas pandan yang sangat tajam sedangkan fraksi heksan dan fraksi etil asetat berwarna hijau kehitaman, kental, dan sedikit berbau pandan. Warna kehijauan diduga karena sebagian klorofil terikut terekstrak, dan selama proses evaporasi mengalami kerusakan. Menurut Dalimartha (2002) kandungan senyawa kimia daun pandan di antaranya alkaloida, saponin, flavonoid, polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan alami, dan zat pewarna pada ekstrak. Warna kuning kecoklatan sampai coklat tua pada ekstrak pandan berasal dari senyawa pewarna polar alami (kuning kecoklatan) yang ikut terekstrak terutama dari senyawa polifenol seperti tanin, melanin, lignin dan/atau kuinon serta sebagian kecil alkaloida berwarna. Pigmen kuinon yang terdapat pada tanaman memiliki warna mulai dari kuning sampai coklat tua (Harborne, 1996).

Kekentalan ekstrak disebabkan karena selama proses evaporasi pelarut yang digunakan untuk ekstraksi teruapkan. Setelah pelarut teruapkan maka hanya tersisa *solute* yang berbentuk semi padat dan minyak atsiri. Ekstrak etanol berbau pandan yang sangat tajam sedangkan fraksi heksan dan fraksi etil asetat hanya sedikit berbau pandan. Hal ini disebabkan karena pandan mengandung minyak atsiri dan senyawa aromatik yang bersifat volatil atau mudah menguap sehingga pandan memiliki aroma khas yang kuat. Daun pandan mempunyai aroma khas yang diduga berasal dari senyawa turunan asam amino fenil alanin yaitu *2-acetyl-1-pyrroline* (Faras dkk., 2014). Komponen 2-asetil-1-pirolin (2 AP) merupakan komponen yang sangat larut pada air dan alkohol (Fabra dkk., 2009) sehingga pada ekstrak etanol daun pandan diduga banyak terekstrak senyawa 2-asetil-1-pirolin (2 AP) sehingga berbau khas pandan.

Berdasarkan hasil uji fitokimia diketahui bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mempunyai komponen senyawa yang hampir sama yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, dan saponin kecuali pada jenis senyawa terpenoid/

Tabel 1. Karakteristik fisik dan hasil uji fitokimia ekstrak daun pandan dan fraksi-fraksinya

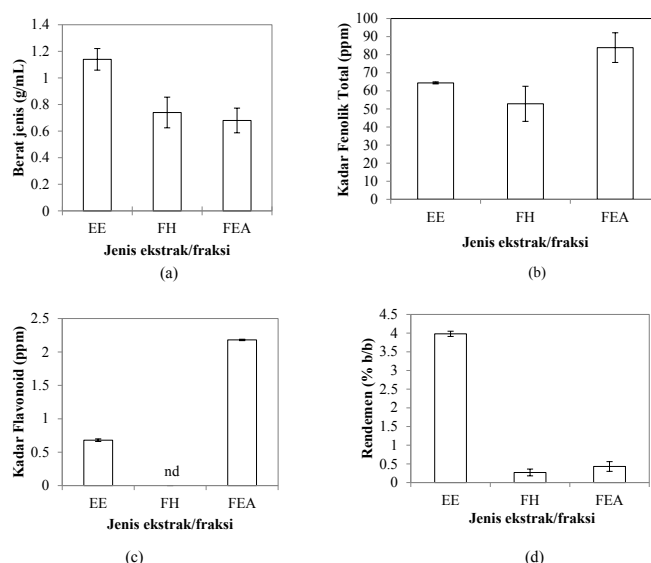
Karakteristik	Ekstrak etanol	Fraksi heksan	Fraksi etil asetat
Warna	Hijau kecoklatan	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Bentuk	Kental	Kental	Kental
Aroma	Khas pandan	Sedikit berbau khas pandan	Sedikit berbau khas pandan
Senyawa teridentifikasi secara fitokimia	Alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, saponin	Fenolik dan steroid	Alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, saponin

