

EKSTRAKSI DAUN GEDI (*Abelmoschus manihot* L) SECARA SEKUENSIAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Antioxidant Activities of Sequentially Extracted Gedi's (*Abelmoschus manihot* L) Leaves

Mercy Taroreh¹, Sri Raharjo², Pudji Hastuti², Agnes Murdiati²

¹Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu Manado 95115

²Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No.1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Email: mercytaroreh@yahoo.com

ABSTRAK

Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L) merupakan salah satu bahan utama *tinutuan*, makanan tradisional Manado. Penelitian tentang profil dan aktivitas antioksidan dari daun Gedi telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi dan membandingkan profil dan aktivitas antioksidan dari daun gedi yang diekstraksi secara sekuensial dengan pelarut heksana, aseton dan metanol. Ekstrak daun gedi selanjutnya dianalisis kandungan total fenolik dan flavonoid, sedangkan aktivitas antioksidannya dilakukan secara *in vitro* meliputi penangkal radikal bebas DPPH, pengkelat logam dan penstabil oksigen singlet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sekuensial heksana-aseton-metanol (ESHAM) memiliki total fenol dan total flavonoid yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya, masing-masing sebesar 10,67±0,49 mg GAE/g ekstrak dan 2,33±0,026 mg kuersetin/g ekstrak. ESHAM juga memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi, dengan persentase penghambatan DPPH sebesar 67,47%; persen pengkelat logam sebesar 48,07% dan persen penghambatan oksigen singlet sebesar 38,66% pada konsentrasi 150 µg/mL ekstrak. Kesimpulan senyawa fenolik pada daun gedi bersifat polar sehingga menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada pelarut polar.

Kata kunci: Daun gedi, ekstraksi sekuensial, fenolik, flavonoid dan antioksidan

ABSTRACT

Gedi's leave is one of the raw material in *tinutuan* porridge, a traditional food from Manado Indonesia. The leaves was extracted by various solvent to dissolve all of the compound. The aim of this study was to compare the profile and antioxidant activities of the extract in various sequence of solvent. Hexane, aseton, and methanol were used to dissolve a non polar, semi polar and polar component, respectively. All of the extract were analysed for its antioxidant activities. The profile of extract were indicated by total phenol and total flavonoid meanwhile antioxidant activities was measured by radical scavenging activity DPPH, metal chelating and singlet oxygen quenching. The result indicated the sequence of hexane – aseton – methanol contain the highest of total phenol and flavonoid compare to the others with 10.67±0.49 mg GAE/g extract and 2.33±0.026 mg quersetin/g extract. The sequence also showed the highest of antioxidant activities at 150 µg/mL extract with 67.47%; 48.07% and 38.66% for percentage of inhibition DPPH, value of metal chelating and singlet oxygen, respectively.

Keywords: Gedi's leave, sequential extraction, phenolic, flavonoid and antioxidant

PENDAHULUAN

Konsumsi buah dan sayuran dapat mencegah dan menurunkan resiko penyakit degeneratif seperti kanker dan jantung. Hal ini disebabkan adanya senyawa polifenol pada buah dan sayuran yang memiliki aktivitas biologi. Golongan senyawa polifenol paling banyak dijumpai pada

sayuran adalah flavonoid. Aktivitas biologi flavonoid sebagai antioksidan dilaporkan dapat menghambat peroksidasi lipid, menangkal radikal bebas dan spesies oksigen aktif (ROS) serta mengkelat logam (Ammar dkk., 2009; Liu dan Zhu, 2007).

Penyakit degeneratif yang diakibatkan oleh efek radikal bebas semakin meningkat, karena itu sangat penting

mendapatkan senyawa-senyawa antioksidan yang potensial. Polifenol dan flavonoid yang ada pada tanaman dianggap prospektif sebagai sumber antioksidan.

Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) merupakan tanaman tropis famili *Malvacea*. Sebagian kecil penduduk Indonesia memanfaatkan bagian daun gedi sebagai bahan pangan. Hasil penelitian Jeni (1992) mengidentifikasi adanya flavonoid pada daun gedi yang diekstrak dengan pelarut etanol. Adapun Pine dkk. (2011) melaporkan bahwa daun gedi yang diekstrak dengan etanol 96% memiliki total flavonoid sebesar 41,56%. Penelitian tentang bagaimana cara mendapatkan flavonoid dari daun gedi dengan rendemen dan konsentrasi senyawa flavonoid yang tinggi dengan kemampuan antioksidan yang tinggi, masih jarang dipelajari.

Ekstraksi merupakan langkah awal dalam memisahkan komponen bioaktif. Ekstraksi dengan pelarut sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa bioaktif tanaman. Ekstraksi antioksidan tanaman tergantung pada kelarutan komponen antioksidan dari tanaman dalam pelarut (Spigno dkk., 2010).

