

JURNAL KIMIA UNAND

ISSN No. 2303-3401

Volume 8 Nomor 4

November, 2019

*Media untuk mempublikasikan
hasil-hasil penelitian seluruh
dosen dan mahasiswa Kimia
FMIPA Unand*

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Andalas

Tim Editorial Jurnal Kimia Unand

Emil Salim, M.Sc, M.Si
Dr. Syukri
Prof. Dr. Adlis Santoni
Prof. Dr. Rahmiana Zein
Prof. Dr. Syukri Arief
Dr. Mai Efdi

Alamat Sekretariat

Jurusan Kimia FMIPA Unand
Kampus Unand Limau Manis, Padang – 25163
PO. Box 143, Telp./Fax. : (0751) 71 681
Website Jurnal Kimia Unand: www.jurnalsain-unand.com
Corresponding E-mail: salim_emil17@yahoo.com
syukri@fmipa.unand.ac.id

DAFTAR ISI

JUDUL ARTIKEL	Halaman
1. ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN PEGAGAN (<i>Centella asiatica</i> (Linn) Urban) Suryati, Adlis Santoni, Riska Affriliana Devi	1-7
2. ISOLASI LIGNIN DARI LINDI HITAM (<i>Black liquor</i>) SEBAGAI INHIBITOR KOROSI PADA BAJA Ricka Pratiwy, Yulizar yusuf, Zilfa	8-12
3. KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI TANAMAN JAHE (<i>Zingiber officinale</i>) DARI DAERAH KABUPATEN SOLOK DENGAN GAS CHROMATOGRAPY MASS SPECTROMETRY (GC-MS) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI Mai Efdi, Daimon Syukri, Tessa Wulandari	13-18
4. PENGARUH PROSES EKSTRAKSI DAN KONDISI PENYIMPANAN TERHADAP KANDUNGAN ANTIOKSIDAN TOTAL DALAM DAUN TANAMAN OBAT Yefrida, Refinel, Julira Isnani Nisa	19-24
5. FENOLIK TOTAL, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK DARI EKSTRAK KULIT BATANG JAMBU AIR (<i>Syzygium aqueum</i> (Burm. F.) Alston) BUAH BERWARNA HIJAU Fadhil Rahmeidi, Adlis Santoni, Afrizal	25-31

ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (Linn) Urban)

Suryati, Adlis Santoni, Riska Affriliana Devi*

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang 25163 Indonesia

*Email: riskaaffriliana.devi@yahoo.com

Abstrak: Tumbuhan Pegagan (*Centella asiatica* (Linn) Urban) merupakan tanaman liar yang mudah ditemukan di halaman sekitar, perkebunan ataupun di tempat yang lembab. Daun tumbuhan ini telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional antara lain untuk mengobati sakit perut, penyembuh luka, mimisan, penyakit borok serta penambah nafsu makan. Pada penelitian ini, telah dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun pegagan dengan metoda difusi sumuran terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Hasilnya menunjukkan bahwa fraksi ini aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Selanjutnya dilakukan isolasi dan pemurnian terhadap fraksi etil asetat menggunakan metoda kromatografi kolom fasa normal. Senyawa murni hasil isolasi diperoleh berupa padatan putih dengan titik leleh 247-249°C dan menunjukkan positif triterpenoid dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Karakterisasi senyawa triterpenoid hasil isolasi menggunakan data spektrum UV menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi tidak memiliki ikatan rangkap berkonjugasi ditandai dengan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 254 nm. Data spektrum IR menunjukkan adanya gugus fungsi karbonil (1736,89 cm⁻¹), gugus fungsi C-O (1238 cm⁻¹), gugus fungsi C-H alifatik ulur dan tekuk (2979,20 cm⁻¹ dan 1448,12 cm⁻¹), serta munculnya gugus geminal dimetil (1373,92 cm⁻¹) yang merupakan ciri khas dari senyawa triterpenoid. Senyawa triterpenoid hasil isolasi tidak menunjukkan aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: Pegagan, Triterpenoid, Antibakteri

1. Pendahuluan

Indonesia memiliki berbagai macam jenis flora yang digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya yaitu tumbuhan pegagan. Tumbuhan pegagan merupakan tanaman liar yang biasanya mudah ditemukan di tempat yang lembab seperti di ladang, tepi jalan dan persawahan [1].

Tumbuhan ini sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dalam bentuk segar, kering maupun dalam bentuk ramuan [2]. Secara tradisional, tumbuhan pegagan digunakan untuk menyembuhkan luka, mengobati rematik, disentri, demam, batuk, penambah selera makan serta mengobati gangguan pencernaan [3].

Adanya khasiat yang ditunjukkan oleh tumbuhan pegagan berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder yang ada di dalam tumbuhan tersebut. Dimana tumbuhan pegagan ini mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, tanin, flavanoid, fenolik, steroid dan triterpenoid [4],[5].

Berdasarkan penelitian Bhole dan Sathisha (2010) diketahui bahwa ada beberapa bakteri endofit yang ditemukan pada tumbuhan pegagan yang berfungsi untuk mencegah penyakit pada manusia

[6]. Yusran dan Saleh (2016) melaporkan ekstrak metanol daun pegagan merah dan hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri *mycobacterium tuberculosis* [7]. Agfadila (2017) melaporkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* ATCC 8789 [8]. Herlinda (2017) melaporkan adanya dua senyawa triterpenoid (asam brahmat dan α -amirin) yang diisolasi dari ekstrak butanol tumbuhan pegagan [9]. Vika (2019) juga telah melakukan penelitian bahwa adanya senyawa triterpenoid yang diisolasi dari ekstrak etil asetat daun pegagan [5].

Berdasarkan penelitian sebelumnya, banyak peneliti yang melaporkan tentang bioaktivitas dari ekstrak tumbuhan pegagan. Namun sejauh ini belum ada yang melaporkan senyawa hasil isolasi yang berpotensi sebagai antibakteri dari ekstrak etil asetat daun pegagan. Maka pada penelitian ini akan dilakukan terlebih dahulu uji aktivitas antibakteri terhadap fraksi etil asetat daun pegagan, setelah itu dilakukan proses isolasi dan karakterisasi terhadap fraksi etil asetat daun pegagan serta dilakukan kembali uji aktivitas antibakteri senyawa hasil isolasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*

dan *S.aureus* dengan menggunakan metoda difusi sumuran. Alasan pemilihan kedua bakteri tersebut berdasarkan kegunaan secara tradisional daun pegagan.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu beberapa kromatografi kolom, botol vial, pipa kapiler, neraca analitik, melting point apparatus, lampu UV (λ 254 dan 356 nm), dan seperangkat alat distilasi. Peralatan yang digunakan untuk karakterisasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis, Fourier Transform InfraRed (FTIR). Sedangkan untuk uji antibakteri menggunakan jarum ose, petridish, jangka sorong digital, inkubator, pinset, tabung reaksi dan autovlave.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1,7336 gram fraksi K etil asetat daun pegagan yang diperoleh dari penelitian sebelumnya [5], silika gel 60 F₂₅₄, plat KLT, pelarut yang digunakan adalah pelarut teknis yang telah didistilasi yaitu heksana, etil asetat dan akuades. Sedangkan reagen yang digunakan untuk uji fitokimia seperti pereaksi Mayer (merkuri (II) klorida dan kalium iodida) untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann-Burchard* (anhidrida asetat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, *sianida test* (bubuk magnesium dan asam klorida pekat) untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik. Pada uji aktivitas antibakteri digunakan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *amoxicillin*, Media Mueller-Hinton Agar (MHA) dan Nutrient Agar (NA), alkohol 70% dan NaCl 0,9%.

2.3 Tahapan Penelitian

Sampel fraksi K etil asetat didapatkan dari penelitian sebelumnya, dimana sebanyak 30 gram ekstrak etil asetat daun pegagan dikromatografi kolom menggunakan sistem elusi *Step Gradien Polarity*, sehingga didapatkan 15 fraksi (A-O) [5].

2.3.1 Uji Fitokimia Fraksi K Etil Asetat

Sebanyak 1 gram fraksi K etil asetat dilarutkan dengan pelarut etil asetat.

a. Pemeriksaan flavonoid

Larutan fraksi K etil asetat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan sedikit serbuk magnesium, terbentuk warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavonoid.

b. Pemeriksaan fenolik

Larutan fraksi K etil asetat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah larutan besi (III) klorida dan diamati perubahan warna larutan. Apabila larutan berwarna hijau pekat menandakan positif mengandung senyawa fenolik.

c. Pemeriksaan Saponin

Larutan fraksi K etil asetat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok. Apabila terbentuknya busa yang tidak hilang (5 menit) setelah penambahan beberapa tetes asam klorida pekat, menunjukkan adanya senyawa saponin.

d. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid

Larutan fraksi K etil asetat dipipet, lalu diteteskan pada tiga lubang plat tetes. Lubang pertama dan kedua untuk uji triterpenoid dan steroid sedangkan lubang tiga sebagai pembanding. Setelah itu diteteskan *Liebermann-Burchard*. Apabila berwarna merah atau ungu menandakan positif senyawa triterpenoid, jika berwarna hijau atau hijau kebiruan menandakan positif senyawa steroid.

e. Pemeriksaan alkaloid

Larutan fraksi K etil asetat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan amoniak, kloroform dan pereaksi mayer. Setelah itu diaduk dan jika timbul endapan berwarna putih maka menandakan adanya kandungan senyawa alkaloid.

2.3.2 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi K Etil Asetat

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan menggunakan metoda difusi sumuran. Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri, terlebih dahulu dilakukan proses sterilisasi alat dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 2 jam. Serta dilakukan proses peremajaan bakteri, diambil 1 ose bakteri lalu dimasukkan ke dalam media nutrient agar miring, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap senyawa fraksi K etil asetat menggunakan larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 mg/L dengan proses pengenceran bertingkat. Kontrol positif yang digunakan yaitu amoxilin.

Sebanyak 0,25 mL suspensi kedua bakteri yang telah dibuat masing-masing dimasukkan ke dalam media Mueller Hinton Agar (MHA). Jika sudah homogen, media MHA dituangkan ke dalam cawan petrisidh, lalu dibiarkan media memadat. Setelah itu, dibuat lubang sebesar \pm 8 mm. Kapas yang steril berbentuk bulat

dicelupkan ke dalam larutan uji, lalu dimasukkan ke dalam lubang media agar. Dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, diamati zona bening yang terbentuk dengan jangka sorong.

2.3.3 Isolasi dan Pemurnian Senyawa Hasil Isolasi

Sebelum dilakukan proses isolasi, dilakukan uji pendahuluan komatografi lapis tipis (KLT) terhadap senyawa fraksi K etil asetat. Sebanyak 5 mg fraksi K etil asetat dilarutkan dengan pelarut etil asetat, kemudian ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipet kapiler, lalu dielusi didalam chamber dengan perbandingan eluen heksana : etil asetat (8:2), (7:3) dengan masing-masing volume 10 mL. Pengamatan hasil elusi pada plat KLT dapat dilihat dibawah cahaya lampu UV pada λ_{254} nm dan λ_{365} nm.

Proses isolasi dilakukan terhadap fraksi K etil asetat sebanyak 1,7336 gram menggunakan metoda SGP dengan peningkatan kepolaran dimulai dari eluen heksana 100%, campuran heksana dengan etil asetat, etil asetat 100% dengan masing-masing volume 300 mL. Eluat yang didapat ditampung dalam vial, kemudian dilakukan uji KLT dengan masing-masing interval lima vial. Eluat yang memiliki pola pemisahan yang sama digabung menjadi satu fraksi, sehingga didapatkan 4 fraksi (1-4). Selanjutnya fraksi 3 sebanyak 0,2866 gram (vial 50-160) dilakukan proses rekromatografi. Proses rekromatografi dilakukan menggunakan sistem elusi secara isokarotik dengan perbandingan eluen heksana : etil asetat (8:2), sehingga didapatkan eluat sebanyak 154 vial. Dilakukan uji KLT lalu didapatkan 4 sub fraksi (3.1; 3.2; 3.3; 3.4). Pada sub fraksi 3.1 menunjukkan adanya padatan putih, sehingga dilakukan proses pemurnian dengan cara triturasi menggunakan pelarut heksana. Proses pemurnian dilakukan terus menerus sampai didapatkan noda tunggal pada uji plat KLT.

2.3.4 Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi

a. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa yang akan di uji kemurnian terlebih dahulu dilarutkan dengan pelarut etil asetat. Senyawa ditotolkan pada tiga plat KLT yang berbeda menggunakan pipet kapiler, masing-masing plat KLT dielusi di dalam tiga chamber yang berisi perbandingan eluen heksana : etil asetat (2:8), (3:7), (4:6) dengan masing-masing volume total 10 mL. Kemudian dilakukan

proses pengamatan dibawah cahaya lampu UV pada λ_{254} nm dan λ_{365} nm.

b. Pengujian Titik Leleh

Proses pengujian titik leleh menggunakan alat *Melting Point Apparatus*. Senyawa hasil isolasi berupa kristal diletakkan diantara 2 lempeng kaca yang ditaruh diatas plat logam yang kemudian dipanaskan dengan listrik. Suhu dinaikan secara perlahan, kemudian diamati menggunakan kaca pembesar dan dicatat suhu ketika kristal mulai meleleh sampai habis meleleh.

2.3.5 Identifikasi Dan Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Proses identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan melalui proses uji fitokimia menggunakan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Proses karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV dan spektrofotometer FTIR dengan cara senyawa hasil isolasi dilarutkan terlebih dahulu dengan pelarut etil asetat.

2.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Triterpenoid Hasil Isolasi

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan menggunakan metoda difusi sumuran. Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri, terlebih dahulu dilakukan proses sterilisasi alat dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 2 jam. Serta dilakukan proses peremajaan bakteri terlebih dahulu, diambil 1 ose bakteri lalu dimasukkan ke dalam media nutrient agar miring, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap senyawa fraksi K etil asetat menggunakan larutan induk 1000 mg/L. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 mg/L dengan proses pengenceran bertingkat. Kontrol positif yang digunakan yaitu amoxilin.

Sebanyak 0,25 mL suspensi kedua bakteri yang telah dibuat masing-masing dimasukkan ke dalam media Mueller Hinton Agar (MHA). Jika sudah homogen, media MHA dituangkan ke dalam cawan petrisidh, lalu dibiarkan media memadat. Setelah itu, dibuat lubang sebesar ± 8 mm. Kapas yang steril berbentuk bulat dicelupkan ke dalam larutan uji, lalu dimasukkan ke dalam lubang media agar. Dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, diamati zona bening yang terbentuk dengan jangka sorong.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Uji Fitokimia Fraksi K Etil Asetat

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Sampel (Fraksi K)
Flavanoid	Sianidin test	(-)
Fenolik	FeCl ₃	(+)
Triterpenoid	Liebermann-Burchad	(+)
Steroid	Liebermann-Burchad	(+)
Alkaloid	Mayer	(+)
Saponin	Air + HCl p.a	(-)

Keterangan:

(+) mengandung metabolit sekunder

(-) tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan data Tabel 1 dapat diketahui bahwa sampel fraksi K etil asetat daun pegagan mengandung metabolit sekunder fenolik, triterpenoid, steroid, dan alkaloid. Sebagian besar senyawa uji fitokimia yang telah dilakukan sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya.