steroid. Senyawa terpenoid teridentifikasi pada ekstrak etanol sedangkan steroid teridentifikasi pada fraksi etil asetat. Pada fraksi heksan lebih sedikit jenis senyawa yang terlarut yaitu steroid dan fenolik saja, sedangkan alkaloid dan flavonoid tidak terdeteksi. Hal ini disebabkan karena steroid adalah molekul kompleks yang dapat larut di dalam lemak (Lehninger, 1982; Bhat dkk., 2009). Semua jenis ekstrak dan fraksi tidak mengandung tanin. Hal ini dikarenakan tanin lebih mudah larut dalam pelarut air. Komponen paling sedikit terdapat pada fraksi heksan, karena heksan merupakan pelarut non polar, sehingga komponen yang dapat larut lebih sedikit.

Hasil uji berat jenis, kadar fenolik total, kadar flavonoid, dan rendemen ekstrak/fraksi disajikan pada Gambar 1. Gambar 1.a menunjukkan bahwa berat jenis ekstrak etanol daun pandan lebih besar dibanding berat jenis fraksi-fraksinya. Hal ini sesuai dengan hasil uji fitokimianya yang menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol komponen yang terlarut lebih banyak jenisnya dibanding komponen yang terlarut dalam fraksi etil asetat dan paling sedikit pada fraksi heksan. Berat jenis berhubungan dengan berat fraksi komponen-komponen yang terkandung di dalamnya. Makin besar berat fraksi yang terkandung dalam bahan, maka makin besar pula nilai densitasnya. Menurut Gunther (1987) berat jenis ekstrak tanaman umumnya berkisar antara 0,800–1,180 g/mL.

Jika ditinjau dari komponen fenolik total dan flavonoidnya (Gambar 1.a dan b), maka kadar fenolik dan flavonoid terbesar terdapat pada fraksi etil asetat, kemudian pada ekstrak etanol dan terkecil pada fraksi heksan. Dalam fraksi heksan tidak terdeteksi keberadaan flavonoid. Demikian pula hasil penelitian Pambayun dkk. (2007) yang menunjukkan bahwa ekstraksi komponen fenolik dalam gambir komersial menghasilkan kadar fenolik total tertinggi pada ekstrak dengan pelarut etil asetat. Leouifoud dkk. (2014) menyatakan bahwa senyawa fenolik lebih larut dalam pelarut etil asetat.

Data pada Gambar 1.d menjelaskan bahwa rendemen ekstrak terhadap bahan segar terbesar diperoleh pada ekstrak etanol, berikutnya fraksi etil asetat dan terendah fraksi

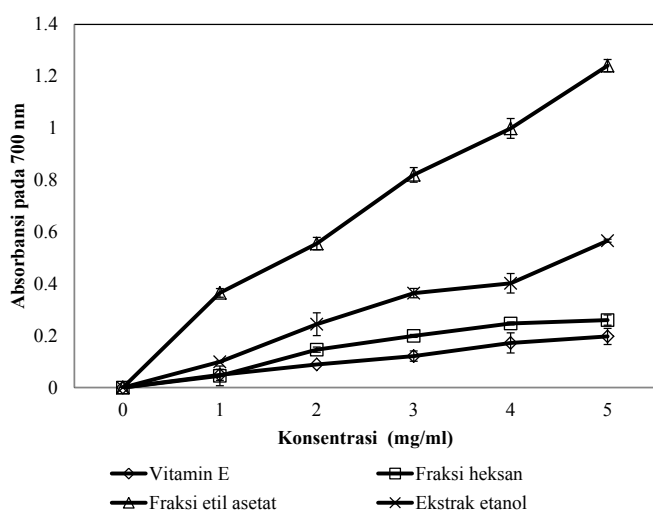


Gambar 1. Berat jenis, kadar fenolik total dan flavonoid serta rendemen ekstrak/fraksi (a). Berat Jenis, (b). Kadar fenolik total, (c). Kadar flavonoid, (d). Rendemen dari ekstrak etanol daun pandan dan fraksi-fraksinya. EE: Ekstrak etanol, FH: Fraksi heksan, FEA: Fraksi etil asetat