Penambahan pelarut pada suatu bahan didasarkan pada sifat melarutkan dari pelarut yang digunakan dan sifat komponen yang dilarutkan. Senyawa yang bersifat polar, cenderung larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non-polar cenderung larut pada pelarut non-polar (Marston dan Hostettman, 2006; Wonorahardjo, 2013).

Penelitian tentang penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya untuk mengekstrak antioksidan telah banyak dilakukan. Hossain dkk. (2011) mengekstraksi komponen antioksidan dari daun *Tetragonia* dengan menggunakan metanol, etil asetat, kloroform, butanol dan heksana sebagai pelarut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Sedangkan hasil penelitian Bangora dkk. (2013) menyatakan bahwa aseton merupakan pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak antioksidan dari *foxtail millet* (sejenis sereal) dibandingkan dengan pelarut air, etanol, propanol dan metanol. Hasil penelitian Vekiari dkk. (1993) yang membandingkan aktivitas antioksidan pada oregano yang diekstrak dengan heksana, etil eter, etil asetat, dan etanol, menunjukkan bahwa ekstrak heksana memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya.

Pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi senyawa flavonoid adalah metanol, etanol, aseton dan etil asetat. Sejauh ini tidak ada sistem ekstraksi pelarut yang cocok dan spesifik, yang direkomendasikan untuk mendapatkan komponen flavonoid secara optimal dari matriks tanaman. Hal ini karena sifat kimia senyawa flavonoid yang dimiliki setiap tanaman bervariasi dari yang sederhana sampai senyawa flavonoid yang kompleks. Oleh karena itu, hasil ekstraksi selalu

mengandung campuran senyawa dari golongan berbeda yang dapat larut dalam sistem pelarut yang dipilih (Oreopoulou, 2003; Marston dan Hostettman, 2006).

Senyawa organik tanaman memiliki afinitas yang berbeda-beda terhadap sifat polaritas pelarut, karena itu untuk mengekstrak senyawa-senyawa fenolik dalam jaringan tanaman sebaiknya digunakan pelarut yang berbeda-beda tingkat polaritasnya. Tingkat polaritas akan menentukan hasil ekstraksi dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak (Suryanto, 2012b).

Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan berbagai pelarut yang memiliki kepolaran berbeda dan bertingkat dari kurang polar ke polar, sehingga diharapkan dapat memisahkan komponen-komponen berdasarkan polaritasnya. Selain itu, komponen yang diekstraksi sekaligus terfraksinasi ke dalam golongan senyawa yang berlainan berdasarkan kepolarannya. Ekstraksi dengan pelarut heksana diharapkan dapat melarutkan senyawa yang bersifat non polar, sedangkan pelarut aseton dapat melarutkan senyawa semi polar dan metanol dapat melarutkan senyawa yang lebih polar. Ekstrak kemudian dianalisis profil antioksidannya (total fenol dan total flavonoid) dan aktivitas antioksidan secara *in vitro* (penangkal radikal bebas DPPH, pengkelat logam dan penstabil oksigen singlet). Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi dan membandingkan profil dan aktivitas antioksidan dari daun gedi yang diekstraksi secara sekuensial dengan pelarut heksana, aseton dan metanol.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Daun gedi diperoleh dari Kota Manado. Bahan kimia yang digunakan heksana, aseton, metanol, etanol, ammonium tiosianat, natrium karbonat, natrium nitrit, hidrogen klorida dan aluminium klorida diperoleh dari Merck (Darmsadt, Germany). Folin Ciocalteu, 2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl (DPPH), ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), 3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-*p,p'*-disulfonic acid monosodium salt hydrate (ferozzine), natrium hidroksida, asam galat, tokoferol, kuersetin dan asam linoleat diperoleh dari Sigma-Aldrich Co. Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, freeze dryer (Labconco), water bath shaker (Polyscience dual action shaker, USA), rotary evaporator (Laborata 4000 tipe Heizbad HB digit, Heidolp, Jerman), vortex (Vortex Mixer, VM-300), kotak cahaya (70x50x60 cm) dengan 4 buah fluoresen 15 watt (Silvania), pengukur intensitas cahaya (Extect, Cole-Palmer Instrument, Co.), spektrofotometer UV-Vis (UV 1650 PC, Shimadzu, Japan).