3.2 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi K Etil Asetat Daun Pegagan

Uji aktivitas antibakteri terhadap fraksi K bertujuan untuk mengetahui apakah fraksi K yang akan diisolasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan bakteri *E.coli*. Pemilihan kedua bakteri tersebut dikarenakan kedua bakteri ini dapat mewakili bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, selain itu kedua bakteri tersebut sangat merugikan bagi manusia sehingga menimbulkan penyakit [10]. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metoda difusi sumuran karena sampel beraktivitas tidak hanya dipermukaan agar saja tetapi juga sampai ke bawah sehingga dapat terlihat lebih jelas dan mudah dalam mengukur zona beningnya. Data hasil uji antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi K etil asetat

Larutan Uji	Konsentrasi (mg/L)	Diameter zona bening (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Senyawa	1000	15	12,1
	500	13,4	10,4
	250	9,6	9,9
	125	7,6	8,1
	62,5	5,2	5,2
Kontrol (+) <i>amoxicillin</i>	31,25	4,8	4,3
	31,25	19,8	18,9

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa zona bening semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Zona bening

bakteri *E.coli* lebih kecil daripada zona bening bakteri *S.aureus*. Hal ini dikarenakan pengaruh struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif (*S.aureus*) memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif (*E.coli*) sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri gram positif [11].

3.3 Hasil Isolasi dan Pemurnian Senyawa Hasil Isolasi

Fraksi K etil asetat seberat 1,7336 gram dilakukan proses isolasi dikarenakan memiliki massa dan kandungan metabolit sekunder yang cukup banyak. Isolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi K etil asetat dilakukan menggunakan metoda kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan fasa geraknya heksana dan etil asetat dengan sistem elusi bergradien. Sistem elusi bergradien ini digunakan dengan tujuan agar didapatkan pemisahan yang sesuai dengan tingkat kepolaran.

Hasil pemisahan ditampung didalam botol vial sehingga diperoleh 235 vial eluat. Masing-masing eluat dengan interval lima vial dilakukan uji KLT lalu dilihat dibawah sinar lampu UV. Eluat yang menunjukkan pola pemisahan yang sama digabung menjadi satu fraksi dan diperoleh 4 fraksi gabungan. Fraksi gabungan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil kromatografi kolom dan fraksi gabungan

Fraksi	No. Vial	Massa (g)
1	1-7	0
2	8-49	0,0121
3	50-160	0,2866
4	161-235	0,0315

Berdasarkan data Tabel 3 diatas, dilakukan proses pemisahan kembali terhadap fraksi 3, hal ini dikarenakan fraksi 3 menunjukkan pola pemisahan noda yang lebih baik serta memiliki massa yang paling banyak diantara fraksi lainnya. Proses pemisahan dilakukan dengan metoda elusi isokratik. Dari hasil rekromatografi didapatkan 154 vial eluat. Masing-masing eluat dengan interval lima vial dilakukan uji KLT lalu dilihat dibawah sinar lampu UV. Eluat yang memiliki pola pemisahan yang sama kemudian digabung dan didapatkan 4 sub fraksi. Hasil penggabungan fraksi 3 dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil penggabungan fraksi 3

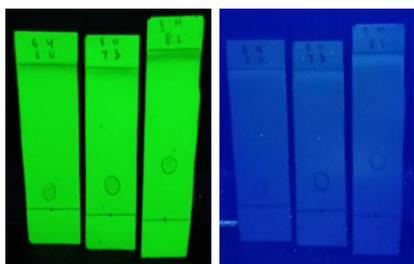
Sub Fraksi	No. Vial	Massa (g)
3.1	1-45	0,0264
3.2	46-58	0,0066
3.3	59-120	0,0143
3.4	121-154	0,008

Berdasarkan data Tabel 4, dilakukan uji KLT untuk melihat pola pemisahan pada 4 sub fraksi tersebut. Sub fraksi 3.1 dilakukan proses pemurnian, hal ini dikarenakan sub fraksi 3.1 memiliki pola pemisahan yang lebih baik daripada fraksi lainnya, serta pada sub fraksi 3.1 terdapat padatan berwarna putih didalam vial. Proses pemurnian dilakukan dengan metoda triturasi menggunakan heksana dengan tujuan untuk menghilangkan pengotor yang ada, sehingga didapatkan padatan putih seberat 8,3 mg.

3.4 Hasil Uji Kemurnian Senuawa Hasil Isolasi

a. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan cara uji KLT menggunakan tiga plat KLT yang berbeda yang masing-masingnya dielusi menggunakan tiga komposisi kepolaran eluen yang berbeda, yaitu heksana : etil asetat (2:8, 3:7, 4:6). Hasil uji KLT dilihat dibawah cahaya lampu UV λ_{254} nm dan λ_{365} nm. Hasil dari uji KLT dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil monitor sub fraksi 3.1 yang telah murni

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa hanya ada satu spot noda tunggal pada plat KLT setelah dilakukan elusi dengan komposisi eluen yang berbeda. Plat KLT diberi pereaksi *Liebermann Burchard* sehingga memunculkan spot noda tunggal berwarna ungu setelah dilakukan proses pemanasan pada plat KLT. Hal ini menandakan bahwa senyawa hasil isolasi telah murni dan menunjukkan positif triterpenoid. Hasil uji KLT dengan pereaksi *Liebermann Burchard* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil monitor senyawa hasil isolasi dengan pereaksi *Liebermann Burchard*

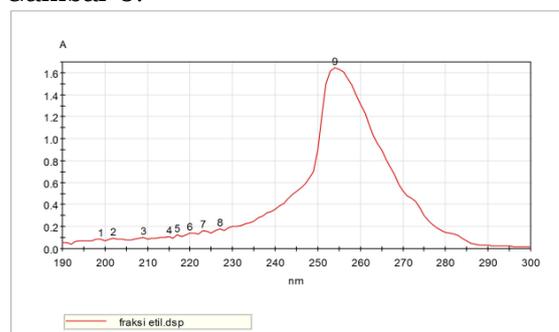
b. Pengujian Titik Leleh

Pengujian titik leleh dilakukan menggunakan alat *melting point* yang bertujuan untuk membuktikan apakah senyawa triterpenoid sudah murni atau belum. Hasil uji titik leleh senyawa triterpenoid hasil isolasi adalah 247-249°C yang memiliki range titik leleh yang tajam 2°C. Hal ini menjelaskan bahwa senyawa triterpenoid hasil isolasi merupakan senyawa yang sudah murni karena memberikan rentang leleh berkisaran antara 0-2°C. Jika senyawa tidak memberikan range titik leleh yang tajam antara 0-2°C maka senyawa tersebut tidak murni, hal ini dikarenakan adanya gangguan dari pengotor sehingga menyebabkan perubahan dari struktur kristal yang akan memperlemah ikatan-ikatan di dalam senyawa tersebut [12],[13].

3.5 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

a. Spektrofotometer Ultraviolet (UV)

Spektrum ultraviolet (UV) digunakan untuk menentukan transisi dalam bentuk eksitasi elektron sehingga dapat mengidentifikasi jenis kromofor, ausokrom, ikatan rangkap berkonjugasi [14]. Hasil karakterisasi senyawa hasil isolasi ditampilkan pada Gambar 3.



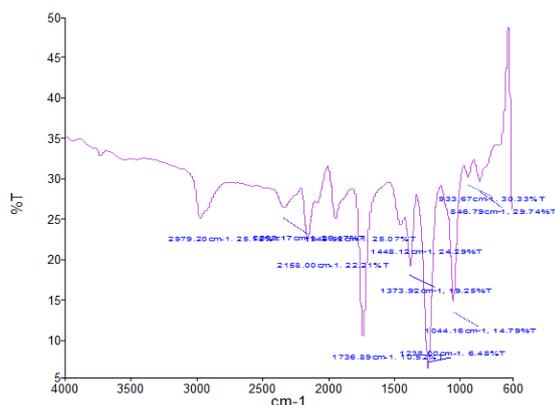
Gambar 3. Spektrum UV senyawa hasil isolasi

Berdasarkan spektrum UV diatas, diperoleh serapan maksimum (λ_{maks}) pada 254 nm yang diduga berasal dari transisi elektron $n \rightarrow \sigma^*$ yang disebabkan adanya gugus kromofor C=O. Hasil spektrum ini

menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi tidak memiliki ikatan rangkap berkonjugasi.

b. Spektrofotometer Fourier Transform InfraRed (FTIR)

Spektrofotometer FTIR didasarkan pada vibrasi dari gugus fungsional dari suatu senyawa, sehingga dapat mengidentifikasi gugus fungsi yang ada dalam senyawa [14]. Hasil karakterisasi senyawa hasil isolasi ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektrum FTIR senyawa hasil isolasi

Berdasarkan data spektrum FTIR pada Gambar 4 menunjukkan adanya serapan untuk beberapa gugus fungsi. Dari spektrum FTIR diperoleh serapan pada bilangan gelombang $2979,20\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H alifatik alkana yang tajam, hal ini didukung dengan munculnya serapan yang tajam pada bilangan gelombang $1448,12\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi tekuk C-H alifatik CH_3 . Serapan pada bilangan gelombang 1238 cm^{-1} menandakan adanya vibrasi C-O. Bilangan gelombang $1736,89\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O) dengan bentuk pita yang tajam, hal ini sesuai dengan literatur dimana akan muncul bilangan gelombang pada rentang 1540 cm^{-1} - 1870 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus karbonil [15]. Munculnya serapan pada bilangan $1373,92\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus geminal dimetil yang merupakan ciri-ciri gugus fungsi untuk senyawa-senyawa triterpenoid [16].

3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Triterpenoid Hasil Isolasi

Uji aktivitas antibakteri terhadap senyawa triterpenoid menggunakan metoda difusi sumuran. Data uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 5.

Larutan Uji	Konsentrasi (mg/L)	Diameter zona bening (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Senyawa	1000	-	-
	500	-	-
	250	-	-
	125	-	-
	62,5	-	-
Kontrol (+) <i>amoxicillin</i>	31,25	-	-
	31,25	25,6	24,4
Kontrol (-) Etil asetat	-	-	-

Berdasarkan Tabel 5 didapatkan data zona bening kontrol positif pada bakteri *S.aureus* sebesar 25,6 mm dan bakteri *E.coli* sebesar 24,4 mm. Jika semakin luas diameter zona bening maka semakin besar potensi antibakteri suatu senyawa tersebut, tetapi pada media tidak terbentuknya zona bening. Tidak terbentuknya zona bening pada senyawa triterpenoid dikarenakan senyawa tersebut tidak dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel serta tidak terbentuknya ikatan polimer untuk merusak porin sebagai jalur keluar masuknya senyawa untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut [17]. Hal ini berbeda dengan uji aktivitas antibakteri terhadap fraksi K etil asetat, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada fraksi K tidak terdapat dalam senyawa triterpenoid hasil isolasi.

4. Kesimpulan

Senyawa hasil isolasi dari fraksi etil asetat daun pegagan (*Centella asiatica* (Linn) Urban) diperoleh berupa padatan putih seberat 8,3 mg, memiliki rentang titik leleh $247\text{-}249^\circ\text{C}$. Senyawa hasil isolasi tersebut menunjukkan uji positif triterpenoid. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan data spektrum UV menunjukkan tidak adanya ikatan rangkap berkonjugasi. Pada data spektrum IR diketahui bahwa senyawa hasil isolasi memiliki gugus fungsi C-H alifatik alkana, gugus fungsi C-O, gugus fungsi karbonil (C=O) dan gugus fungsi geminal dimetil. Senyawa triterpenoid hasil isolasi tidak menunjukkan adanya aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.

Referensi

- [1] Januwati, M.; Muhammad, H.: Cara budidaya pegagan (*Centella asiatica* L.). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 1992, 2(1), 42-44.
- [2] Dalimartha, S.: *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Trubus Agriwidya; Jakarta, 2008.
- [3] Agoes, A.: *Tanaman Obat Indonesia edisi ke-1*. Salemba Media. Jakarta, 2012.
- [4] Musyarofah, N.: Respons Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) Terhadap Pemberian Pupuk Alami di Bawah Naungan. *Skripsi*. Departemen Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian IPB, Bogor, 2006.
- [5] Vika, U. R.: Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Tumbuhan Pegagan (*Centella asiatica* (Linn) Urban) dan Uji Aktivitas Antibakteri. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, 2019.
- [6] Bhore, S.J.; Sathisha, G.: Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin-like Compounds; Crude Cell-Free Broth of Endophytic Colonizing Bacteria is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. *World J. Agric. Sci*, 2010, 6(4), 345-352.
- [7] Yusran, I.A.; Saleh, A.H.: Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Pegagan (*centella asiatica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Myeobacterium Tuberculosis*. *Jurnal kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makasar, Makasar*, 2016, 4, 1.
- [8] Agfadila, T.; Sandhi, P.A.; Puspawati, N.N.: Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. *Jurnal ITEPA* 2017, 6(2), 21-29.
- [9] Herlinda, D.: Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder dari Ekstrak Butanol Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *Fullerene Journ Of Chem* 2017, 2(2), 92-95.
- [10] Edberg, S.C.; Berger.: *Tes Kerentanan Antimikroba In Vitro*. Buku Kedokteran; Jakarta, 1986, 199-211.
- [11] Mardiah, M.: Uji Resistensi *Staphylococcus Aureus* Terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin dan Propolis. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* 2017, 8 (16), 1-6.
- [12] Hart, H; Craine, L.E.; Vinod, T.K.: *Organic Chemistry : A Short Course*, Houghton-Mifflin Boston, 2012.
- [13] Suzery, M.; Gultom, M.; Cahyo, B.: Senyawa Hiptolida dan Pektinolida dalam Fraksi Diklorometana dari Daun *Hyptis pectinata* Poit. *Jurnal Sains dan Matematika* 2013, 21, 32.
- [14] Silverstein, R.M.; Bessler, G.C.; Moril.: *Spektrometric Identification of Organic Compound (Penyidikan Spektroskopi Senyawa Organik)*, terjemahan A.J Hartono dan Any Victor Purba, Penerbit Erlangga; Jakarta, 1989.
- [15] Silverstein.: *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik Edisi ke-4*. Erlangga; Jakarta, 1984.
- [16] Manjang, Y.: *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid dan Steroid*. Ditjen Dikti Depdiknas Padang, 2000.
- [17] Rachmawaty.; Farida, J. et al. : Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2009.