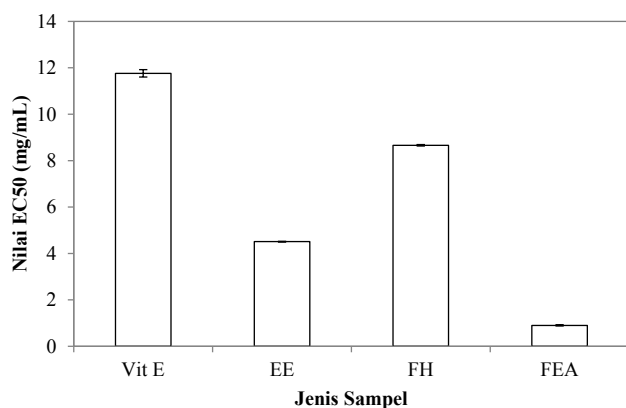
heksan. Besarnya rendemen dipengaruhi oleh banyaknya jenis komponen senyawa yang dapat terlarut dalam pelarut yang digunakan. Polaritas etanol lebih rendah dibanding air sehingga dapat melarutkan senyawa alkaloid, diglikosida, fenolik, flavonoid, dan sedikit minyak atsiri (Lopez dkk., 2005; Agustiningih dkk., 2010). Sedangkan etil asetat merupakan pelarut semipolar sehingga masih dapat melarutkan komponen yang bersifat polar dan non polar (Harwood dan Moody, 1989) dan heksan adalah pelarut non polar sehingga hanya sedikit komponen dari ekstrak etanol yang dapat larut.

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode Reducing Power

Data pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kemampuan mereduksi ekstrak/fraksi dari fraksi etil asetat > ekstrak etanol > fraksi heksan. Hal ini berhubungan dengan kadar fenolik pada ekstrak/fraksi tersebut. Allothman dkk. (2009) menyatakan bahwa kadar fenolik yang tinggi berkorelasi dengan kapasitas antioksidannya. Kemampuan mereduksi ekstrak etanol daun pandan maupun fraksi-fraksinya lebih tinggi dibanding vitamin E komersial. Hasil penelitian Tsai dkk. (2005) juga membuktikan bahwa *reducing power* yang dimiliki α -tokoferol lebih rendah dibanding ekstrak *Agrocybe cylindracea* yang juga mempunyai komponen aktif senyawa fenolik.



Gambar 2. Reducing power ekstrak daun pandan dan fraksi-fraksinya



Gambar 3. Nilai EC₅₀ ekstrak/fraksi daun pandan wangi Ekstrak etanol (EE), fraksi heksan (FH) dan fraksi etil asetat (FEA), serta vitamin E (Vit E) sebagai pembanding

Pada Gambar 2 diketahui bahwa makin besar konsentrasi ekstrak etanol atau fraksi etil asetat maka kemampuan mereduksi juga makin besar, sedangkan untuk fraksi heksan dan vitamin E peningkatannya lebih kecil. Hal tersebut sesuai dengan nilai EC₅₀ (Gambar 3). Nilai EC₅₀ merupakan tingkat konsentrasi senyawa yang diuji yang dapat menimbulkan aktivitas antioksidan sebesar 50%, nilai EC₅₀ (*Effective Concentration Value*) berkorelasi dengan tingkat efektivitas aktivitas antioksidannya (Chen dkk., 2013). Nilai EC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidannya. Makin kecil nilai EC₅₀ maka makin besar aktivitas antioksidannya. Ekstrak etanol daun pandan memiliki nilai EC₅₀ sebesar 4,51 mg/mL, sedangkan fraksi etil asetat 0,90 mg/mL, dan fraksi heksan 8,66 mg/mL. Ketiganya memiliki nilai EC₅₀ lebih kecil dibanding vitamin E yaitu 11,76 mg/mL, sehingga jika ditinjau dari daya mereduksinya ekstrak etanol daun pandan dan fraksi-fraksinya mempunyai aktivitas antioksidan yang