Ekstraksi Daun Gedi

Daun gedi dibersihkan dan dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* selama 3 hari. Daun yang telah kering digiling dan diayak 40 mesh sehingga diperoleh bubuk daun gedi. Ekstraksi dipersiapkan mengikuti metode yang pernah dikemukakan oleh Suryanto dkk. (2006). Ekstraksi maserasi daun gedi dilakukan dengan cara sekuensial menggunakan tiga jenis pelarut heksana, aseton dan metanol. Bubuk daun gedi ditimbang sebanyak 100 g, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan pelarut heksana sebanyak 500 mL. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi pada suhu ruang selama 24 jam, kemudian saring dengan kertas saring sehingga diperoleh ekstrak heksana (I) dan residu, residu hasil maserasi diekstraksi sekali lagi dengan 500 mL heksana selama 24 jam, sehingga diperoleh ekstrak heksana (II) dan residu. Selanjutnya residu hasil ekstrak heksana (EH) dilanjutkan lagi diekstraksi dengan aseton sehingga diperoleh ekstrak sekuensial heksana-aseton (ESHA) dan residu. Residu ini selanjutnya diekstraksi dengan metanol sehingga diperoleh ekstrak sekuensial heksana-aseton-metanol (ESHAM).

Penentuan Total Fenol

Kadar total fenol dalam ekstrak daun gedi ditentukan menurut metode Hung dan Yen, (2002). Sampel ekstrak sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam tabung reaksi dan ditambah 0,1 mL air dan 0,1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* (50%) kemudian campuran ini divortex selama 3 menit. Setelah itu dengan interval waktu 3 menit, 2 mL larutan Na_2CO_3 2% ditambahkan. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi ekstrak dibaca pada $\lambda = 750$ nm dengan spektrofotometer UV 1601 UV-Vis. Absorbansi yang terbaca merupakan nilai y yang dimasukkan ke dalam persamaan linier yang didapat dari pembuatan kurva standar asam galat pada konsentrasi 0,2–1 mg/mL. Dengan demikian akan diperoleh kandungan total fenol (nilai x) dan hasilnya dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak.

Penentuan Total Flavonoid

Kadar total flavonoid ditentukan dengan metode Dewanto dkk. (2002). Ekstrak daun gedi 50 μL ditambah akuades 4 mL dan 0,3 mL NaNO_2 10%. Setelah diinkubasi 6 menit selanjutnya ditambah 0,3 mL AlCl_3 10%, diinkubasi lagi 5 menit, kemudian ditambah 4 mL NaOH 10%. Selanjutnya ditambah akuades (sampai keseluruhan volume 10 mL), divortex 1 menit dan dibiarkan 15 menit. Absorbansi diukur pada λ 510 nm. Blanko yang digunakan adalah akuades. Kadar flavonoid total dihitung dengan menggunakan standar kuersetin dengan konsentrasi 0,02 – 0,1 mg/mL dan dihitung sebagai mg ekuivalen kuersetin/g ekstrak.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Sebagai Penangkal Radikal DPPH

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya sifat antioksidan sebagai penangkap radikal bebas menurut Chandini dkk. (2008). Sebanyak 1 mL ekstrak daun gedi dengan konsentrasi 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ditambah dengan 2 mL larutan DPPH dalam metanol 0,08 mM. Campuran tersebut kemudian divortex dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar dalam keadaan gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dan sebagai blanko digunakan metanol. Hasil presentase aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dihitung menurut persamaan :

$$\text{Aktivitas Penangkal Radikal Bebas (\%)} = \left[1 - \left(\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \right) \times 100\% \right] \quad (1)$$

Pengujian Kemampuan Sebagai Pengkelat Logam

Aktivitas pengkelat logam ditentukan menurut metode Dinis dkk. (1994). Sebanyak 1 mL ekstrak daun gedi dengan konsentrasi 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dicampur dengan 0,05 mL FeCl_2 2mM dan 0,2 mL ferrozine 5 mM. Total volume diencerkan menjadi 4 mL dengan metanol. Kemudian campuran dikocok pada suhu ruang selama 10 menit. Selanjutnya absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer pada λ 562 nm. Perhitungan persentase penghambatan pembentukan kompleks- Fe^{2+} dihitung dengan rumus :

$$\left[\left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{sampel}}} \right) \times 100\% \right] \quad (2)$$

A kontrol = absorbansi kompleks ferrozine dan A sampel = absorbansi komponen yang diuji.