ISOLASI LIGNIN DARI LINDI HITAM (*Black liquor*) SEBAGAI INHIBITOR KOROSI PADA BAJA

Ricka Pratiwy*, Yulizar yusuf, Zilfa

Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang 25163 Indonesia
*Email: ricka.pratiwy@gamil.com

Abstrak: Lindi hitam merupakan limbah cair hasil pemasakan kayu untuk proses pembuatan pulp. Komponen terbesar dalam lindi hitam berupa lignin yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan perekat, surfaktan dan produk polimer. Dalam penelitian ini telah dilakukan penggunaan lignin sebagai inhibitor korosi pada baja. Lignin tersebut akan teradsorpsi pada permukaan baja membentuk lapisan pelindung untuk mencegah terjadinya reaksi korosi pada baja. Lignin diisolasi dari lindi hitam menggunakan metode pengendapan dengan H_2SO_4 . Berdasarkan hasil isolasi yang dilakukan diperoleh rendemen lignin rata-rata sebesar 7,86%. Parameter yang diteliti adalah berdasarkan metode Gravimetri, analisis *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Hasil isolasi diuji menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi dari lignin. Spektrum IR yang dihasilkan menunjukkan gugus fungsi dan serapan gelombang mirip dengan spektrum standar lignin sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi yang dilakukan merupakan lignin. Hasil pita serapan IR menunjukkan adanya gugus OH pada angka gelombang $3371,50\text{ cm}^{-1}$, dan cincin aromatik pada angka gelombang $1600,68\text{ cm}^{-1}$, gugus OH dan cincin aromatik tersebut merupakan gugus aktif inhibitor organik yang dapat teradsorpsi pada permukaan untuk menghambat reaksi korosi. Sedangkan penentuan laju korosi dengan penambahan inhibitor lignin ditentukan menggunakan gravimetri dengan memvariasikan konsentrasi lignin dan waktu perendaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju korosi menurun seiring meningkatnya konsentrasi inhibitor sebesar 92,95% dan efisiensi inhibisi meningkat seiring meningkatnya konsentrasi inhibitor. Laju korosi baja minimum terjadi pada konsentrasi inhibitor 3,0 g/L dengan waktu perendaman 10 jam sebesar $0,0026\text{ mg/cm}^2\text{jam}$. Efisiensi inhibisi didapatkan sebesar 84,57% pada konsentrasi 3,0 g/L dengan waktu perendaman 10 jam.

Kata kunci: Lindi Hitam, Inhibitor Korosi, Gravimetri, FTIR

1. Pendahuluan

Kebutuhan pulp didalam negeri dari tahun ke tahun semakin meningkat seiring dengan peningkatan kebutuhan kertas. Peningkatan produksi pulp tersebut akan meningkatkan pula produksi limbah cair. Penanganan limbah dari industri yang menggunakan kayu sebagai bahan baku, belum memberikan suatu nilai ekonomi bagi industri yang bersangkutan, melainkan justru menyedot dana untuk penanganannya sehingga dapat mengurangi nilai ekonomi yang diperoleh. Upaya pengolahan limbah cair berupa lindi hitam didalam industri pulp dan kertas berorientasi pada upaya pemanfaatan kembali NaOH terkandung didalamnya [1]. Lindi hitam merupakan limbah cair hasil sisa pemasakan pada proses pembuatan pulp. Lignin yang terdapat dalam lindi hitam tersebut dapat dimanfaatkan secara komersial sebagai bahan pengikat, perekat, surfaktan, produk polimer, dispersan dan bahan pembuatan serat sintetik seperti nilon. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan proses pemisahan lignin dari

lindi hitam agar dapat dimanfaatkan daripada dibuang begitu saja [2].

Pemanfaatan lindi hitam dalam pembuatan lignin sebagai inhibitor korosi belum pernah dilakukan sebelumnya, padahal senyawa organik berupa lignin yang terkandung dalam lindi hitam memiliki gugus OH dan cincin aromatik yang berpotensi sebagai pusat adsorpsi membentuk lapisan inhibitor korosi [3]. Penggunaan inhibitor sebagai salah satu cara yang efektif untuk mengendalikan laju korosi. Inhibitor adalah suatu zat yang apabila ditambahkan kedalam suatu lingkungan, dapat menurunkan laju korosi. Inhibitor terdiri dari senyawa organik dan anorganik [4]. Senyawa anorganik biasanya mengandung silikat, molibdat, fosfat, kromat dan dikromat yang merupakan jenis bahan kimia yang berbahaya, mahal dan tidak ramah lingkungan [5]. Penggunaan inhibitor ini dapat menyebabkan polusi pada lingkungan. Oleh sebab itu, alternatif inhibitor korosi yang baik adalah inhibitor organik alami. Penggunaan inhibitor organik ini dipilih

karena bersifat aman, mudah didapat, biaya murah dan ramah lingkungan [6].

Melalui penelitian ini isolasi lignin dari lindi hitam diharapkan dapat menjadi inhibitor korosi yang ramah lingkungan, disamping itu dapat meningkatkan nilai ekonomi lindi hitam yang biasanya hanya terbuang sebagai limbah, sehingga limbah tersebut dapat meminimalisir permasalahan korosi yang terjadi pada beberapa industri.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu neraca analitik, beaker glass, labu ukur, corong, jangka sorong, amplas besi, oven, pH meter, hot plate, lumpang, alu, sentrifus, tabung sentrifus, kertas saring, *Fourier Transform InfraRed* (FTIR).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu lempengan baja, lindi hitam, asam klorida (HCl merck 37%), akuades, aseton (CH_3COCH_3), asam sulfat (H_2SO_4 merck 98%), natrium hidroksida (NaOH).

2.3 Tahapan Penelitian

2.3.1 Persiapan Spesimen Baja

Baja dipersiapkan dengan ukuran $2,5 \times 1,5$ cm dengan ketebalan 1 mm. Permukaan baja dibersihkan dan dihaluskan permukannya dengan menggunakan amplas besi dan dicuci dengan akuades. Permukaan baja dibilas dengan aseton untuk menghilangkan lemak yang menempel pada spesimen baja. Selanjutnya baja dikeringkan dengan oven pada suhu 105°C . Setelah kering, baja didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Hasil penimbangan dinyatakan sebagai berat awal (M_1).

2.3.2 Isolasi Lindi Hitam

Lindi hitam terlebih dahulu disaring menggunakan kertas saring selama 6 jam, kemudian sebanyak 200 mL lindi hitam dimasukkan kedalam beaker glass 250 mL dan ditetesi dengan asam sulfat 2 N perlahan-lahan (1 mL per menit) sampai larutan menunjukkan pH 2 sambil diaduk. Larutan disentrifus dengan kecepatan 2.500 rpm selama 25 menit didapatkan filtrat dan endapan. Endapan lignin yang terbentuk dilarutkan dengan NaOH 0,5 N. Selanjutnya larutan lignin diendapkan lagi dengan penambahan asam sulfat seperti sebelumnya. Endapan lignin yang diperoleh dicuci dengan air panas dan air dingin sampai air pencuci tidak asam lagi. Lignin kemudian dioven pada suhu 110°C selama

2 jam sampai berat konstan dan selanjutnya dihaluskan.

2.3.3 Pembuatan Larutan HCl

Larutan dibuat dengan cara memipet 103,7 mL HCl 37 % dan dimasukkan kedalam labu ukur 250 mL dan diencerkan sampai tanda batas dengan akuades. HCl 1 M dibuat dengan cara memipet 10 mL HCl 5 M dan diencerkan dengan akuades sampai volume 50 mL.

2.3.4 Pembuatan Larutan Medium Korosif Dengan Penambahan Lignin

Larutan medium korosif dengan adanya penambahan lignin dilakukan dengan cara menimbang 1 g kemudian dilarutkan dengan 100 mL akuades sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk lignin 10 g/L. Larutan induk isolasi lignin selanjutnya divariasikan yaitu 0 g/L; 1 g/L; 1,5 g/L; 2 g/L; 2,5 g/L; 3 g/L.

2.3.5 Penentuan Laju Korosi Berdasarkan Metode Kehilangan Berat Dengan Adanya Perbedaan Konsentrasi dan Waktu Perendaman

Penentuan laju korosi berdasarkan metode kehilangan berat metode kehilangan berat dengan adanya perbedaan konsentrasi dan waktu perendaman dilakukan dengan cara baja direndam dalam 50 mL larutan medium korosif HCl 1 M dengan berbagai konsentrasi lignin yaitu 0 g/L; 1 g/L; 1,5 g/L; 2 g/L; 2,5 g/L; 3 g/L dan waktu perendaman 2, 4, 6, 8, 10 jam. Kemudian baja dibersihkan, dicuci dengan akuades dan dikeringkan dalam oven suhu 105°C . Setelah kering baja didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Hasil penimbangan dinyatakan sebagai berat akhir (M_2).

2.3.6 Pengukuran *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Pengukuran menggunakan FTIR terhadap lignin yang telah diisolasi dari lindi hitam dilakukan dengan isolasi lignin sebanyak 1 g lignin dan ditambahkan dengan KBr (sebanyak 150 mg), kemudian diletakkan diatas pellet yang selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer (Thermo Scientific, Nicolet iS10) dengan bilangan gelombang 400cm^{-1} - 4000cm^{-1} .

3. Hasil dan Diskusi

Lindi hitam yang digunakan adalah lindi hitam hasil proses pembuatan pulp yang berasal dari PT. RAPP. Lindi hitam berasal dari kayu *Acasia mangium* dan *Eucalyptus pellita*. Kandungan lignin pada kayu eucalyptus sekitar 27,36% [7]. Dari penelitian yang dilakukan di PT. RAPP terhadap limbah cair (lindi hitam)

dihasilkan rata-rata sebesar 7,86% lignin. Hasil ini merupakan lignin yang terisolasi dari limbah cair (lindi hitam) proses pembuatan pulp.

Tabel 1. Rendemen Lignin dari Lindi Hitam

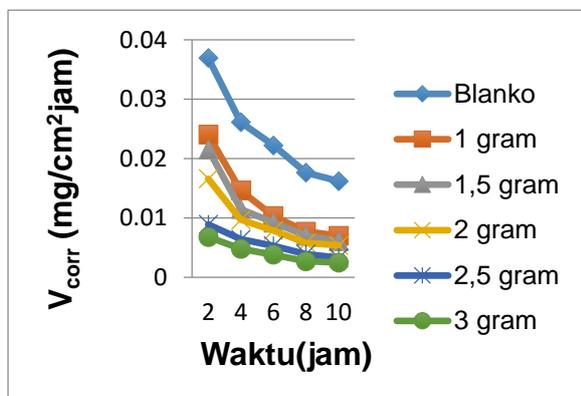
No	Volume Sampel	Rendemen Lignin (%)
1	200 mL	7,5
2	200 mL	7,9
3	200 mL	8,2
Rata-Rata		7,86

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen lignin yang dihasilkan dari lindi hitam dengan tiga kali perlakuan menghasilkan rata-rata lignin sebesar 7,86%. Persen rendemen lignin yang dihasilkan dari penelitian tergolong rendah. Rendahnya rendemen lignin disebabkan oleh perbedaan jenis bahan baku yang digunakan, dimana kayu yang digunakan adalah kayu *Acasia mangium* dan *Eucalyptus pellita* yang standarnya sekitar 18-25%. Kandungan lignin yang rendah pada lindi hitam disebabkan oleh proses pembuatan pulp (delignifikasi) yang berlangsung tidak sempurna. Hal ini sesuai dengan pendapat Nurhayati (1993) rendemen lignin yang disebabkan oleh penggunaan bahan baku dan proses pembuatan pulp yang berlangsung tidak sempurna [8].

3.2 Metode Gravimetri

3.2.1 Hubungan Waktu Perendaman Dalam Larutan HCl 1 M Dengan Aada dan Tanpa Adanya Inhibitor Lignin Terhadap Laju Korosi Baja

Laju korosi merupakan kecepatan penurunan kualitas bahan terhadap waktu. Hubungan waktu perendaman terhadap laju korosi dapat dilihat pada Gambar 1.

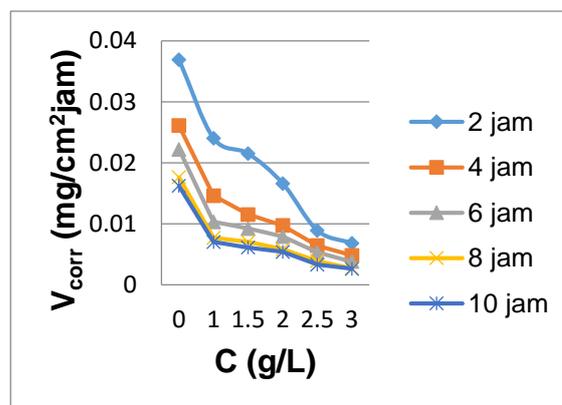


Pada Gambar 1 menunjukkan semakin lama waktu perendaman (2-10 jam) maka laju korosi semakin menurun dari 0,0369 mg/cm².jam tanpa penambahan lignin

sampai 0,0026 mg/cm².jam pada penambahan lignin dengan konsentrasi 3 g. Hal ini disebabkan pembentukan korosi Fe(OH)₃ dapat menutupi permukaan baja membentuk lapisan pasif pada sisi katodik sehingga mempengaruhi reaksi reduksi dikatoda. Jika reaksi dikatoda terhambat, maka reaksi oksidasi baja di anoda juga terhambat. Laju korosi pada perendaman baja tanpa inhibitor menurun jauh lebih besar dibandingkan pada baja yang ditambahkan inhibitor. Hal tersebut diakibatkan medium korosi asam telah tereduksi sehingga laju korosi baja menurun. Semakin besar konsentrasi inhibitor yang ditambahkan dalam medium korosif (1-3 gram), maka laju korosi semakin berkurang. Hal ini disebabkan lignin teradsorpsi pada permukaan baja membentuk lapisan pelindung yang dapat menghalanginya terjadinya reaksi korosi pada larutan asam [9]. Penurunan laju korosi baja terhadap penambahan inhibitor sebesar 92,95%.

3.2.2 Laju Korosi Dengan Penambahan Lignin Dalam Medium HCl 1 M Dengan Variasi Waktu Perendaman

Laju korosi baja dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti perubahan massa baja sebelum dan sesudah perendaman, lus permukaan baja dan waktu perendaman baja. Perendaman sampel baja dilakukan dalam medium korosif tanpa dan dengan penambahan lignin dengan berbagai konsentrasi 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 gram. Variasi konsentrasi lignin dapat mempengaruhi nilai laju korosi baja. Hubungan konsentrasi penambahan lignin terhadap laju korosi baja dapat dilihat pada Gambar 2.

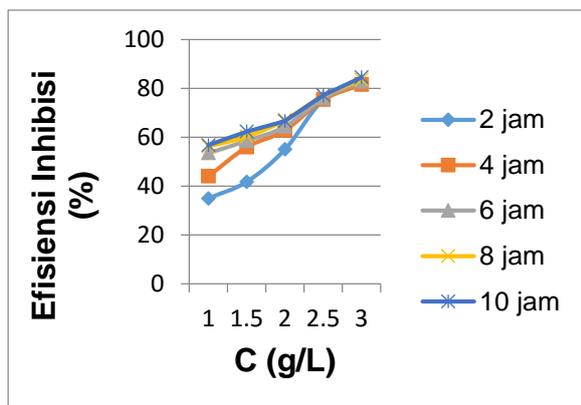


Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa laju korosi menurun seiring meningkatnya konsentrasi lignin. Penurun laju korosi dengan penambahan lignin disebabkan oleh lignin teradsorpsi pada permukaan baja membentuk lapisan pelindungi untuk menghambat terjadinya reaksi korosi.

Selain itu, adanya pasangan elektron bebas pada atom O, N, dan ikatan phi yang dapat membatasi difusi O₂ ke permukaan baja. Dengan demikian lignin dapat digunakan sebagai inhibitor korosi dalam larutan asam. Nilai laju korosi tertinggi yaitu 0,0162 mg/cm²jam pada perendaman baja dalam HCl 1 M selama 10 jam tanpa adanya penambahan lignin. Nilai laju korosi terendah yaitu 0,0026 mg/cm²jam saat perendaman baja dalam larutan HCl 1 M selama 10 jam dengan penambahan lignin 3 g/L. Penurunan laju korosi baja terhadap penambahan inhibitor sebesar 92,95%.