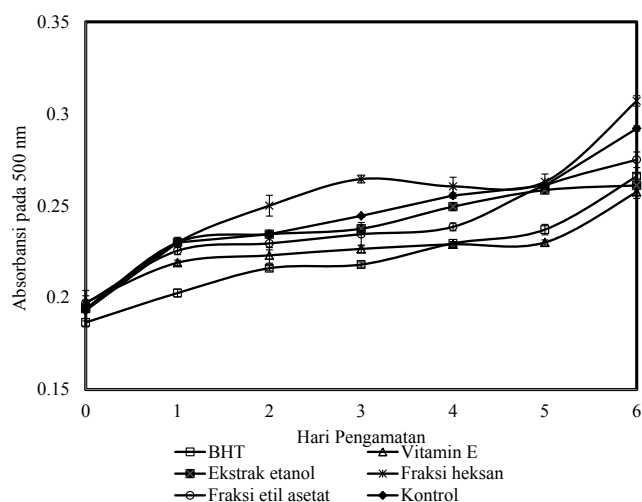
lebih tinggi dibanding vitamin E komersial. Nilai EC₅₀ dari ekstrak/fraksi tersebut masih lebih rendah dibanding nilai EC₅₀ BHT yaitu 0,59 mg/mL (Mechta, 2015).

Berdasarkan nilai EC₅₀ (Gambar 3) diketahui bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang terbesar, diikuti dengan ekstrak etanol dan yang terendah fraksi heksan. Hal tersebut berkaitan dengan kuantitas dan jenis senyawa yang terekstrak. Data pada Gambar 1 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai kadar fenolik dan flavonoid tertinggi, kemudian diikuti ekstrak etanol dan terendah fraksi heksan. Jenis senyawa yang terekstrak pada fraksi etil asetat meliputi alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, dan saponin, pada ekstrak etanol hampir sama yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, dan saponin, sedangkan dalam fraksi heksan hanya fenolik dan steroid saja.

Penentuan Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode FTC

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FTC bertujuan untuk mengetahui efektivitas dan stabilitas penghambatan pembentukan radikal bebas yang mereduksi ferri. Berdasarkan pengujian dengan metode FTC diketahui tingkat penghambatan pembentukan radikal bebas selama interval waktu tertentu yang menunjukkan konsistensi aktivitas antioksidan sampel.

Data hasil pengukuran aktivitas antioksidan disajikan pada Gambar 4. Penghambatan peroksidasi lemak ditunjukkan dengan intensitas warna merah atau absorbansi yang makin rendah. Absorbansi yang makin besar menunjukkan pembentukan peroksida yang makin tinggi. Gambar 4 menunjukkan bahwa kemampuan antioksidan ekstrak etanol dan fraksi heksan lebih rendah dibanding fraksi etil asetat,



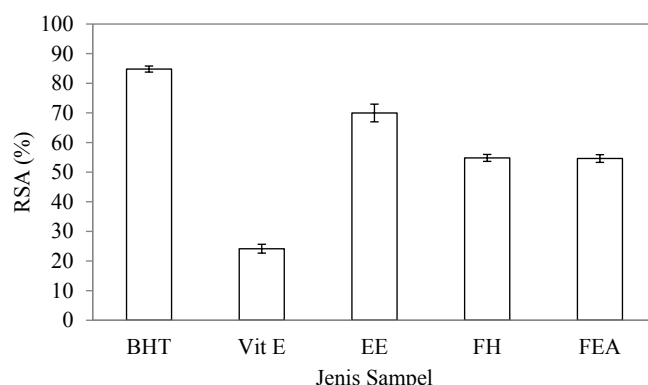
Gambar 4. Aktivitas antioksidan ekstrak daun pandan dan fraksi-fraksinya dengan uji FTC