Penentuan Aktivitas Penstabil Oksigen Singlet ($^1\text{O}_2$)

Efek penstabil (*quencher*) oksigen singlet diuji dengan metode Lee dkk. (2004) dan Suryanto dkk. (2012c) dengan sedikit dimodifikasi. Efek ekstrak daun gedi terhadap fotooksidasi menggunakan konsentrasi 500 mg/L dalam asam linoleat 1% yang dipersiapkan dalam metanol dan mengandung 7 ppm eritrosin sebagai sensitiser. Sampel dari campuran tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam serum yang berukuran 30 mL (60 x 30 mm, kondisi botol sama) yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Botol tersebut kemudian diletakkan dan disimpan dalam kotak (70 x 50 x 60 cm) dengan intensitas cahaya 4.000 lux. Angka peroksida diukur selama 5 jam dengan metode Jiang dan Eldin (1996): Sebanyak 0,1 mL ditambah dengan 10 mL etanol 99% yang mengandung 200 μL larutan ammonium thiocyanat 30%, kemudian ditambahkan 200 μL 20mM FeCl_2 dalam 3,5% larutan HCl diaduk selama 3 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

Angka peroksida dinyatakan sebagai miliequivalent peroksida/kg minyak. Angka peroksida dikalkulasi dengan rumus :

$$\text{Angka Peroksida} = \frac{(As - Ab)m}{55,84 \times m_0} \quad (3)$$

Dimana As = absorbansi sampel, Ab = absorbansi blanko, m = slope dari kurva standart (dalam penelitian ini 0,3652); 55.84=berat molekul FeCl₂, m₀= massa sampel dalam gram dan 2= bilangan peroksida sebagai miliequivalen peroksida.

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{\text{Angka peroksida kontrol} - \text{angka peroksida sampel}}{\text{angka peroksida kontrol}} \times 100 \quad (4)$$

Metode Analisis Statistik

Metode analisis statistik yang digunakan adalah pengujian analisis sidik ragam menggunakan program SPSS versi 16.0. Jika diperoleh pengaruh yang nyata terhadap perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan pada tiap ekstrak daun gedi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi, Kandungan Total Fenol dan Flavonoid

Rendemen dari daun gedi yang diekstrak dengan berbagai pelarut secara sekuensial ditunjukkan pada Tabel 1. Pelarut metanol memberikan rendemen tertinggi dibandingkan dengan pelarut heksana dan aseton.

Tabel 1. Rendemen, kandungan total fenol dan flavonoid pada ekstrak daun gedi

| Ekstrak | Rendemen (%) | Total fenol (mg asam galat/g ekstrak) | Total flavonoid (mg kuersetin/g ekstrak) |
|---------|--------------------------|---------------------------------------|--|
| EH | 4,94 ± 0,51 ^a | 5,47 ± 0,86 ^{a*} | 0,48 ± 0,04 ^a |
| ESHA | 4,47 ± 0,62 ^a | 6,78 ± 0,62 ^a | 1,64 ± 0,12 ^b |
| ESHAM | 6,33 ± 0,56 ^b | 10,67±0,49 ^b | 2,33 ± 0,02 ^c |

*) huruf yang sama menunjukkan secara statistika tidak berbeda nyata

Tabel 1 menunjukkan bahwa ESHAM memiliki rendemen yang tertinggi dibandingkan dua ekstrak lainnya. Hal ini mungkin disebabkan, 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. Pada studi pendahuluan telah dilakukan analisis proksimat terhadap daun gedi segar yang menunjukkan bahwa daun gedi memiliki kandungan karbohidrat dan

protein masing-masing 9,6% db dan 17,76% db sedangkan lemak hanya 6,05% db. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa komponen senyawa bersifat polar pada daun gedi persentasenya lebih besar dibandingkan dengan komponen senyawa yang bersifat non polar, akibatnya ekstrak sekuensial heksana aseton metanol memiliki rendemen yang tertinggi dibandingkan ekstrak heksana dan ekstrak heksana-aseton.

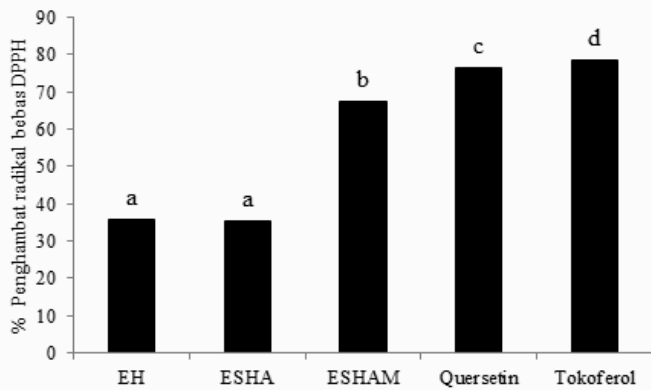
Kadar total fenol dan flavonoid ekstrak daun gedi ditentukan dengan kurva kalibrasi dari asam galat untuk total fenol (Y= 0,7846x-0,0856, R²= 0,9986) dan kuersetin untuk flavonoid (Y= 1,3535x + 0,0087, R²= 0,9919). Hasil pengukuran kadar total fenol dan flavonoid dari ekstrak daun gedi dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa kadar total fenol dan flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak metanol (ESHAM), diikuti ekstrak aseton (ESHA) dan heksana (EH). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut heksana-aseton-metanol secara sekuensial lebih efektif melarutkan komponen fenolik dan flavonoid daun gedi dibandingkan pelarut heksana dan aseton.