3.2.3 Efisiensi Inhibisi Korosi Dengan Penambahan Lignin Dalam Medium HCl 1 M Dengan Variasi Waktu Perendaman

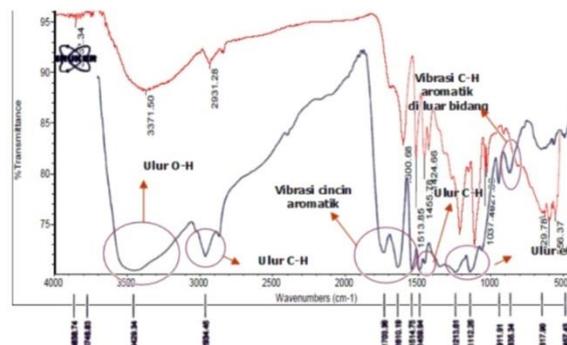
Efisiensi inhibisi merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan lignin sebagai inhibitor korosi. Dari nilai laju korosi yang telah diperoleh dapat digunakan untuk menentukan nilai efisiensi inhibisi. Nilai efisiensi inhibisi dipengaruhi oleh konsentrasi inhibitor dan waktu perendaman. Pengaruh penambahan lignin terhadap nilai efisiensi inhibisi korosi baja dapat dilihat pada Gambar 3.



Pada gambar 3 menunjukkan nilai efisiensi inhibisi meningkat dengan bertambahnya konsentrasi lignin. Hal ini disebabkan semakin banyak lignin berinteraksi pada permukaan baja melalui mekanisme adsorpsi membentuk lapisan pelindung yang dapat menghambat terjadinya korosi, sehingga semakin banyak lignin yang ditambahkan maka kemampuan lignin membentuk lapisan inhibitor semakin tinggi sehingga kemampuannya dalam menghambat laju korosi juga semakin tinggi, dengan demikian semakin besar nilai efisiensi inhibisi yang dihasilkan. Proses inhibisi terjadi akibat lignin teradsorpsi pada permukaan baja membentuk lapisan pelindung pada permukaan logam sehingga semakin banyak lignin yang teradsorpsi, maka semakin besar efisiensi inhibisi. Nilai

efisiensi inhibi korosi yaitu pada konsentrasi 3 g/L sebesar 84,57% dengan waktu perendaman 10 jam.

3.3 Analisis Fourier Transform Infra Red (FTIR)



Analisis FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi dari senyawa yang terkandung dalam lignin. Senyawa yang memiliki gugus fungsi seperti hidroksil (OH), karbonil (=CO), karboksil (-COOH), -CO-, C-H, =CH₂, -C=C dan lainnya yang memiliki pasangan elektron bebas yang dapat membentuk kompleks dengan permukaan baja sehingga menghambat laju korosi.

Spektrum inframerah dari lignin yang ditunjukkan pada garis berwarna hitam munculnya beberapa gugus penyusun seperti serapan pada bilangan gelombang 3400-3450 cm⁻¹ untuk regang OH, 2820-2940 cm⁻¹ untuk regang C-H asimetri, 1600-1515 cm⁻¹ untuk cincin aromatik, 1460-1470 cm⁻¹ untuk regang C-H asimetri, 1330-1315 cm⁻¹ untuk regang cincin stringil, 1270-1280 cm⁻¹ untuk cincin guasil, 1030-1085 cm⁻¹ untuk regang eter dan 850-875 cm⁻¹ untuk C-H aromatik.

Spektrum inframerah dari lignin yang ditunjukkan pada garis berwarna merah munculnya beberapa gugus fungsi yang terkandung dalam lignin. Pada gugus fungsi tersebut terdapat pasangan elektron bebas yang dapat berikatan dengan ion logam sehingga terbentuk senyawa kompleks teraktivasi pada permukaan baja. Gugus fungsi tersebut ialah gugus fungsi O-H pada angka gelombang 3371,50 cm⁻¹, gugus fungsi C-H alifatik pada angka gelombang 2931,28 cm⁻¹, gugus C=C aromatik angka gelombang 1600,68 cm⁻¹, dan gugus C-O angka gelombang 1111,41 cm⁻¹

Berdasarkan gambar grafik FTIR pada rentang bilangan gelombang 400-4000 cm⁻¹ dengan membandingkan gugus senyawa lignin standar dan pada penelitian

diatas dapat dilihat bahwa telah sesuai dan relevan dengan gugus umum yang terdapat dalam lignin. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut memang benar-benar lignin.

4. Kesimpulan

Kandungan lignin dari isolasi lindi hitam diperoleh rata-rata sebesar 7,86%. Dari spektrum IR menunjukkan adanya gugus OH pada angka gelombang 3371, 50 cm⁻¹ dan cincin aromatik pada angka gelombang 160,68 cm⁻¹, spektrum yang dihasilkan menyatakan lignin yang diperoleh dari lindi hitam mirip dengan spektrum lignin murni. Lignin yang dihasilkan dapat digunakan sebagai inhibitor korosi baja dimana diperoleh nilai efisiensi inhibisi didapatkan sebesar 84,57 % yaitu pada konsentrasi 3,0 g/L dengan waktu perendaman 10 jam. Nilai efisiensi inhibisi semakin meningkat dengan penambahan konsentrasi lignin. Laju korosi semakin menurun dengan penambahan inhibitor sebesar 92,95%.

Referensi

- [1] Nurhayati, T.; Pasaribu, R.A.: Isolasi dan Sifat Lignin dari Larutan Sisa Pemasak Pabrik Pulp. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 1993,3,110-116
- [2] Lubis, A.: Isolasi lignin dari Lindi Hitam Proses Pemasakan Pulp Soda dan Pulp Sulfat. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, 2007.
- [3] Kim, H.; Hill, M.K.; Fricke, A.L.: Preparation of Kraft Lignin From Black liquor. *Tappi Journal* 1987, 12, 115-122.
- [4] Ebadi, M.; Wen Jeffrey Basirun.; Hamidi Khaledi.; Hapipah Mohd Ali.: Corrosion Inhibition Properties Of Pyrazolyindolenine Coumpound on Copper Surface in Acidic Media. *Arabian Journal Of Chemistry* 2012, 6, 163-165.
- [5] Al-Senani, G.M.: Corrosion Inhibition Of Carbon Steel in Acidic Chloride Medium By *Cucumis sativus* (Cucumber) Peel Extract. *International Journal Of Electrochemical Science* 2016, 11, 291-302.
- [6] Hu, K.; Zhuang, J.; Zheng, C.; Ma, Z.; Yana, Li.; Gu, H.; Zeng, X.; Ding.: Effect Of Novel Cytosine-l-alanine Derivative Based Corrosion Inhibitor On Steel Surface In Acidic Solution. *Journal of Molecular Liquids* 2016,22, 109-117.
- [7] Sugesty, S.; Nursyamsu.; Dina A.: Lignin dari Beberapa bahan Baku Pulp. Berita Selulosa. Departemen Perindustrian RI. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Selulosa 1986.
- [8] Nurhayati, T.; Pasaribu, R.A.: Isolasi dan Sifat Lignin dari Larutan Sisa Pemasak Pabrik Pulp. *Jurnal Penelitian Hutan* 1993, 11 (3): 110-116.
- [9] Ali, F.; Saputri, D.; Fajar, R.N.: Pengaruh Waktu Perendaman dan Konsentrasi Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*, Linn) Sebagai Inhibitor Terhadap Laju Korosi Baja SS 304 Dalam Larutan Garam dan Asam. *Jurnal Teknik Kimia* 2014, 1(20), 40-37.

KARAKTERISASI MINYAK ATSIRI TANAMAN JAHE (*Zingiber officinale*) DARI DAERAH KABUPATEN SOLOK DENGAN GAS CHROMATOGRAPY MASS SPECTROMETRY (GC-MS) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Mai Efdi¹, Daimon Syukri², Tessa Wulandari*

¹Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia

²Laboratorium Instrumentasi, Jurusan Teknik Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia

*Email: tessawulandari047@gmail.com

Abstrak: Ginger is a spice plant that has many useful compounds, one of them is essential oil. Essential oils are not only used as food and beverage, but also used in the health sector, such as anti-inflammatory drugs, insect repellent, and decongestants. Each plant has a different compound depends on the growing area. In this study, extraction of essential oil from ginger plants from Kabupaten Solok was carried out using the water distillation method. This study aims to determine the compound that contains in essential oil from ginger using Gas Chromatography-Mass Spectrometry and it's antibacterial activity. Based on the analysis from ginger leaf essential oil, its containing the main compounds, *trans-β-caryophyllene* (29.87%), *3-isopropyl-6.7 dimethyltricyclo [4.4.0.0 (2.8)] decane-9,10-diol* (15, 07%), and *vinyl-β-ionol* (13.24%) which belong to the sesquiterpenes compound group, while the essential oil from ginger rhizome contains the main compound, *champene* (21.91%), *p-menth-2-en-1-ol* (12.90%), *z-citral* (11.40%) and *citral* (15.20%) which belong to the monoterpenes compound group. The antibacterial activity test from ginger essential oil was carried out on two pathogenic bacteria namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using the paper disc diffusion method which showed the results that ginger essential oil had antibacterial activity.

Keywords: *Zingiber officinale*, essential oils, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), antibacterial

1. Pendahuluan

Minyak atsiri merupakan minyak yang terkandung dalam tanaman dan memiliki aroma khas yang didalamnya terdapat senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari banyak kandungan senyawa kimia, karena kandungan senyawa kimia ini minyak atsiri biasa dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan makanan dan minuman. Selain itu minyak atsiri juga dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, yaitu sebagai antinflamasi, antiserangga, dan dekongestan [1], [2].

Salah satu tumbuhan yang banyak mengandung minyak atsiri adalah *Zingiber officinale* atau tanaman jahe. Tanaman jahe merupakan tanaman yang termasuk ke dalam family *Zingiberaceae* yang berasal dari daerah India atau Asia Tenggara yang sudah dikembangkan ke berbagai negara di seluruh dunia. Tanaman jahe sudah tersebar di berbagai wilayah di Indonesia, salah satunya yaitu Kabupaten Solok, Provinsi Sumatera Barat. Kabupaten Solok merupakan daerah beriklim tropis dengan temperatur 12-32°C, kelembaban udara mencapai 80% dan curah

hujan 268,93 mm/tahun, berada pada ketinggian 329-1.458 meter di atas permukaan laut, dengan kemiringan lahan yang berbeda-beda[3], [4].

Kandungan senyawa penyusun minyak atsiri jahe telah dilaporkan oleh Azizah *et al* (2018) yaitu dengan senyawa utama *champene*, *sulcatone*, *curcumene*, *eucalyptol*, *citral*, *zingiberene*, dan *borneol*. Kandungan senyawa ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor keadaan lingkungan tumbuh tanaman seperti komposisi kimia dalam tanah, suhu, kelembaban, dan kandungan air pada tempat tumbuh serta tahap perkembangan tanaman tersebut [5], [6].

Berdasarkan manfaat dan faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa penyusun minyak atsiri pada tanaman jahe, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa penyusun minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman jahe dan aktifitas antibakterinya.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah beberapa peralatan kaca, botol vial, neraca analitik, pipet mikro, spatula, petridish, jarum ose, pinset, spiritus, seperangkat alat distilasi, *laminar air flow*, *autoclave*, inkubator, *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) GC-MS-QP-2010 (Shimadzu, Tokyo, Japan).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya daun dan rimpang jahe (*Zingiber officinale*), akuades (H_2O), bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*, dimetilsulfoksida (DMSO), natrium klorida (NaCl) fisiologis 0,9%, tween 80, kloramfenikol, alkohol 70%, *Nutrient Agar* (NA) dan *Muller Hinton Agar* (MHA).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Ekstraksi Kandungan Senyawa Kimia dari Sampel Jahe

Daun dan rimpang jahe masing masing sebanyak 400 gram dan 3880 gram dipotong kecil-kecil, ditimbang dan dimasukkan masing-masingnya kedalam labu distilasi, kemudian ditambahkan akuades sampai 2/3 isi labu sebagai pelarut. Proses distilasi dilakukan 4 kali untuk daun jahe dan 8 kali untuk rimpang jahe dengan waktu 10-15 jam, distilat berupa minyak atsiri dan air dipisahkan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat. Rendemen minyak atsiri murni dihitung.

2.3.2 Karakterisasi Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber officinale*)

Minyak atsiri dikarakterisasi menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (Shimadzu) QP-2010 Tokyo, Jepang dilengkapi dengan AOC-20i auto-sampler. Kolom yang digunakan adalah kolom kapiler Rxi-5MS (30 m x 0,25 mm dan ketebalan film 0,25 μm), dengan suhu injektor dan detektor 200°C dan 230°C yang kemudian akan dibawa oleh gas helium. Temperatur kolom diatur pada suhu 60°C untuk 1 menit, setelah itu suhu akan meningkat 10°C/menit sampai suhu 210°C lalu dibiarkan konstan selama 1 menit. Kisaran nilai m/z yang terbaca dari MS yaitu 35-500 AMU dengan energi ionisasi sebesar 70 eV dengan waktu pemindaian 3 detik. Senyawa-senyawa diidentifikasi menggunakan metode perbandingan data NIST 14 [7].

2.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri diremajakan terlebih dahulu pada media miring NA, yang dibuat dengan melarutkan 3.8 gram NA dalam 100 mL akuades. Kemudian larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah dibiarkan selama 24 jam bakteri diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam 4 mL larutan NaCl fisiologis untuk didapatkan suspensi bakteri. Konsentrasi larutan uji yang digunakan yaitu 100%, 75% dan 25% dibuat dengan menambahkan pelarut DMSO 100%, akuades steril, dan tween 80 0,1 % ke dalam minyak atsiri (b/v).

Pengujian Aktivitas Antibakteri dilakukan dengan cara menuangkan suspensi bakteri ke atas media padat MHA selanjutnya diletakkan kertas cakram berukuran 6 mm yang telah diteteskan 10 μL minyak atsiri, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negative (DMSO dan tween 80). Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi akan terbentuk zona bening atau zona inhibisi sebagai bukti adanya aktivitas antibakteri dari minyak atsiri jahe. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong [8].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber officinale*)

Minyak atsiri yang diperoleh dari jahe berwarna hijau untuk daun jahe dan kuning untuk rimpang jahe yang sesuai dengan standar mutu minyak atsiri jahe yang mengacu pada ketentuan EOA (*Essential Oil Association*) [9], [10]. Kadar minyak atsiri hasil ekstraksi daun dan rimpang jahe dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Hasil ekstraksi tanaman jahe

Sampel Jahe	Berat sampel (gram)	Volume minyak atsiri (mL)	Rendemen (%)
Daun	400	0,4	0,1
Rimpang	3880	13,8	0,3

Kadar minyak atsiri dalam daun dan rimpang jahe yang didapatkan sesuai dengan laporan yang telah disampaikan sebelumnya, yaitu berkisar antara 0,01-3,1% [11], [12].

Setiap tanaman menghasilkan minyak atsiri dengan kadar yang berbeda beda karena disebabkan oleh faktor lingkungan, diantaranya jenis tanaman, umur tanaman saat dipanen, bagian tanaman yang diekstrak, musim saat dipanen, serta tanah dan iklim daerah asal tanaman. Pada penelitian ini jahe yang digunakan yaitu jahe emprit, jahe emprit memiliki kandungan minyak atsiri terbanyak kedua setelah jahe merah, yaitu 1,5-3,5%.