vitamin E dan BHT. Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang hampir sama dengan BHT maupun vitamin E. Fraksi heksan mempunyai aktivitas antioksidan yang paling rendah. Hal tersebut diduga berkaitan dengan kadar fenolik dan flavonoid fraksi heksan yang paling rendah. BHT mempunyai aktivitas penghambatan peroksidasi paling tinggi hingga hari ke 4, namun setelah itu penghambatan peroksidasi vitamin E lebih tinggi. Kondisi tersebut mirip dengan hasil penelitian Riyanto dan Wariyah (2012) yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan BHT menurun setelah hari ke 4.

Daya Tangkap Radikal (RSA)

Kemampuan dalam menghambat reaksi oksidasi pada senyawa antioksidan disebabkan oleh keberadaan gugus fenolik dalam struktur molekulnya. Penghambatan proses autooksidasi dari senyawa fenolik disebabkan karena senyawa fenolik berfungsi sebagai pendonor hidrogen terhadap radikal yang terbentuk (R^*) sehingga menghasilkan RH. Senyawa fenolik yang telah berubah menjadi radikal bebas dapat distabilkan oleh struktur aromatik yang dimiliki (Shahidi, 1997).

Hasil pengujian kemampuan menangkap radikal DPPH disajikan pada Gambar 5 dan 6. Berdasarkan hasil pengujian tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol daun pandan dan fraksi-fraksinya mempunyai kemampuan menangkap radikal yang lebih tinggi dibanding vitamin E komersial, namun lebih rendah dibanding BHT. Daya tangkap radikal yang makin tinggi ditunjukkan oleh makin landainya kurva BHT, diikuti dengan kurva ekstrak etanol dan yang paling rendah vitamin E. Hal ini berkorelasi dengan hasil pengujian RSA yang menunjukkan bahwa vitamin E mempunyai nilai RSA 24,15%, sedangkan ekstrak etanol 69,96%, fraksi heksan 54,81%, fraksi etil asetat 54,60% dan BHT 84,80%. Perbedaan kemampuan antioksidasi terhadap radikal bebas DPPH



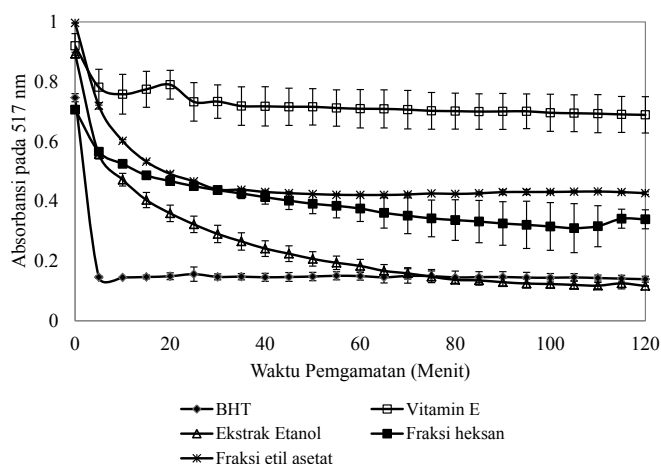
Gambar 6. *Radical Scavenging Activity* ekstrak/fraksi daun pandan, Ekstrak etanol (EE), fraksi heksan (FH), fraksi etil asetat (FEA), BHT, dan vitamin E.

disebabkan oleh kemampuan mentransfer atom hydrogen yang berbeda (Nakiboglu dkk., 2007). Faktor lainnya yang mempengaruhi kemampuan menangkap radikal bebas adalah polaritas medium pereaksi, struktur kimia dari penangkap radikal, dan pH campuran reaksi (Sharma dan Bhat, 2009).