Othman dkk. (2014) menyatakan bahwa ekstraksi komponen fenolik sampel bergantung pada kecocokkan komponen dengan sistem pelarut berdasarkan prinsip *like-dissolves like*. Setiap pelarut memiliki efektivitas yang berbeda dalam melarutkan senyawa fenolik, tergantung pada kesesuaian polaritas dari pelarut dan senyawa fenolik. Baik senyawa fenolik maupun flavonoid merupakan substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil, sehingga sifatnya mudah larut dalam pelarut polar. Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan fenol lebih baik sehingga kadar total fenol dan flavonoid pada ekstrak menjadi tinggi. Nilai polaritas berdasarkan konstanta dielektrik berturut-turut dari paling polar sampai non-polar, pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu metanol (33), aseton (21) dan heksana (2,0) (Estiasih dan Kurniawan, 2006).

Aktivitas Antioksidan Sebagai Penangkal Radikal Bebas DPPH

DPPH sering digunakan sebagai substrat untuk mengevaluasi aktivitas antiradikal dari antioksidan. Metode ini didasarkan pada reduksi larutan DPPH yang membentuk DPPH-H, senyawa non-radikal, karena adanya donasi hidrogen dari antioksidan (Swarna dkk., 2013).

Kemampuan ekstrak daun gedi menangkal radikal DPPH diukur dan dibandingkan dengan kuersetin dan tokoferol sebagai kontrol positif (Gambar 1). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa ekstrak metanol (ESHAM) memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH paling tinggi dibandingkan ekstrak heksana dan ekstrak aseton, namun masih lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif, kuersetin dan tokoferol.



Gambar 1. Perbandingan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH daun gedi yang diekstrak dengan heksana (EH), aseton (ESHA), metanol (ESHAM) dan kuersetin serta tokoferol pada konsentrasi 150 µg/mL

Tingginya aktivitas penangkal radikal bebas DPPH pada ekstrak metanol diduga disebabkan ekstrak ini memiliki kandungan total fenol dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak heksana dan ekstrak aseton, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH berkaitan dengan kandungan total fenol pada jaringan tanaman (Fernando dkk., 2014). Semakin tinggi kandungan total fenol dan flavonoid pada ekstrak, maka semakin banyak pula gugus hidroksilnya. Adanya gugus hidroksil dalam molekul akan meningkatkan kapasitas antiradikal pada ekstrak (Swarna dkk., 2013).

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Nurcahyanti dkk. (2011) yang menyatakan bahwa biji selasih (*Ocimum sanctum* Linn) diekstrak dengan metanol memiliki kemampuan penghambatan radikal bebas paling tinggi pada semua konsentrasi dibanding etil asetat dan aseton.

Pada konsentrasi yang sama (150 µg/mL), aktivitas antioksidan penangkal radikal DPPH ekstrak daun gedi lebih kecil jika dibandingkan dengan tokoferol dan kuersetin. Hal ini menunjukkan bahwa gugus aktif lebih banyak pada tokoferol dan kuersetin dibandingkan pada ekstrak daun gedi, dan kemungkinan disebabkan ekstrak daun gedi masih kasar dan belum murni.

Pada penelitian ini juga dilakukan penentuan nilai IC_{50} , yaitu kemampuan antioksidan berdasarkan konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menghambat aktivitas radikal DPPH hingga 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen penangkapan radikal (Rohman dkk., 2007). Penentuan aktivitas antioksidan IC_{50} hanya dilakukan pada ESHAM, sedangkan EH dan ESHA tidak ditentukan karena peningkatan konsentrasi ekstrak heksana dan ekstrak aseton tidak menunjukkan penurunan absorbansi larutan DPPH secara linier.

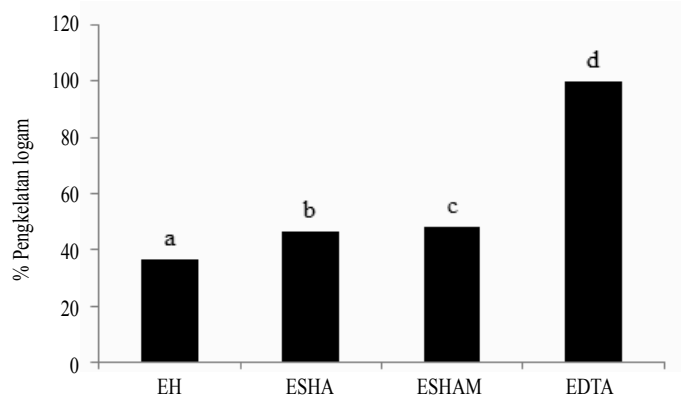
Nilai IC_{50} ESHAM yaitu $42,83 \pm 0,48$ µg/mL. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Gul dkk. (2011), yang menentukan nilai IC_{50} pada daun *Abelmoschus moschatus* yang diekstrak dengan etanol 80%, pada suhu 40-50°C, selama 3-4 jam, dan nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar $42,8 \pm 1,0$ µg/mL. Namun hasil ini berbeda dengan nilai IC_{50} yang diperoleh Pine dkk. (2011) pada daun gedi yang diekstrak dengan etanol 96% yaitu sebesar 0,575 – 1,496 mg/mL.