Pada penelitian ini, untuk faktor faktor di atas tidak dapat dipastikan secara langsung, jadi hanya dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Batubara (2016) dan Setyawan (2002) melaporkan kadar minyak atsiri jahe dari Bengkulu dan Yogyakarta dalam daun jahe yaitu 0,08% dan dalam rimpang jahe 2,5%. Miranda *et al* (2015) juga melaporkan kadar minyak atsiri jahe dari Portugal yaitu 0,3% dan dalam rimpang jahe 1,02%.

3.2 Karakterisasi Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber Officinale*)

Minyak atsiri yang diperoleh dari proses ekstraksi dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) dengan database NIST 14. Hasil analisis daun dan rimpang jahe dapat dilihat pada Tabel 3.2 dan 3.3.

Tabel 3.2 Hasil GC-MS minyak atsiri daun jahe

No	Nama Senyawa	Waktu Retensi (min)	Area (%)
1	2-Undecanone	7.141	4.67
2	Geranic acid	7.540	0.38
3	Copaene	8.371	3.91
4	β -Boubonene	8.515	0.59
5	β -Caryophyllen	8.791	3.20
6	Trans- β -Caryophyllene	8.981	29.87
7	Caryophylladienol II	9.066	0.40
8	Geranylacetone	9.161	1.18
9	α -Humulene	9.383	2.73
10	Nealloocimene	9.480	1.22
11	γ -Cadinene	9.921	8.31
12	(-)-Spathulenol	10.106	1.94
13	Acetic acid, 4a-methyldecahydronaphthalen-1-	10.422	0.33

	ylester		
14	Caryophyllene oxide	10.581	6.25
15	3-Isopropyl-6,7 dimethyltricyclo [4.4.0.0(2,8)] decane-9,10-diol	10.908	15.07
16	Calarene	11.321	0.92
17	Vinyl- β -Ionol	11.757	13.24
18	γ -Burjunenepoxide -2	12.159	0.27
19	Neophytadiene	13.275	0.04
20	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	13.339	0.77
21	Pimaradiene	14.483	0.34

Tabel 3.3 Hasil GC-MS minyak atsiri rimpang jahe

No	Nama Senyawa	Waktu Retensi (min)	Area (%)
1	Champene	3.376	21.91
2	p-menth-2-en-1-ol	4.125	12.90
3	α -Terpinole	4.772	1.92
4	Verbenole	5.541	1.11
5	2-isobutyl norbornane	5.750	4.65
6	Citronellol	6.325	1.84
7	Z-Citral	65.47	11.40
8	Citral	6.907	15.20
9	2-Undecanone	7.166	1.57
10	Cytronellol Acetat	7.883	0.23
11	β -Elemene	8.539	1.05
12	Trans- β -Caryophyllene	8.972	2.22
13	β -Springene	9.204	0.72
14	α -selinene	9.423	0.68
15	α -Curcumene	9.604	8.04
16	Zingiberene	9.746	4.69
17	Farnesene	9.831	0.89
18	β -Bisabolene	9.913	2.52
19	β -Sesquiphellandrene	10.110	3.90
20	Elemol	10.458	0.36
21	Caryophyllene Oxide	10.904	1.36
22	Vinyl- β -Ionol	11.754	0.60
23	Dehidronerolidol	12.093	0.12
24	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	13.343	0.08
25	Pimaradiene	14.485	0.04

Berdasarkan Tabel hasil analisis menunjukkan adanya paling sedikit 21 komponen senyawa penyusun minyak atsiri daun jahe dan paling sedikit 25 komponen senyawa penyusun minyak atsiri rimpang jahe.

Minyak atsiri daun jahe terdiri dari 3 komponen senyawa utama dengan kadar lebih dari 10% yaitu *trans-β-Caryophyllene* (29,87%), *3-isopropyl-6,7 dimethyltricyclo [4.4.0.0(2,8)] decane-9,10-diol* (15,07%), dan *vinyl-β-ionol* (13,24%) yang termasuk ke dalam golongan senyawa sesquiterpen, sedangkan rimpang jahe terdiri dari 4 komponen senyawa utama dengan kadar lebih dari 10% yaitu *champhene* (21.91%), *p-menth-2-en-1-ol* (12.90%), *z-citral* (11.40%) dan *citral* (15.20%) yang termasuk ke dalam golongan senyawa monoterpen.

Perbedaan senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri dapat disebabkan oleh faktor daerah tanam jahe tersebut. Hal ini dikarenakan berbedanya kondisi daerah tanam yang mengakibatkan kandungan senyawa dalam minyak atsiri juga berbeda, tanaman jahe yang digunakan dalam penelitian ini yang berasal dari daerah Kabupaten Solok yang merupakan daerah beriklim tropis dengan temperatur 12-32°C dan kelembaban udara mencapai 80%, dengan keadaan daerah asal seperti ini, tanaman jahe menghasilkan minyak atsiri dengan kandungan senyawa utama minyak atsiri *trans-β-Caryophyllene* dengan kadar 29,87% untuk daun jahe dan *Champhene* dengan kadar 21.91% untuk rimpang jahe memiliki biaktivitas sebagai antibakteri [14], [16].

Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya komponen senyawa utama minyak atsiri jahe dari Kabupaten Solok memiliki kadar yang berbeda dengan daerah lain. Komponen senyawa utama minyak atsiri daun dan rimpang jahe dari Brazil yaitu *β-pinene* dengan kadar masing masing 46,9% dan 41,5% [13]. Minyak atsiri jahe dari Malaysia memiliki komponen senyawa utama daun dan rimpang jahe yaitu *β-Caryophyllen* dan *Camphene* dengan kadar masing masing 31,7% dan 14,5% [14].

3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Tanaman Jahe (*Zingiber officinale*)

Komponen senyawa dalam minyak atsiri rimpang jahe terbukti memiliki aktivitas antibakteri [14]. Oleh karena itu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap 2 bakteri

patogen, yaitu *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif. Pada pengujian ini digunakan kontrol positif antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif dimetilsulfoksida (DMSO) dan tween 80. Kloramfenikol merupakan bahan kimia yang memiliki sifat bakteriostatik dengan zona inhibisi besar dari 21 mm [15]. Diameter zona inhibisi uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Diameter zona inhibisi uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jahe

Konsentrasi Minyak Atsiri (%)	Staphylococcus aureus (mm)	Escherichia coli (mm)
25	7.87	4.07
75	8.21	15.10
100	17.65	17.57
Kontrol (+)	21.49	23.08
kontrol (-)	0	0

Minyak atsiri rimpang jahe dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena mengandung senyawa terpenoid seperti yang dilaporkan oleh Hapsah *et al* (2010) yaitu *zingiberene*, *sesquiphellandrene*, *camphene*, *farnesene* dan *curcumene* [16]. Sivasoty *et al* (2011) juga melaporkan senyawa lain yaitu *caryophyllene oxide*, *a-pinene*, *a-terpineol*, *linalool*, *1,8-cineole* dan *geraniol* dapat menghambat pertumbuhan bakteri [14]. Berdasarkan hasil analisis, dalam tanaman jahe dari daerah Kabupaten Solok terkandung beberapa senyawa yang sama dengan laporan sebelumnya.

Ukuran zona bening disekitar kertas cakram dapat dijadikan sebagai acuan untuk melihat kuat atau tidaknya sampel menghambat pertumbuhan bakteri. Kriteria aktivitas antibakteri menurut Febrianasari (2018) yaitu jika zona bening berukuran >20 mm maka sampel bersifat sangat kuat, 10-20 mm bersifat kuat, dan 5-10 mm bersifat lemah. Sehingga dari hasil penelitian yang telah dilakukan, terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% dan 75% minyak atsiri bersifat lemah sedangkan pada konsentrasi 100% minyak atsiri bersifat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% minyak atsiri bersifat lemah, sedangkan pada konsentrasi 75% dan 100 %

minyak atsiri bersifat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Zona bening minyak atsiri pada sampel bersifat lebih lemah dibandingkan minyak atsiri jahe pada penelitian yang telah dilakukan Ali *et al* (2013). Hal ini dikarenakan adanya perbedaan komponen minyak atsiri dalam tanaman jahe, berdasarkan laporan yang disampaikan oleh Ali *et al* (2013) ada beberapa senyawa yang berbeda dalam kandungan minyak atsiri tanaman jahe yang digunakannya yaitu senyawa *nerol*, *borneol*, β -*eusdesmol* atau β -*selinenol*, dan *zingeron* [17].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan minyak atsiri hasil ekstraksi daun dan rimpang jahe masing masingnya memiliki 21 senyawa dengan 3 senyawa utama yaitu *trans(beta)-caryophyllene* (29,87%), *3-isopropyl-6,7-dimethyltricyclo [4.4.0.0(2,8)]decane-9,10-diol* (15,07%), dan *vinyl- β -ionol* (13,24%), dan 25 senyawa dengan 4 senyawa utama yaitu *champene* (21.91%), *p-menth-2-en-1-ol* (12.90%), *z-citral* (11.40%) dan *citral* (15.20%). Kandungan senyawa kimia minyak atsiri jahe dari Kabupaten Solok memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang lemah untuk konsentrasi 25% dan 75%, dan kuat untuk konsentrasi 100%, sedangkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang lemah untuk konsentrasi 25% dan kuat untuk konsentrasi 75% dan 100%.

Referensi

1. Koensoemardiyah, S. *A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik, dan Aroma Terapi*, Andi Publisher. Yogyakarta. 2010.
2. Rusli, M.S., *Sukses Memproduksi Minyak Atsiri*, AgroMedia Pustaka. Jakarta. 2010.
3. Ezzat, M.S., Ezzat, M.I., Okba, M.M., Menze, E.T., Naim, A.B.A. The Hidden Mechanism Beyond Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Potent InVivo And In Vitro Anti-Inflammatory Activity. *J. of Ethnopharmacology* 2018, 214, 113-123.
4. Hariance, R., Febriamansyah, R., Tanjung, F. Agribisnis Perkebunan Rakyat Kopi Robusta di Kabupaten Solok. *AGRISEP* 2015, 14(1), 11-25.
5. Azizah, N., Filaila, E., Salahuddin, Agustian, E., Sulaswatty, A., Artanti, N. Antibacterial and Antioxidant Activities of Indonesian Ginger (Jahe Emprit) Essential Oil Extracted by Hydrodistillation. *J. Kim. Terap. Indones* 2018, 20(2), 90-96.
6. Mariska, I. 2013. Metabolit sekunder: Jalur pembentukan dan kegunaannya. <http://biogen.litbang.pertanian.go.id/>. Diakses tanggal 21 Desember 2015.
7. Sharma, P.K., Singh, V., Ali, M. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Fresh Rhizome Essential Oil of *Zingiber officinale* Roscoe. *J. Pharmacognosy* 2016, 8(May-June).
8. Sartini. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Bioaktivitas Antibakteri dari Fraksi Diklorometan Daun Laban (*Vitex pubescens* Vahl). *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, 2019.
9. Solecha, P. Uji Aktivitas Antifungi Kombinasi Minyak Atsiri Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan Daun Kemangi (*Ocimum bacillum* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 secara *In Vitro*. *Skripsi* 2018. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Surakarta.
10. Oktora, R.D., Aylianawati, Sudaryanto, Y. Ekstraksi Oleoresin dari Jahe. *Widya Teknik* 2007, 6(2), 131-141.
11. Setyawan, A.D. Keragaman Varietas Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) berdasarkan Kandungan Kimia Minyak Atsiri. *Biosmart* 2002, 4(2), 48-54.
12. Miranda, C.A.F.S., Cardoso, M.D., Carvalho, M.L., Fegueiredo, C.S., Andrade, J.D. Chemical Characterisation and Allelopathic Potential of Essential Oils from Leaves and Rhizomes of White Ginger. *Revista Ciencia Agronomica* 2015, 46(3), 555-562.
13. Miranda, C.A.F.S., Cardoso, M.D., Carvalho, M.L., Fegueiredo, C.S., Andrade, J.D. Chemical Characterisation and Allelopathic Potential of Essential Oils from Leaves and Rhizomes of White Ginger. *Revista Ciencia Agronomica* 2015, 46(3), 555-562.
14. Sivasothy, Y., Chong, W.K., Hamid, A., Eldeen, I.M., Sulaiman, S.F., Awang, K. Essential Oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and Their Antibacterial

- Activities. *J. Of Food Chemistry* 2011, 124, 514-517.
15. Azis, H. Analisis *In vitro* Aktivitas Antibakteri Daun Sisik Naga (*Drymoglossum pilosellaoides*) terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *J. of Aquaculture and Fish Health* 2019, 8(2), 86-91.
 16. Hapsoh, Hasanah, Y., Julianti, E. *Budidaya dan Teknologi Pascapanen Jahe*, USU Press. Medan. 2010.
 17. Ali S, Baharuddin M, Sappewali S. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Al-Kimia* 2013, 1(2),18-31.

PENGARUH PROSES EKSTRAKSI DAN KONDISI PENYIMPANAN TERHADAP KANDUNGAN ANTIOKSIDAN TOTAL DALAM DAUN TANAMAN OBAT

Yefrida ^{1*}, Refinel ², Julira Isnain Nisa ¹

¹Laboratorium Kimia Analisis Terapan, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas, 25163

²Laboratorium Kimia fisika, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas, 25163

*E-mail: yefanwar@gmail.com

Abstrak: Kandungan antioksidan dalam beberapa sampel daun tanaman obat telah ditentukan dengan parameter suhu dan waktu ekstraksi sampel serta waktu dan kondisi penyimpanan ekstrak sampel. Metode yang digunakan adalah Metode Fenantrolin Modifikasi (MFM). Berdasarkan data hasil penelitian, didapatkan kondisi optimum ekstraksi pada suhu 100°C dan waktu 90 menit dengan waktu penyimpanan ekstrak selama 0 menit pada suhu 20 ± 2°C di dalam kulkas. Kandungan antioksidan optimum yang didapatkan pada daun badotan (*Ageratum conyzoides*), daun jambu biji (*Psidium guajava*), daun sirsak (*Annona muricata*), daun singkong (*Manihot esculenta*), dan daun sereh (*Cymbopogon citratus*) adalah 0,9603; 0,6109; 0,5486; 0,3092; dan 0,1451 mmol Fe/g sampel kering, berturut-turut.

Kata Kunci: Aktivitas antioksidan total, daun tanaman obat, metode fenantrolin modifikasi

1. Pendahuluan

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan, bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas menimbulkan kerusakan oksidatif dan mengakibatkan berbagai penyakit. Penyakit yang ditimbulkan oleh radikal bebas dapat dicegah oleh senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi oleh radikal bebas [1]. Antioksidan seperti antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami dapat ditemui pada buah, akar, batang, sayur, dan daun. Adapun antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan *tert-butyl hydroquinone* (TBHQ) [2].