Persentase RSA dari fraksi etil asetat berkebalikan dengan kadar senyawa fenoliknya, tingginya kadar fenolik ternyata tidak diikuti dengan tingginya daya tangkap radikal DPPH dan RSA. Hal ini sesuai hasil penelitian Apak dkk. (2007) dan Tupe dkk. (2013) yang menyatakan bahwa kadar fenolik total tidak berkorelasi dengan daya tangkap radikal DPPH. Apak dkk. (2007) menyatakan bahwa terdapat beberapa senyawa antioksidan yang cepat bereaksi dengan radikal peroksil, namun bereaksi lambat atau tidak bereaksi dengan DPPH. DPPH adalah radikal nitrogen yang tahan lama dan menghasilkan radikal peroksil dengan tingkat reaktivitas yang berbeda-beda sehingga ekstrak mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menangkap radikal DPPH. Sedangkan menurut Yu-Lin dkk. (2009) hal-hal yang sangat menentukan aktivitas antioksidan senyawa fenolik adalah struktur kimia, jumlah, dan posisi gugus hidroksil dan metil pada cincin. Makin banyak molekul yang tersubstitusi gugus hidroksil maka makin kuat kemampuan menangkap radikal bebas DPPH karena kemampuan mendonorkan hidrogen yang semakin besar.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang diperoleh dari ekstrak etanol daun pandan mempunyai kemampuan mereduksi lebih tinggi dibanding ekstrak etanolnya, namun daya tangkap radikal DPPH-nya lebih rendah. Secara khusus disimpulkan bahwa kemampuan mereduksi dari fraksi etil > ekstrak etanol > fraksi heksan > vitamin E komersial. Aktivitas antioksidan dalam asam



Gambar 5. Daya tangkap radikal DPPH ekstrak etanol daun pandan dan fraksi-fraksinya

linoleat dari fraksi etil asetat > ekstrak etanol > fraksi heksan sedangkan daya tangkap radikal DPPH dari BHT > ekstrak etanol > fraksi heksan mirip dengan fraksi etil asetat > vitamin E. Fraksi etil asetat mempunyai nilai EC_{50} 0,90 mg/ml sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aadil, R., Barapatre, A., Rathore, N., Pottam, S. dan Jha, H. (2012). Comparative study of in vitro antioxidant and antidiabetic activity of plant extract of *Acacia arabica*, *Murraya koengii*, *Catharanthus roseus*, and *Rouwolfia serpentina*. *International Journal of Phytomedicine* **4**: 543–551.
- Agustiningsih, Wildan, A. dan Mindaningsih. (2010). Optimasi cairan penyari pada pembuatan ekstrak daun pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) secara maserasi terhadap kadar fenolik dan flavonoid total. *Momentum* **6**(2): 36–41.
- Apak, R., Guclu, K., Demirate, B., Ozyurek, M., Celik, S.E., Bektasoglu, B., Berker, K. I. dan Ozyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* **12**: 1496–1547.
- Alberti, K.G.M.M., Zimmet P. dan DeFronzo R.A. (1997). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. 2nd. John Willey and Son, New York.
- Alothman, M., Bhat, K. dan Karim, A.A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry* **115**: 785–788.
- Bhat, S.V., Nagasampagi, B.A. dan Meenakshi, S. (2009). *Natural Products: Chemistry and Application*. Narosa Publishing House, New Delhi.
- Bushra, S., Farooq, A. dan Muhammad, A. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* **14**: 2167–2180.
- Chen, Z., Bertin, R. dan Foldi, G. (2013). EC_{50} estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry* **138**: 414–420.
- Dalimartha, S. (2002). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. PT. Pustaka Pembangunan Swadaya Nusantara, Jakarta.
- Duh, P.D., Yen, W.J., Du, P.C. dan Yen, G.C. (1997). Antioxidants activity of mung bean hulls. *Journal of American Oil Chemists Society* **74**(9): 1058–1063.
- Edeoga, H.O., Okwu, D.E. dan Mbaebre, B.O. (2005). Phytochemical constituent of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* **4**: 685–688.
- Fabra, M.J., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., Chiralt, A. dan Voilley, A. (2009). Influence of interactions on water and aroma permeabilities of i-carrageenan-oliec acid-beeswax films used for flavour encapsulation. *Carbohydrate Polymers* **76**: 325–332.
- Faras, A.F., Wadkar, S.S. dan Ghosh, J.S. (2014). Effect of leaf extract of *Pandanus amaryllifolius* Roxb on growth of *Escherichia coli* and *Micrococcus* (*Staphylococcus aureus*). *International Food Research Journal* **21**(1): 421–423.
- Ferreira, I.C., Paula-Babstista, F.R., Vilas-Boas, M. dan Barros, V (2007). Free radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry* **100**: 1511–1516.
- Gunther, E. (1987). *Minyak Atsiri*. Jilid I. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Harborne, J. B. (1996). *Metoda Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. 2nd edn. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Harwood, L.M. dan Moody, C.J. (1989). *Experimental Organic Chemistry. Principles and Practise*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Jarald, E.F., Joshi, D.C., Jain, D.C. dan Edwin, S. (2013). Biochemistry evaluation of the hypoglycemic effect of extract and fraction of *Cassia fistula* Lin.in aloxan-induced diabetic rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **75**(4): 427–434.
- Kwan, Y.I., Apostolidis, E. dan Shetty, K. (2007). Traditional diet of Americans for management of diabetes and hypertension. *Journal of Medicinal Food* **10**: 266–275.
- Lee, S.Y., Mediani, A., Nur-Ashikin, A.H., Azliana, A.B.S. dan Abas, F. (2014). Antioxidants and α -glucosidase inhibitory activities of the leaf and stem of selected tradisional medicinal plants. *International Food Research Journal* **21**(1): 165–175.
- Lehninger (1982). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1. Penerbit Erlangga, Jakarta.