Aktivitas Antioksidan Sebagai Pengkelat Ion Besi (II)

Ion Fe^{2+} sangat efektif sebagai prooksidan dan dapat menginisiasi peroksidasi lipid. Interaksi ion Fe^{2+} dengan hidrogen peroksida pada sistem biologi dapat membentuk radikal peroksida yang sangat reaktif. Proses ini dapat ditunda dengan mengkelat ion Fe^{2+} . Komponen fenolik dan flavonoid memiliki gugus hidroksil dan karboksil yang mampu mengkelat ion logam (Niciforovic dkk., 2010).

Aktivitas pengkelat logam dari ekstrak daun gedi ditentukan dengan pengukuran ferrozine. Ferrozine yang membentuk kompleks dengan Fe^{2+} dapat diukur. Adanya agen pengkelat menyebabkan pembentukan kompleks ferrozine dengan Fe^{2+} terganggu dan ditunjukkan dengan berkurangnya warna merah yang terbentuk. Pengukuran berkurangnya warna merah memungkinkan penghitungan aktivitas pengkelatan logam dari ekstrak (Yamaguci dkk., 2000).

EDTA memiliki sifat pengkelat logam yang kuat, karena itu digunakan sebagai standar pengkelat logam pada penelitian ini. Aktivitas pengkelatan ion Fe^{2+} beberapa ekstrak daun gedi dan EDTA ditunjukkan pada Gambar 2. Pada penelitian ini, ekstrak metanol memiliki persen pengkelatan ion Fe^{2+} yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak heksana dan aseton pada konsentrasi 150 µg/mL, yaitu sebesar 48,07%.

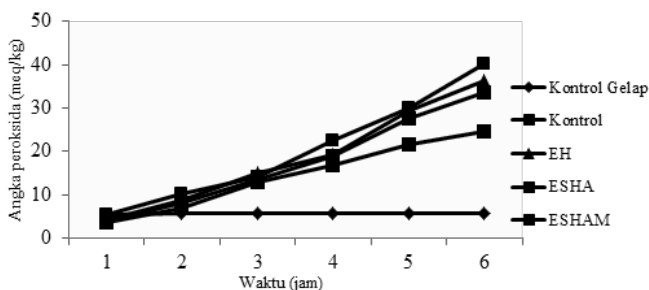


Gambar 2. Perbandingan aktivitas pengkelatan logam, daun gedi yang diekstrak dengan heksana (EH), aseton (ESHA), metanol (ESHAM) dan EDTA sebagai kontrol positif pada konsentrasi 150 µg/mL

Aktivitas Antioksidan Sebagai Penstabil Oksigen Singlet

Pada pengujian aktivitas antioksidan sebagai penstabil oksigen singlet (*singlet oxygen quenching*) diperlukan adanya pencahayaan, asam lemak tidak jenuh (asam linoleat) dan sensitizer (eritrosin). Prinsip pengujian ini adalah senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai penstabil oksigen singlet mampu menstabilkan secara fisik dan kimia oksigen singlet yang dihasilkan dari oksigen triplet dengan adanya cahaya dan sensitiser, sehingga tidak menghasilkan peroksida pada asam lemak tidak jenuh. Kerusakan asam lemak tidak jenuh yang disebabkan oleh oksigen singlet dapat ditentukan dengan melihat angka peroksida yang semakin meningkat (Raharjo, 2006; Suryanto dkk., 2006a).