Antioksidan yang terdapat pada daun salah satunya pada daun tanaman obat. Tanaman obat banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk pencegahan berbagai penyakit. Beberapa daun tanaman obat yang digunakan seperti daun badotan (*Ageratum conyzoides*), daun jambu biji (*Psidium guajava*), daun sereh (*Cymbopogon citratus*), daun singkong (*Manihot esculenta*), dan daun sirsak (*Annona muricata*). Daun badotan (*Ageratum conyzoides*) mengandung senyawa flavonoid,

fenolik, terpenoid, dan tanin [4]. Daun jambu biji (*Psidium guajava*) mengandung senyawa tanin, triterpen, flavonoid, fenolik, dan triterpenoid [4]. Daun sereh (*Cymbopogon citratus*) mengandung senyawa flavonoid, terpen, dan aldehid [5]. Daun singkong (*Manihot esculenta*) mengandung senyawa flavonoid, α -karoten, zat besi, dan tanin [6]. Dan daun sirsak (*Annona muricata*) mengandung senyawa tanin, terpenoid, fenolik, dan flavonoid [7].

Beberapa metode dalam penentuan kandungan antioksidan seperti Metode FRAP, DPPH, CUPRAC, ORAC, dan Fenantrolin. Pada penelitian ini menggunakan Metode Fenantrolin Modifikasi. Metode Fenantrolin Modifikasi adalah bagian dari Metode Fenantrolin dengan memodifikasi Metode FRAP dan mengganti pelarut metanol dengan pelarut air untuk mengurangi limbah metanol dan biaya analisis [2].

Melihat banyaknya masyarakat menggunakan daun tanaman obat sebagai obat tradisional dan untuk mengetahui kandungan antioksidan total dalam daun tanaman obat, pada penelitian ini dilakukan penentuan kandungan antioksidan total dengan Metode Fenantrolin Modifikasi berdasarkan variasi suhu ekstraksi, waktu

ekstraksi, waktu penyimpanan ekstrak pada suhu kamar dan dalam kulkas terhadap sampel daun badotan (*Ageratum conyzoides*), daun jambu biji (*Psidium guajava*), daun sereh (*Cymbopogon citratus*), daun singkong (*Manihot esculenta*), dan daun sirsak (*Annona muricata*).

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Spektrofotometer UV/Vis (PD-303S *Spectrophotometer*), neraca analitis Mettler AE 200, beberapa peralatan gelas, *hotplate*, botol gelap, aluminium foil, kertas saring, tisu, tabung reaksi, labu ukur, termometer, corong, pipet tetes, desikator, dan oven.

2.2 Bahan

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1,10-fenantrolin klorida monohidrat, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan air distilasi.

Sampel yang digunakan yaitu daun badotan (*Ageratum conyzoides*), daun jambu biji (*Psidium guajava*), daun sereh (*Cymbopogon citratus*), daun singkong (*Manihot esculenta*), dan daun sirsak (*Annona muricata*). Sampel diambil dalam bentuk segar di sekitaran Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Padang

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Penentuan Kadar Air

Cawan porselen dioven ± 1 jam pada suhu 105°C , didesikator selama 15 menit, dan ditimbang. Untuk sampel basah ditimbang ± 5 g, dimasukkan ke dalam cawan porselen, dan dioven ± 1 jam pada suhu 105°C . Selanjutnya didesikator selama 15 menit, ditimbang dan dioven serta didesikator lagi sampai didapatkan berat konstan. Dihitung kadar air dari masing-masing sampel.

2.3.2 Pengaruh suhu ekstraksi sampel

Air distilasi dimasukkan ke dalam masing-masing gelas piala dan dipanaskan di atas *hotplate* dengan variasi suhu berkisar $30-100^\circ\text{C}$. Sampel daun segar dipotong-potong, dihomogenkan, ditimbang ± 1 g dan dimasukkan ke dalam masing-masing gelas piala. Setelah itu ditambahkan 50 mL

akuades dengan suhu masing-masing berkisar $30-100^\circ\text{C}$ ke dalam masing-masing gelas piala yang berisi sampel daun segar. Kemudian didiamkan ± 15 menit, disaring dengan kertas saring, dan didapatkan ekstrak.

2.3.3 Pengaruh waktu ekstraksi sampel

Untuk variasi waktu ekstraksi sama dengan cara kerja pada variasi suhu ekstraksi, namun pada variasi ini menggunakan suhu ekstraksi optimum dengan variasi waktu ekstraksi berkisar 5 - 120 menit dengan jarak masing-masing waktu 15 menit. Ekstrak yang didapatkan ditentukan kandungan antioksidannya.

2.3.4 Pengaruh waktu penyimpanan ekstrak pada suhu kamar ($27 \pm 2^\circ\text{C}$)

Untuk variasi waktu penyimpanan ekstrak pada suhu kamar sama dengan variasi suhu dan waktu ekstraksi, namun pada variasi ini menggunakan suhu dan waktu ekstraksi optimum. Setelah didapatkan ekstrak, ekstrak dimasukkan ke dalam botol gelap dan disimpan pada suhu $27 \pm 2^\circ\text{C}$ dengan variasi waktu berkisar 0 - 240 menit dengan jarak masing-masing waktu 30 menit. Ekstrak yang didapatkan ditentukan kandungan antioksidannya.

2.3.5 Pengaruh waktu penyimpanan ekstrak pada kulkas ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)

Ekstrak dimasukkan ke dalam botol gelap dan disimpan pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$ dalam kulkas dengan variasi waktu berkisar 0 - 240 menit dengan jarak masing-masing waktu 30 menit. Ekstrak yang didapatkan ditentukan kandungan antioksidannya.

2.3.6 Penentuan kandungan antioksidan total

Air distilasi dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL standar/ekstrak sampel, 1 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1% dan 1 mL ortho-fenantrolin 0,1%. Larutan diinkubasi selama 20 menit. Absorbans diukur pada panjang

gelombang 510 nm dengan spektrofotometer PD-303S.

2.3.7 Pembuatan kurva kalibrasi standar besi(II)

Air distilasi dipipet 2 mL ke dalam masing-masing tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan standar besi(II) dengan masing-masing konsentrasi (0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5) mM, 1 mL FeCl₃.6H₂O 0,1% dan 1 mL larutan ortho-Fenantrolin 0,1%. Larutan diinkubasi selama 20 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer PD-303S dan dibuat kurva kalibrasi standar besi(II).

3. Hasil dan Diskusi

Kadar Air Sampel

Hasil kadar air masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa kadar air paling tinggi yaitu pada daun badotan sebesar 83,74%, sedangkan kadar air paling rendah pada daun jambu biji sebesar 54,46%.

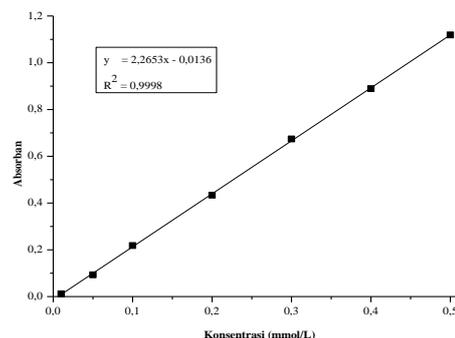
Tabel 1. Kadar air sampel daun tanaman obat

No	Sampel	Kadar Air (% b/b)
1	Daun Jambu Biji	54,46
2	Daun Badotan	83,74
3	Daun Sirsak	72,86
4	Daun Singkong	70,12
5	Daun Sereh	72,83

Kurva Kalibrasi Larutan Standar Besi(II)

Bentuk kurva kalibrasi standar dapat dilihat pada Gambar 1. Persamaan regresi yang didapatkan yaitu $y = 2,2653x - 0,0136$ dengan $R^2 = 0,9998$ dan $r = 0,9999$. Hal ini menunjukkan bahwa kurva kalibrasi standar Fe²⁺ memenuhi Hukum Lambert - Beer yang mana sesuai dengan yang dikemukakan oleh Anderson et al. bahwa intensitas sinar monokromatik akan berkurang seiring bertambahnya konsentrasi zat penyerap secara linear. Anderson et al. juga menambahkan bahwa semakin nilai r mendekati 1, maka semakin linear

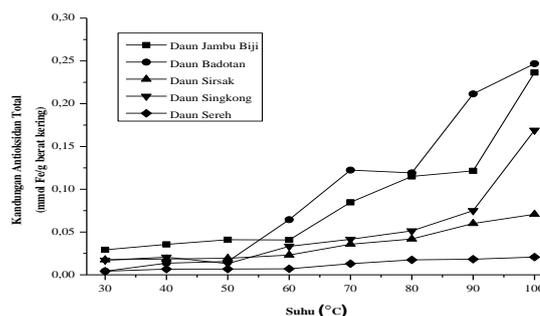
hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi pada kurva kalibrasi standar [8].



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar Fe²⁺

Kandungan Antioksidan Total dengan Variasi Suhu Ekstraksi

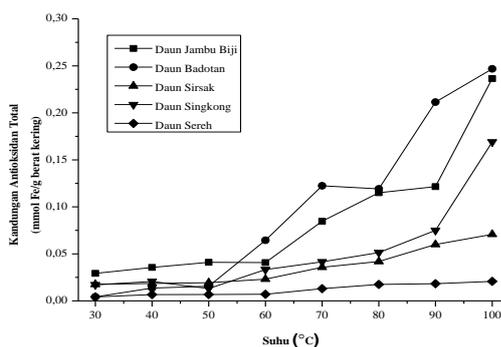
Hasil kandungan antioksidan total dengan variasi suhu dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, memperlihatkan bahwa kandungan antioksidan total paling tinggi didapatkan pada suhu 100°C untuk masing-masing ekstrak sampel segar dengan warna ekstrak yang semakin pekat. Jovanovic *et al.* (2017) mengemukakan bahwa semakin tinggi suhu, energi kinetik menjadi lebih cepat untuk terjadinya pelunakan, pemecahan, pelepasan, dan pemisahan sel daun tanaman sehingga senyawa antioksidan banyak terekstrak [9]. Selain itu, sesuai prinsip "like dissolves like" pelarut akuades bersifat polar dan senyawa antioksidan yang terekstrak pada daun tanaman banyak bersifat polar. Kandungan antioksidan total pada daun badotan, daun jambu biji, daun singkong, daun sirsak, dan daun sereh yaitu 0,2468; 0,2364; 0,1690; 0,0709; dan 0,0208 mmol Fe/g berat kering sampel.



Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap kandungan antioksidan total

Kandungan Antioksidan Total dengan Variasi Waktu Ekstraksi.

Kandungan antioksidan total dengan variasi waktu maserasi dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3, memperlihatkan bahwa kandungan antioksidan total paling tinggi pada waktu ekstraksi 90 menit terhadap masing-masing ekstrak sampel segar dengan warna ekstrak yang semakin pekat. Jovanovic *et al.* (2017) mengemukakan bahwa lama waktu ekstraksi mengakibatkan semakin lama pelarut untuk melunakkan sel dan memecah partikel-partikel pada sel daun tanaman, sehingga semakin banyak senyawa antioksidan terekstrak pada daun tanaman [9]. Selanjutnya Dvorackova *et al.* (2015) menambahkan bahwa waktu ekstraksi yang terlalu lama juga dapat menyebabkan senyawa antioksidan teroksidasi oleh cahaya dan oksigen di udara sehingga kandungan senyawa antioksidan menjadi berkurang [10]. Kandungan antioksidan total pada daun badotan, daun jambu biji, daun sirsak, daun singkong, dan daun sereh yaitu 0,5586; 0,4532; 0,2799; 0,1750; dan 0,0524 mmol Fe/g berat kering sampel.

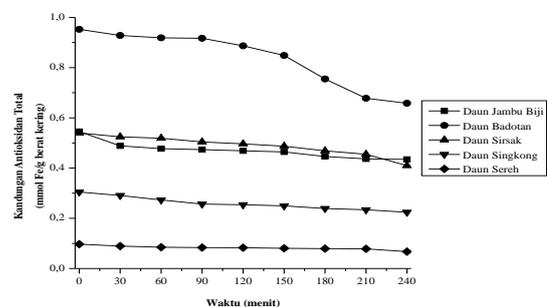


Gambar 3. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap kandungan antioksidan total

Kandungan Antioksidan Total dengan Variasi Waktu Penyimpanan Ekstrak Pada Suhu 27 ± 2°C.

Kandungan antioksidan total dengan variasi waktu penyimpanan ekstrak pada suhu 27 ± 2°C dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4, memperlihatkan bahwa kandungan antioksidan total paling tinggi yaitu waktu penyimpanan ekstrak 0 menit pada suhu 27 ± 2°C terhadap masing-masing ekstrak sampel segar, dan warna ekstrak semakin berkurang selama perpanjangan waktu penyimpanan ekstrak. Ali *et al.* (2018) mengemukakan bahwa semakin lama waktu penyimpanan ekstrak mengakibatkan kandungan senyawa antioksidan semakin menurun. Ali *et al.* (2018) juga mengemukakan bahwa cahaya dan oksigen di udara selama perpanjangan waktu penyimpanan ekstrak dapat mengakibatkan senyawa antioksidan teroksidasi dan terdegradasi sehingga kandungan senyawa antioksidan semakin berkurang [11]. Kandungan antioksidan total dengan waktu penyimpanan ekstrak 0 menit pada suhu 27 ± 2°C terhadap daun badotan, daun jambu biji, daun sirsak, daun singkong, dan daun sereh yaitu 0,9526; 0,5454; 0,5399; 0,3048; dan 0,0969 mmol Fe/g berat kering sampel.

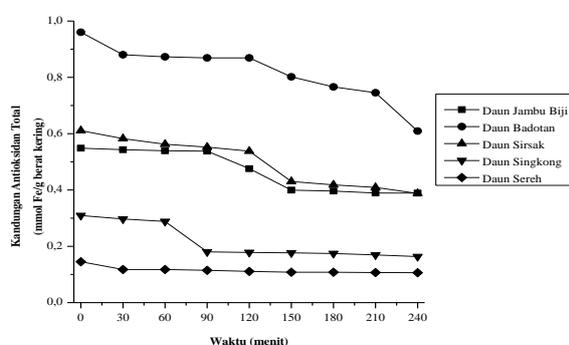


Gambar 4. Pengaruh waktu penyimpanan ekstrak pada suhu 27 ± 2°C terhadap kandungan antioksidan total

Kandungan Antioksidan Total dengan Variasi Waktu Penyimpanan Ekstrak Pada Suhu 20 ± 2°C.

Kandungan antioksidan total dengan variasi waktu penyimpanan ekstrak pada suhu 20 ± 2°C di dalam kulkas dapat dilihat pada Gambar 5. Berdasarkan Gambar 5, memperlihatkan bahwa kandungan antioksidan total paling tinggi untuk masing-masing ekstrak sampel segar yaitu waktu penyimpanan 0 menit pada suhu 20 ± 2°C di dalam kulkas dan warna ekstrak sampel

segar semakin berkurang dengan perpanjangan waktu penyimpanan ekstrak. Zoric *et al.* (2017) mengemukakan bahwa semakin lama waktu penyimpanan ekstrak pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam kulkas dapat mengakibatkan semakin lama laju degradasi dan senyawa antioksidan mengendap ke dasar permukaan, sehingga kandungan senyawa antioksidan yang didapatkan semakin berkurang [12]. Kandungan antioksidan total dengan waktu 0 menit pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam kulkas terhadap daun badotan, daun sirsak, daun jambu biji, daun singkong, dan daun sereh yaitu 0,9603; 0,6109; 0,5486; 0,3092; dan 0,1451 mmol Fe/g berat kering sampel.