- Leouifoud, I., Zyad, A., Amechrouo, A., Oukerro, M., Mouse, H.A. dan Mbarki, M. (2014). Identification and characterization of phenolic compounds extracted from Moroccan olive mill wastewater. *Food Sciences and Technology* **34**(2): 249–257.
- Lopez, D.C. dan Nonato, M.G. (2005). Alkaloid from *Pandanus amaryllifolius* collected from Marikina, Philippines. *Philippine Journal of Sciences* **134**(1): 39–44.
- Luo, Q., Cai, Y., Yan, J., Sun, M. dan Corke, H. (2004). Hypoglycemic and hypolipidemic effect and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences* **76**: 137–140.
- Marsono, Y., Safitri, R. dan Noor, Z. (2005). *Antioksidasi dalam Kacang-Kacangan: Aktivitas dan Potensi serta Kemampuannya menginduksi Pertahanan Antioksidasi pada Model Hewan Percobaan*. Laporan Komprehensif Hasil Penelitian Hibah Bersaing XII.
- Mechta, A. (2015). Pharmacology of medicinal plants with antioxidant activity. Dalam: Dubey, N. K. (ed). *Plant as Source of Natural Antioxidants*. Cabi Publishing, India.
- Mojab, F., Kamalinejad, M., Naysaneh, G. dan Hamid, R.V. (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2003: 77–82.
- Nakiboglu, M., Urek, R.O., Kayali, H.A. dan Tarhan, L. (2007). Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chemistry* 104: 530–635
- Negri, G. (2005). Diabetes mellitus; hypoglycemic plants and natural active principles. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 41: 121–141.
- Olivera, D.F., Viña, S.Z., Marani, C.M., Ferreyra, R.M., Mugride, A., Chaves, A.R. dan Mascheroni, R.H. (2008). Effect of blanching on the quality and of brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. *gemmifera* DC) after frozen storage. *Journal of Food Engineering* 84: 148–155.
- Packer, L., Rosen, P., Tritschler, H.J., King, G.L. dan Azzi, A. (2000). *Antioxidants in Diabetes Management*. Marcel Dekker, New York.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S. dan Kuswanto, K.R. (2007). Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Majalah Farmasi Indonesia* 18(3): 41–146.
- Prameswari, O.M. dan Widjanarko, S.B. (2014). Uji efek ekstrak air daun pandan terhadap penurunan glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(2): 16–27.
- Pujimulyani, D., Raharjo, S., Marsono, Y. dan Santosa, U. (2012). The effect of blanching on antioxidant activity and glycosides of white saffron (*Curcuma mangga* Val). *International Food Research Journal* 19(2): 617–621.
- Riyanto dan Wariyah, C. (2012). Stabilitas sifat antioksidatif lidah buaya (*Aloe vera* var. *Chinensis*) selama pengolahan minuman lidah buaya. *Agritech* 32(1): 73–78.
- Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W.R., Utami, R. dan Mulatsih, W. (2010). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal* 17: 97–106.
- Sarastani, D., Soekarto, S.T., Muchtadi, T.R., Fardiaz, D. dan Apriyantono, A. (2002). Aktivitas antioksidasi ekstrak dan fraksi ekstrak biji atung. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 13(2): 149–156.
- Sharma, O.P. dan Bhat, T.K (2009). Analytical methods DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* 113: 1202–1205.
- Shahidi, F. (1997). Natural antioxidants: an overview. Dalam: Shahidi, F. (ed.), *Natural Antioxidants: Chemistry and Health Effects and Applications*, AOCS Press, Champaign, IL.
- Sasidharan, S., Sumathi, V., Jegathambigai, N. R. dan Latha, L.Y. (2011). Antihyperglycaemic effects of ethanol extracts of *Carica papaya* and *Pandanus amaryfollius* leaf in streptozotocin-induced diabetic mice. *Natural Product Research* 25(20): 1982–1987.
- Sugati, S. dan Johnny, R.H. (1991). *Inventaris Tanaman Obat* (I). Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Suryani, C.L. dan Setyowati, A. (2008). *Ekstrak Rempah-Rempah: Potensi Hipoglisemik dan Pengembangannya sebagai Minuman Fungsional*. Laporan Hibah Pekerti Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Universitas Mercu Buana, Yogyakarta. Indonesia.
- Suryani, C.L. dan Tamaroh, S. (2014). Aktivitas antioksidasi ekstrak etanol daun pandan wangi. *Prosiding Seminar Nasional Ketahanan Pangan*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Mercu Buana, Yogyakarta.
- Suryani, C.L. dan Tamaroh, S. (2015). Aktivitas hipoglisemik dan karakterisasi kimiawi ekstrak etanol daun pandan.