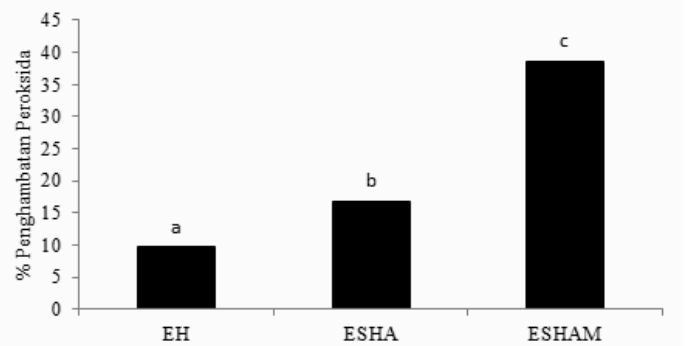
Pengaruh 150 µg/mL dari ekstrak heksana, ekstrak aseton dan ekstrak metanol terhadap angka peroksida asam linoleat yang diberikan cahaya sebesar 4000 lux selama lima jam, ditunjukkan pada Gambar 3. Pada gambar ini terlihat bahwa ketiga ekstrak daun gedi dan kontrol mengalami peningkatan bilangan peroksida pada setiap jam pengamatan, selama lima jam penyinaran. Kecuali pada kontrol gelap yaitu sistem asam linoleat tanpa penyinaran, tidak menunjukkan peningkatan bilangan peroksida. Hal ini membuktikan bahwa tanpa penyinaran oksigen singlet tidak dapat dihasilkan.



Gambar 3. Pengaruh 150 µg/mL ekstrak heksana (EH), ekstrak aseton (ESHA) dan ekstrak metanol (ESHAM) terhadap angka peroksida asam linoleat yang disinari cahaya fluoresen (4000 lux) selama 5 jam. Kontrol Gelap: tanpa cahaya; kontrol : tanpa penambahan antioksidan

Pada Gambar 3 menunjukkan sistem asam linoleat tanpa penambahan ekstrak daun gedi (kontrol) memiliki laju pembentukan peroksida paling tinggi dibandingkan dengan sistem asam linoleat dengan penambahan ekstrak daun gedi. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun gedi dapat menghambat laju pembentukan peroksida.

Persen penghambatan kerusakan asam linoleat oleh senyawa antioksidan dari daun gedi yang diekstrak dengan heksana, aseton dan metanol secara sekuensial dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol (ESHAM) memiliki persen penghambatan tertinggi diikuti ekstrak aseton (ESHA) dan ekstrak heksana



Gambar 4. Perbandingan persen penghambatan angka peroksida ekstrak heksana (EH), ekstrak aseton (ESHA) dan ekstrak metanol (ESHAM) pada konsentrasi 150 µg/mL terhadap foto oksidasi asam linoleat yang disensitasi oleh eritrosin dan disinari cahaya fluoresen (4000 lux) selama 5 jam

(EH) masing-masing sebesar 38,66%; 16,17% dan 9,63%. Hal ini berarti komponen antioksidan yang bersifat sebagai penstabil oksigen pada daun gedi bersifat polar.

Belum pernah ada data penelitian sebelumnya, tentang pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun gedi sebagai penstabil oksigen singlet. Sebagai pembanding, hasil penelitian Suryanto dkk. (2005) pada buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) yang diekstrak secara sekuensial dengan menggunakan pelarut berturut-turut : heksana, aseton dan etanol menghasilkan persen penghambatan pembentukan peroksida, untuk ekstrak sekuensial heksana aseton etanol sebesar 66,67%, ekstrak sekuensial heksana aseton sebesar 47,22% dan ekstrak heksana sebesar 25%.

KESIMPULAN

Ekstrak sekuensial heksana-aseton-metanol (ESHAM) memiliki kadar total fenol dan total flavonoid serta aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal DPPH, pengkelat logam dan penstabil oksigen singlet serta tertinggi dibandingkan dengan ekstrak sekuensial heksana-aseton (ESHA) dan ekstrak heksana (EH). Senyawa fenolik pada daun gedi bersifat polar sehingga menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi pada pelarut polar.

DAFTAR PUSTAKA

Ammar, R.B., Bhourri, W., Sghaier, M.B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Marriotte, A.M, Ghedira, L.C., Franca, M.G.D. dan Ghedira. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry* **116**: 258-264.