Gambar 5. Pengaruh waktu penyimpanan ekstrak pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$ terhadap kandungan antioksidan total

4. Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan kondisi optimum ekstraksi terhadap kandungan antioksidan total yaitu pada suhu 100°C selama 90 menit dengan waktu penyimpanan ekstrak yaitu waktu 0 menit pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam kulkas. Kandungan antioksidan total pada daun badotan (*Ageratum conyzoides*), daun sirsak (*Annona muricata*), daun jambu biji (*Psidium guajava*), daun singkong (*Manihot esculenta*), dan daun sereh (*Cymbopogon citratus*) berturut-turut yaitu 0,9603; 0,6109; 0,5486; 0,3092; dan 0,1451 mmol Fe/g berat sampel kering.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada analis Laboratorium Analisa Terapan dan Laboratorium Instrumen yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penyelesaian penelitian ini.

Referensi

- [1] Meydani, Sn., Wu, D., Santos, Ms., Hayek, Mg., 1995. Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence. *American Journal Clinical Nutrition*. 62.
- [2] Yefrida, Suyani, H., Alif, A., Efdi, M., Aziz, H., 2018. Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruit methanolic extract. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 22(4), 28-35.
- [3] Oyewole, O.I., Tolulope, Akinbamijo, O., 2015. Antioxidative potential of *Ageratum conyzoides* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts in cadmium-induced oxidative stress in rat tissues. *American Journal of Biomedical Research*. 3(4), 71-74.
- [4] Biswas, Bipul., Rogers K., McLaughlin, F., Daniels, D., Yadau, A., 2013. Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. *International Journal of Microbiology*. 1-8.
- [5] Manvitha, K., Bidya, B., 2014. Review on pharmacological activity of *Cymbopogon citratus*. *International Journal of Herbal Medicine*. 1(6), 5-7.
- [6] Thambi, M., Cherian, T., 2015. Pesticidal activity of the leaves of manihot esculenta against the pest *Sitophilus oryzae*. *The Pharma Innovation Journal*. 4(6), 15-18.
- [7] Kedari, T.S., Khan, A.A., 2014. Guyabano (*Annona muricata*): A review of its traditional uses phytochemistry and pharmacology. *American Journal of Research Communication*. 2(10), 247-268.

- [8] Anderson, R.L. 1987. Practical statistic for analytical chemist. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- [9] Jovanovic, A., Petrovic, P., Dordevic, V., Zdunic, G., Savikin, K., Bugarski, B., 2017. Polyphenols extraction from plant sources. *Lekovite Sirovine*: Vol. 37.
- [10] Dvorackova, E., Snoblova, M., Chromova, L., Hrdlicka, P., 2015. Effects of extraction methods on the phenolic compounds contents and antioxidant capacities of *Cinnamon extracts*. *Journal of Food Science Biotechnology*. 24(4), 1201-1207.
- [11] Ali, A., Chong, C.H, Siau, Luqman, L.M., Luqman, C.A., Shean, T., Choong, Y., Bee, L.C., 2018. Impact of storage conditions on the stability of predominant phenolic constituents and antioxidant activity of dried piper betle extracts. *Molecules*. 23: 84.
- [12] Zoric, Z., Pelaic, Z., Pedisic, S., Garofulic, I.E., Kovacevic, D.B., Dragovic-Uzelac, V., 2017. Effect of storage conditions on phenolic content and antioxidant capacity of spray dried sour cherry powder. *Journal LWT-Food Science and Technology*. 251-259.

FENOLIK TOTAL, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK DARI EKSTRAK KULIT BATANG JAMBU AIR (*Syzygium aqueum* (Burm. F.) Alston) BUAH BERWARNA HIJAU

Fadhil Rahmeidi*, Adlis Santoni, Afrizal

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Andalas
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang, 25163 Indonesia
*Email: fadhil1510412014@gmail.com

Abstrak: Tumbuhan jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f.) Alston) termasuk ke dalam family *myrtaceae* yang merupakan salah satu jenis tanaman yang sudah sangat dikenal oleh masyarakat dan telah dimanfaatkan untuk bahan makanan dan pengobatan beberapa macam penyakit seperti menurunkan demam, asma, melancarkan pencernaan, diabetes, kolesterol, batuk, diare dan kanker payudara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan, dan sitotoksik pada ekstrak kulit batang jambu air. Pelarut metanol, etil asetat, dan heksana digunakan untuk mengekstrak senyawa kimia dengan menggunakan metode maserasi untuk masing-masing ekstrak yang terdapat dalam kulit batang jambu air. Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu*, aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*), dan sitotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenolik total paling tinggi terdapat pada ekstrak metanol (9,56 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering) dibandingkan dengan ekstrak etil asetat (7,22 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering) dan heksana (2,22 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan etil asetat bersifat sangat kuat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 22,44 mg/ L dan 36,40 mg/ L. Sedangkan ekstrak heksana bersifat tidak aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 452,91 mg/ L. Dari hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ketiga ekstrak bersifat toksik, namun ekstrak metanol memiliki sitotoksik paling kuat dengan nilai LC_{50} 169,88 mg/ L dari pada etil asetat 233,10 mg/ L dan heksana 221,22 mg/ L.

Kata kunci: *Syzygium aqueum*, antioksidan, fenolik total, sitotoksik

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman tanaman. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi sepanjang tahun. Sumber daya alam yang dimiliki telah memberikan manfaat dalam kehidupan sehari-hari disamping sebagai bahan makanan dan bahan bangunan, juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional[1].

Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat pewarna, penambah aroma makanan, parfum, dan obat[2]. Secara umum, khasiat tumbuhan obat sebenarnya terkait dengan kandungan kimia yang dimiliki. Namun, tidak seluruh kandungan kimia diketahui secara lengkap karena pemeriksaan bahan kimia dari suatu tanaman memerlukan biaya yang mahal. Meskipun tidak secara rinci, tetapi pendekatan farmakologi menghasilkan informasi tentang khasiat tumbuhan obat³. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit

sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, kumarin [2].

Terdapat banyak kandungan senyawa kimia pada tanaman di Indonesia sehingga dapat digunakan sebagai obat tradisional. Seiring dengan perkembangan zaman, biaya pengobatan dan obat-obatan juga relatif tinggi, sehingga pengobatan secara tradisional yang telah dikenal sejak dahulu berpotensi dikembangkan dalam kepentingan kesehatan masyarakat[4].

Tanaman jambu air telah digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman obat anti diare, asma, menurunkan demam, melancarkan pencernaan, diabetes, kolesterol, dan kanker payudara[3].

Palanisamy, dkk melaporkan bahwa ekstrak kulit batang jambu air memiliki berbagai macam manfaat, diantaranya sifat antioksidan dan tidak bersifat sitotoksik[3]. Diantara senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman diketahui dapat menangkal radikal bebas, sehingga akan mencegah timbulnya berbagai penyakit dalam tubuh. Semakin tinggi kandungan fenolik pada suatu sampel maka aktivitas antioksidannya juga

semakin tinggi, yang ditunjukkan dengan harga IC₅₀ yang lebih kecil[4].

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji total fenolik, aktivitas antioksidan dan sitotoksik pada kulit batang tanaman jambu air buah berwarna merah (*Syzygium aqueum* (Burm. F. Alston)) dengan berbagai macam pelarut, diketahui bahwa ekstrak kulit batang tanaman jambu air buah berwarna merah memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik yang baik. Adapun penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan antioksidan dan bersifat sitotoksik dari kulit batang jambu air buah berwarna hijau dalam menangkal radikal bebas, sehingga peneliti mengekstrak kulit batang jambu air dengan berbagai pelarut yang berbeda tingkat kemurniannya dan diuji bioaktivitasnya. Kemudian ekstrak tersebut ditentukan kandungan fenolik total dengan metode *Folin-Ciocalteu*, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dan aktivitas sitotoksik dilakukan uji pada larva udang (BSLT). Penentuan bioaktivitas ekstrak dilakukan untuk memperoleh informasi kandungan fenolik total, aktivitas antioksidan, sitotoksik, dan hubungan antara kandungan fenolik total dengan aktivitas antioksidan.

2. Metodologi Penelitian

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat destilasi, alat gerinda, *rotary evaporator*, botol reagen, neraca analitik, tabung reaksi, plat KLT, pipa kapiler, spektrofotometer UV-VIS *Thermo Scientific*, lampu UV (λ 365 nm) dan beberapa peralatan gelas yang lazim digunakan dalam penelitian kimia.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah heksana, etil asetat, dan metanol (sebagai pelarut) yang telah didistilasi. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu kloroform, pereaksi *Mayer*, asam sulfat 2 N, kloroform-ammoniak 0,05 M untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann Burchard* (anhidrida asetat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, sianidin test (bubuk magnesium dan asam klorida pekat) untuk identifikasi flavonoid, besi (III) klorida untuk identifikasi fenolik, natrium hidroksida untuk identifikasi kumarin, DPPH dan asam askorbat untuk uji antioksidan, air laut, larva udang, dan DMSO untuk uji sitotoksik, natrium karbonat 20 %, reagen *Follin-Ciocalteu*, asam galat, dan akuades

untuk uji kandungan fenolik total, kertas saring, aluminium foil, kapas, dan tisu.

2.3 Prosedur Percobaan

a. Persiapan dan Identifikasi Sampel

Kulit Batang Jambu Air

Sampel kulit batang jambu air diambil di Kota Padang Prov. Sumatera Barat. Sampel segar kulit batang jambu air sebanyak 5 kg dikering anginkan dalam ruangan untuk mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel. Sampel kulit batang jambu yang telah kering diperoleh sebanyak 1,2 kg kemudian sampel dihaluskan dan diperoleh sampel dalam bentuk serbuk kemudian diambil sebanyak 750 gram untuk diekstraksi dan diuji bioaktivitasnya.

b. Pengujian Profil Fitokimia Sampel

Sampel kulit batang jambu air 2 gram yang telah halus dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan metanol dan dipanaskan selama 5 menit. Larutan dalam keadaan panas tersebut diambil dan dimasukkan ke tabung reaksi lain lalu ditambahkan akuades dan kloroform dengan perbandingan 1:1. Campuran tersebut dikocok dan didiamkan sebentar hingga terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan kloroform dan air. Lapisan kloroform dibagian bawah digunakan untuk pengujian kandungan senyawa triterpenoid dan steroid, sedangkan lapisan air dibagian atas digunakan untuk pengujian kandungan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin.

1. Uji Flavonoid (*Sianidin Test*)

Lapisan air sebanyak 1 mL dimasukkan ke tabung reaksi lalu asam klorida pekat dan serbuk magnesium ditambahkan ke tabung reaksi. Apabila larutan berwarna orange sampai merah menandakan sampel mengandung flavonoid.

2. Uji Fenolik

Lapisan air diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke tabung reaksi lalu ditambahkan larutan besi (III) klorida 5%. Ciri khas fenolik membentuk kompleks dengan besi (III) klorida menghasilkan warna hijau sampai biru menandakan sampel mengandung fenolik.

3. Uji Saponin

Lapisan air diambil 1 mL dan dimasukkan ke tabung reaksi lalu dikocok kuat-kuat. Terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan sedikit asam klorida pekat menandakan sampel mengandung saponin.

4. Uji Triterpenoid dan Steroid (*Liebermann Burchard*)

Lapisan kloroform diambil 1 pipet kemudian diteteskan ke tiga lubang pada plat tetes dan biarkan kering. Pada lubang plat tetes pertama ditambahkan asam sulfat pekat, ke dalam lubang plat tetes kedua ditambahkan satu tetes anhidrida asetat dan satu tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna hijau hingga biru menandakan sampel mengandung steroid, sedangkan bila terbentuknya warna merah menandakan sampel mengandung triterpenoid.

5. Uji Alkaloid

Kulit batang tumbuhan jambu air sebanyak \pm 5 gram dirajang dan digerus dalam lumpang dengan menggunakan pasir bersih dan 5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 5 mL kloroform-amoniak 0,05 M, diaduk dan disaring. Diambil sebanyak 1 mL filtrat kemudian dimasukkan ke tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 mL asam sulfat 2 N, dikocok, dan didiamkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam sulfat dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi *Mayer*. Terbentuknya endapan putih atau larutan keruh menandakan sampel mengandung alkaloid.

6. Uji Kumarin

Hasil ekstrak metanol dengan menggunakan pipa kapiler ditotolkan pada garis awal plat KLT, kemudian dielusi dengan eluen yang sesuai. Plat KLT dimonitor pada lampu UV 365 nm. Bercak fluoresensi yang muncul pada plat KLT tersebut disemprot dengan larutan NaOH 1% untuk memperjelas adanya fluoresensi pada plat KLT kemudian dilanjutkan monitor kembali dibawah lampu UV 365 nm. Adanya fluoresensi biru yang setelah disemprot dengan NaOH 1% menandakan positif kumarin.

c. Ekstraksi Sampel Kulit batang Jambu Air

Sampel kering kulit batang tanaman jambu air yang telah halus diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan didalam 3 botol berisikan 250 gram sampel yang telah dihaluskan. Selanjutnya pelarut heksana, etil asetat, dan metanol dimasukkan ke tiga botol berbeda yang telah berisikan sampel hingga sampel terendam. Perendaman dilakukan selama 48 jam kemudian sampel disaring dan dilakukan berulang kali hingga warna ekstrak

berubah menjadi bening. Ekstrak dari masing-masing pelarut digabungkan dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut dikeringkan untuk pengujian bioaktivitasnya.

d. Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kulit Batang Jambu Air dengan Metode Follin-Ciocaltu

Pengujian kandungan fenolik total yang dilakukan berdasarkan pada penelitian oleh Itam, dkk 2018 dengan menggunakan metoda *Follin-Ciocalteu*[5].

1. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat Larutan standar dibuat dari 10 mg asam galat yang dilarutkan dalam 10 mL metanol didalam labu ukur 10 mL dan diperoleh konsentrasi 1000 mg/ L. Larutan standar divariasikan dengan konsentrasi 10; 20; 40; 60; 80; dan 100 mg/ L. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi diambil dan dimasukkan ke labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 0,5 mL reagen *Follin-Ciocalteu*. Campuran tersebut didiamkan selama 5 menit kemudian 1 mL larutan natrium karbonat 20% ditambahkan dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Larutan tersebut didiamkan selama 2 jam dan nilai absorban diukur pada panjang gelombang 765 nm. Berdasarkan nilai absorban yang didapatkan kurva kalibrasi dibuat dan didapatkan persamaan regresi dari larutan standar.

2. Pembuatan Larutan Ekstrak Kulit Batang Jambu Air

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol pada labu 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 1000 mg/ L. Larutan 100 mg/ L dibuat dari larutan induk 1000 mg/ L. Larutan 100 mg/ L diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan 0,5 mL reagen *Follin-Ciocalteu*. Campuran tersebut didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan larutan natrium karbonat 20 % sebanyak 1 mL dan diencerkan kembali dengan akuades sampai tanda batas. Larutan tersebut didiamkan selama 120 menit dan absorban diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan fenolik total dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE).

e. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Jambu Air Dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metoda DPPH berdasarkan pada penelitian Afrizal, dkk 2018 yang telah dimodifikasi.

1. Pembuatan larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 4 mg kemudian dimasukkan ke labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM.

2. Pembuatan Larutan Ekstrak Kulit Batang Jambu Air

Larutan uji dibuat dari masing-masing ekstrak dengan melarutkan 100 mg sampel pada labu ukur 100 mL dengan metanol, sehingga didapatkan konsentrasi larutan 1000 mg/ L. Selanjutnya konsentrasi larutan uji metanol dan etil asetat dibuat variasi dengan masing-masing konsentrasi 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 mg/ L. Konsentrasi heksana 100; 200; 300; 400; 500; 600; dan 700 mg/ L. Asam askorbat dibuat variasi konsentrasi 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 mg/ L yang digunakan sebagai larutan perbandingan.