- Prosiding Seminar Nasional*. Universitas Pembangunan Nasional Veteran, Jawa Timur.
- Tiwari, A.K., Swapna, M., Ayesha, S.B., Zehra, A., Agawane, S.B. dan Maddhusudana, K. (2011). Identification of proglycemic and antihyperglycemic activity in antioxidant rich fraction of some common food grains. *International Food Research Journal* 18(3): 915–923.
- Tsai, T.H, Tsai, P.J. dan Ho, S.C. (2005). Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used spices. *Journal of Food Sciences* 70(1): C93–C97.
- Tsai, S.Y., Huang, S.J. dan Mau, J.L. (2006). Antioxidants properties of hot water extracts from *Agrocybe cylindracea*. *Food Chemistry* 98: 670–677.
- Tupe, R.S., Kemes, N.G. dan Khaire, A.A. (2013). Evaluation of antioxidant potentials and total phenolic content of selected Indian herbs powder extracts. *International Food Research Journal* 20(3): 1053–1063.
- Viña, S.Z., Olivera, D.F., Marani, C.M., Ferreyra, R.M., Mugridge, A., Chaves, A.R. dan Mascheroni, R.H. (2007). Quality of brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. *gemmifera* DC) as affected by blanching method. *Journal of Food Engineering* 80: 218–225.
- Yu-Lin, H., Kuo, Y.H., Lin, Y.L. dan Chiang, W. (2009). Antioxidative effect and active component from leaves of lotus (*Nelumbo nucifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 6623–6629.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. dan Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555–559.