- Bangoura, M.L., Nsor-Atindana, J. dan Ming, Z.H. (2013). Solvent optimization extraction of antioxidants from foxtail millet species insoluble fibers and their free radical scavenging properties. *Food Chemistry* **141**: 736-744.
- Chandini, S.K., Ganesan, P. dan Bhaskar, N. (2008). In vitro antioxidant activities of there selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry* **107**(2): 707-713.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K. dan Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 3010-3014.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. dan Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **315**: 161-169.
- Estiasih, T. dan Kurniawan, D.A. (2006). Aktivitas antioksidan ekstrak umbi ginseng jawa (*Talinum triangulare* Willd.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **3**(XVII): 166-175.
- Fernando, H.R.P., Srilaong, V., Pongprasert, N., Boonyariththongchai, P. dan Jitareerat, P. (2014). Changes in antioxidant properties and chemical composition during ripening in banana variety 'Hom Thong' (AAA group) and "Khai" (AA group). *International Food Research Journal* **21**(2): 749-754.
- Gul, M.Z., Bhakshu, L.M., Ahmad, F., Kondapi, A.K., Qureshi, I.A. dan Ghazi, I.A. (2011). Evaluation of *Abelmoschus moschatus* extracts for antioxidant, free radical scavenging, antimicrobial and antiproliferative activities using in vitro assays. *BioMedCentral Complementary and Alternative Medicine* **11**: 1-12.
- Hossain, M.A., Shah, M.D., Gnanaraj, C. dan Iqbal, M. (2011). In vitro total phenolics, flavonoid contents and antioxidant activity of essential oil, various organics extracts from the leaves of tropical plant *tetragonia* from sabah. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine* **4**(9): 717-721.
- Hung, C.Y. dan Yen, G.C. (2002). Antioxidant of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* hemsil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 2993-2997.
- Jeni, T. (1992). *Pemeriksaan Kandungan Kimia Daun Gedi (Abelmoschus manihot L. Medik)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Jiang, J. dan Eldin, A.F. (1996). Comparing methylene blue-photosensitized oxidation of methyl-conjugated linoleate and methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**: 923-927.
- Lee, H.H., Koo, N. dan Min, D.B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety* **3**: 21-33.
- Liu, B. dan Zhu, Y. (2007). Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. *Journal of Food Engineering* **78**: 584-587.
- Marston, A. dan Hostettmann, K. (2006). Separation and quantification of flavonoids. *Dalam: Andersen, O.M. dan Markham, K.N. (ed.). Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. CRC Press. BocaRaton, London, New York.
- Niciforovic, N., Mihailovic, V., Maskovic, P., Solujic, S., Stojkovic, A. dan Muratspahic, D.P. (2010). Antioxidant activity of selected plant species potential new sources of natural antioxidants. *Food an Chemical Toxicology* **48**: 3125-3130.
- Nurchayanti, A.D.R., Dewi, L. dan Timotius, K.H. (2011). Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak polar dan non polar biji selasih (*Ocimum sanctum* Linn). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **1**(XXII): 1-6.
- Oreopoulou, V. (2003). Extraction of natural antioxidants. *Dalam: Tzia, C. dan Liadakis, G. (ed.). Extraction Optimization in Food Engineering*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Othman, A., Mukthar, N.J., Ismail, N.S. dan Chang, S.K. (2014). Phenolics, flavonoids content and antioxidant activities of 4 Malaysian herbal plants. *International Food Research Journal* **1**(2): 759-766.
- Pine, A.T.D., Alam, G. dan Attamim, F. (2011). Standarisasi mutu ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dan uji efek antioksidan dengan metode DPPH. <http://www.pasca.unhas.ac.id/jurnal>. [21 Agustus 2012].
- Raharjo, S. (2006). *Kerusakan Oksidatif pada Makanan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Rohman, A., Riyanto, S. dan Hidayati, N.K. (2007). Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total, dan flavonoid total daun mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Agritech* **27**: 147-151.
- Spigno, G., Tramelli, L. dan De Faveri, D.M. (2010). Effects of extraction time, temperature and solvent on

- concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* **81**: 200-208.
- Suryanto, E., Raharjo, S., Sastrohamidjojo, H. dan Tranggono. (2005). Efek antioksidatif ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap asam linoleat. *Agritech* **25**(4): 63-69.
- Suryanto, E., Raharjo, S., Sastrohamidjojo, H. dan Tranggono (2006a). Aktivitas antioksidan dan stabilitas ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap panas, cahaya fluoresen dan ultraviolet. *Agritech* **25**(2): 63-69.
- Suryanto, E. (2012b). *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Suryanto, E., Rorong, J.A. dan Katja, D.G. (2012c). Mekanisme dan kinetika *quenching* oksigen singlet dari senyawa fenolik daun cengkeh terhadap fotooksidasi yang disentasi oleh eritrosin. *Agritech* **32**(2): 117-125.
- Swarna, J., Lokeswari, T.S., Smita, M. dan Ravindhran, D. (2013). Characterisation and determination of in vitro antioxidant potential of betalains from *Talinum triangulare* (jacq.) wild. *Food Chemistry* **141**: 4382-4390.
- Vekiari, S.A., Tzia, C., Oreopoulou, V. dan Thomopoulos (1993). Isolation of natural antioxidant from oregano. *Riv Ital Sostanze Grasse* **70**: 25-28.
- Wonorahardjo, S. ((2013). *Metode-metode Pemisahan Kimia*. Akademia Permata, Jakarta.
- Yamaguchi, F., Ariga, T., Yoshimira, Y. dan Nakazawa, H. (2000). Antioxidant and antiglycation of carbinol from *Garcinia indica* fruit rind. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**: 180-185.