3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Larutan uji sebanyak 2 mL diambil dari masing-masing konsentrasi kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan didiamkan selama 30 menit serta campuran dihindarkan dari cahaya. Kontrol negatif pada pengujian ini yaitu dibuat dari campuran 2 mL metanol dan 3 mL larutan DPPH. Absorban dari masing-masing konsentrasi larutan uji dan kontrol diukur pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan absorban yang didapatkan, dihitung persentase inhibisi dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan: A= absorban setelah didapatkan nilai persentase inhibisi dari perhitungan, nilai IC₅₀ dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi yang didapatkan.

f. Pengujian Sitotoksik Ekstrak Kulit batang Jambu Air dengan *Brine shrimp Lethality Test*

Pengujian sitotoksik menggunakan metoda BSLT berdasarkan penelitian Afrizal, dkk 2018 yang telah dimodifikasi.

1. Pemiakan Larva *Artemia salina*

Air laut yang bersih dan jernih dimasukkan ke wadah pembiakan yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap yang dilengkapi dengan *aerator* dan cahaya. Telur *Artemia salina*

dimasukkan ke wadah pembiakan pada bagian gelap dan dibiarkan selama 48 jam hingga terbentuk larva *Artemia salina*.

2. Pembuatan Larutan Ekstrak Kulit batang Jambu Air dan Larutan Kontrol

Sebanyak 50 mg dari masing-masing ekstrak ditimbang dilarutkan hingga 50 mL dengan metanol pada labu 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 mg/ L. Variasi konsentrasi sampel dibuat dengan cara pengenceran bertingkat yaitu 750; 500; 375; 250; 125 dan 62,5 mg/ L. Larutan kontrol dibuat dengan melarutkan 50 µL DMSO dan ditambahkan air laut hingga 5 mL.

3. Pengujian Sitotoksik Larutan Ekstrak Kulit Batang Jambu Air

Larutan uji yang telah disiapkan diambil sebanyak 5 mL kemudian diuapkan pelarutnya dan ditambah 50 µL DMSO dan 2 mL air laut. Sebanyak 10 ekor larva udang yang telah ditetaskan selama 48 jam dimasukan kedalam larutan uji dan kontrol. Setelah itu volume masing-masing larutan uji dan kontrol dicukupkan hingga 5 mL dengan air laut. Larva udang diamati selama 24 jam kemudian dihitung jumlah larva udang yang mati. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai LC₅₀ menggunakan uji probit dan persamaan regresi.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Identifikasi Sampel Kulit Batang Jambu Air

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Padang melalui surat Nomor 511/K-ID/ANDA/XII/2019 diketahui bahwa sampel yang digunakan termasuk kedalam famili *Myrtaceae*, spesies *Syzygium aqueum* (Burm.F) Alston.

3.2 Hasil Pengujian Profil Fitokimia Sampel Kulit Batang Jambu Air

Pengujian profil fitokimia dilakukan pada bagian kulit batang jambu air dan hasil pengujian tertera pada Tabel 3.2

Tabel 3.2. Hasil uji profil fitokimia dari sampel kulit batang jambu air

Kandungan Kimia	Pereaksi	Pengamatan	Hasil Uji
Flavonoid	Sianidin (Bubuk Mg/ HCl)	Terbentuk warna merah - jingga	+
Fenolik	Besi (III) Klorida	Terbentuk warna biru - hijau	+
Saponin	HCl pekat	Terbentuk busa	+

Triterpenoid	Liebermann-Burchard	Terbentuk cincin merah	+
Steroid	Liebermann-Burchard	Tidak terbentuk cincin hijau	-
Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	-
Kumarin	NaOH 1%	Tidak terbentuk fluoresensi biru	-

Keterangan : - (tidak ada)
 + (ada)

Berdasarkan data Tabel di atas, diketahui bahwa kulit batang jambu air mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenolik, saponin dan triterpenoid. Dengan adanya fenolik dalam sampel kulit batang jambu air dapat menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari kulit batang jambu air. Thamilaani dkk menyatakan bahwa tanaman jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu fenolik dan flavonoid²¹. Yurnita dan Juniarti melaporkan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat antioksidan aktif diantaranya fenolik, saponin, tanin, triterpenoid, dan alkaloid²³.

3.3 Hasil Ekstraksi Sampel Kulit batang Jambu Air

Sampel kulit batang jambu air diekstraksi dengan pelarut metanol, etil asetat, dan heksana masing-masing sebanyak 250 gram. Hasil ekstraksi ini dapat dilihat pada Tabel 3.3

Tabel 3.3 Persentase ekstrak kulit batang jambu air

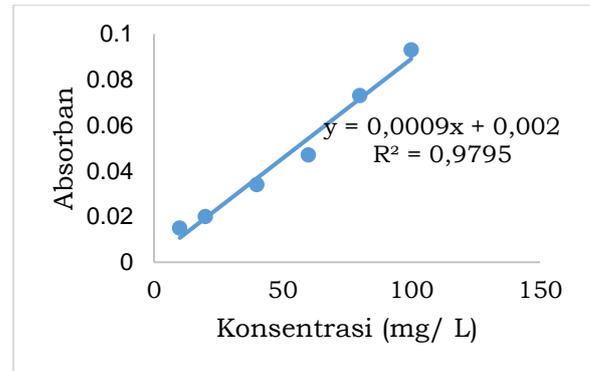
No.	Ekstrak	Bobot ekstrak (gram)	Persentase ekstrak (%)
1	Metanol	83,16	33,26
2	Etil asetat	5,94	2,37
3	Heksana	1,48	0,59

Berdasarkan Tabel diatas dapat dilihat bahwa ekstrak metanol (33,26%) lebih banyak diperoleh dibandingkan ekstrak etil asetat (2,37%) dan ekstrak heksana (0,59%). Hal ini disebabkan karena pelarut metanol dapat mengekstrak senyawa kimia dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda sedangkan ekstrak heksana lebih sedikit diperoleh karena hanya mengekstrak senyawa kimia yang bersifat non polar. Hasil ekstrak yang diperoleh dengan berbagai pelarut mengindikasikan bahwa pada sampel kulit batang jambu air mengandung lebih banyak senyawa kimia

yang bersifat polar dibandingkan senyawa yang bersifat non polar.

3.4 Hasil Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kulit Batang Jambu Air Dengan Metode Folin-Ciocalteu

Penentuan kandungan fenolik total dari ekstrak kulit batang jambu air diperoleh dari persamaan regresi standar asam galat. Kurva standar asam galat dapat dilihat pada Gambar 3.4



Gambar 3.4 Kurva standar asam galat

Tabel 3.4 Kadar Fenolik Total Ekstrak Kulit Batang Jambu air

No.	Ekstrak	Absorban	mg GAE/ 10 mg ekstrak kering
1	Metanol	0,022	9,56
2	Etil Asetat	0,067	7,22
3	Heksana	0,088	2,22

Berdasarkan Tabel diatas dapat dilihat bahwa ekstrak metanol mengandung fenolik total paling tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan ekstrak heksana. Hal ini karena jumlah senyawa fenolik dalam ekstrak tergantung pada tingkat kepolaran pelarut ekstraksi yang digunakan, seperti pelarut metanol yang dapat menarik senyawa kimia dengan tingkat kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan pelarut etil asetat dan heksana. Senyawa fenolik bersifat polar di alam dan oleh karena itu senyawa fenolik memiliki kelarutan yang tinggi dalam pelarut polar.

3.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Jambu Air Dengan Metode DPPH

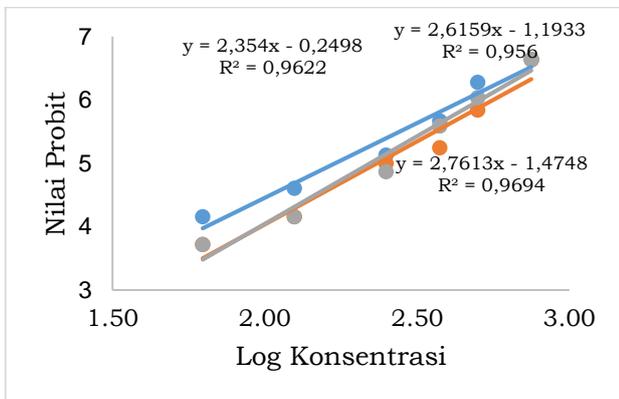
Dari hasil pengujian didapatkan nilai ekstrak kulit batang jambu air dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan pelarut yang lainnya.

Tabel 3.5 Nilai konsentrasi penghambatan (IC₅₀) masing-masing fraksi.

Sampel	IC ₅₀ (mg/L)	Sifat Antioksidan
Asam Askorbat	38,3976	Kuat
Metanol	22,4391	Kuat
Etil Asetat	36,3991	Kuat
Heksana	452, 9139	Lemah

3.6 Pengujian Sitotoksik Ekstrak Kulit batang Jambu Air dengan *Brine Shrimp Lethality Test*

Pengujian dilakukan dengan menggunakan larva udang *A.salina*. Aktivitas sitotoksik dinyatakan dalam nilai LC₅₀, yaitu konsentrasi minimum dari ekstrak untuk membunuh 50 % dari hewan uji (*Artemia salina*). Nilai LC₅₀ diperoleh dengan menghitung jumlah udang yang mati selanjutnya dikonversi menjadi nilai probit.



Gambar 3.6 Hubungan log konsentrasi dan nilai probit uji sitotoksik

Dari Gambar diatas dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar angka kematian larva udang. Hal ini disebabkan karena semakin banyak senyawa kimia aktif (fenolik) yang terdapat dalam sampel untuk masuk kedalam sel larva udang menyebabkan kemampuan bertahan hidup larva udang semakin menurun.

Tabel 3.6 Hasil uji sitotoksik ekstrak kulit batang jambu air

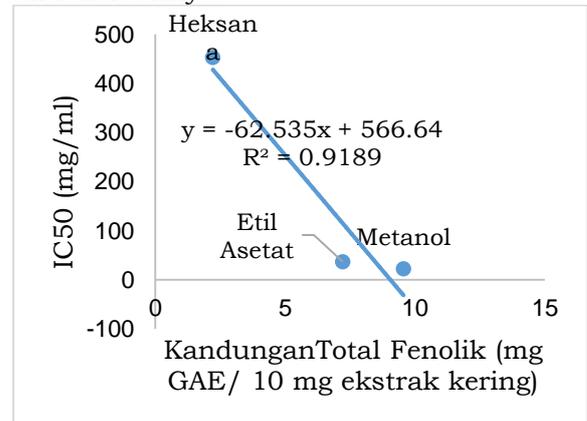
Sampel	LC ₅₀ (mg/L)	Toksistas
Kontrol	0	-
Metanol	169,88	Sangat Toksik
Etil Asetat	233,11	Sangat Toksik
Heksana	221,23	Sangat Toksik

Data pada Tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki nilai LC₅₀

yang kecil dari ekstrak etil asetat dan heksana. Dari penelitian yang dilakukan ekstrak metanol merupakan ekstrak yang memiliki sifat toksistas tertinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan heksana. Pada ekstrak metanol memiliki sifat toksistas yang tinggi karena adanya senyawa-senyawa polar yang bersifat toksik seperti senyawa golongan fenolik dan flavonoid. Untuk pelarut heksana banyak terdapat senyawa non polar yang bersifat toksik seperti asam lemak, dan minyak atsiri yang memiliki gugus asam karboksilat, aldehid, dan ester. Hal tersebut sesuai dengan teori dikutip dari jurnal yang diteliti oleh Pertiwi Anggrawatti[6] pada kulit batang jambu air terdapat benzaldehid, benzil alkohol, volatil oil, geraniol, linalool, etoksi etil asetat yang bersifat asam. Hal ini dapat membunuh larva udang *Artemia salina*, karena larva udang tersebut tidak dapat hidup dalam suasa asam.

3.7 Hubungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Jambu Air

Hasil pengujian total fenolik dan aktivitas antioksidan, didapatkan perbandingan antara kadar total fenolik (mg GAE/ 10 mg sampel) dan nilai IC₅₀ (mg/ L). Pengujian total fenolik dan aktivitas antioksidan bertujuan untuk melihat korelasi antara kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidannya.



Gambar 3.7 Hubungan Kandungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan

Hubungan antara kandungan fenolik total (x) dengan IC₅₀ (y) ekstrak mempunyai koefisien korelasi r² = 0,9189, (y = -62,535x + 566,64). Hasil ini menunjukkan bahwa 91,89 % aktivitas antioksidan merupakan hasil kontribusi dari senyawa-senyawa fenolik. Pada ekstrak metanol kandungan fenolik totalnya 19,11 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering dan nilai aktivitas antioksidannya sebesar 22,4391 mg/ L,

ekstrak etil asetat kandungan fenolik totalnya 14,44 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering dan nilai aktivitas antioksidannya sebesar 36,3991 mg/ L, dan untuk ekstrak heksana kandungan fenolik totalnya 4,44 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering dan nilai aktivitas antioksidannya 452,91 mg/ L, jadi semakin tinggi kandungan fenolik total maka aktivitas antioksidannya semakin kuat.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kulit batang jambu air dapat disimpulkan bahwa kandungan fenolik total terbanyak terdapat pada ekstrak metanol (9,56 mg GAE/ 10 mg ekstrak kering). Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etil asetat bersifat sangat kuat sebagai antioksidan (IC_{50} 22,43 mg/ L), (IC_{50} 36,40 mg/ L) dan ekstrak heksana bersifat lemah antioksidan (IC_{50} 452,91 mg/ L). Dari hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ketiga ekstrak bersifat sangat toksik, namun ekstrak metanol memiliki sitotoksik paling kuat dengan nilai LC_{50} 169,88 mg/ L dibandingkan ekstrak etil asetat 233,10 mg/ L dan ekstrak heksana 221,22 mg/ L. Hubungan antara kandungan fenolik total dengan IC_{50} menunjukkan bahwa 91,89 % aktivitas antioksidan merupakan hasil kontribusi dari senyawa-senyawa fenolik.

Referensi

- [1] Indrayanto, G.: Prospek (Kimia) Bahan Alam untuk Penemuan Obat Baru. Seminar Umum Pendidikan Program Studi. Universitas Mulawarman 2006.
- [2] Hariana, A.: Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Seri Pratama. Penebar Swadaya. Jakarta 2006.
- [3] Palanisamy, U. D Ling L. T.: *Standardized extract of Syzygium aqueum: a safe cosmetic ingredient. International Journal of Cosmetic Science* 2011,33, 269–275.
- [4] Osman, M.; Rahim, A.; Isa Mand Bakhir, M.: *Antioxidant Activity and Phenolic Content of Paederia foetida and Syzygium aqueum. International Journal of Molecules* 2009, 14, 970-978.
- [5] Itam, Afrizal, dkk.: *Preliminary Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Alstonia scholaris R. Br Leaves and Steam Bark Extracts. Journal of pharmaceutical Sciences and Research.* 2018, 10, 3.
- [6] Anggrawatti, P.; Ramadhania Z.: Review Artikel: Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas dari Jambu Air (*Syzygium aqueum* (Burm.F.) Alston). *Farmaka Suplemen* 2016, 14, 2, 331- 344.