

Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.)

The Effect of Different Extraction Methods on Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.)

¹Eva Nurlaela, ²Endah Rismawati Eka Sakti, ³Esti Rachmawati Sadiyah

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email :¹evanurlaela84@yahoo.com, ²endah.res@gmail.com, ³esti_sadiyah@ymail.com

Abstract. Leaves srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) is a medicinal plant traditionally used by people to treat various diseases. The purpose of this study is to determine the effect of different extraction methods of antioxidant activity of leaves srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.). Extraction was done by maceration method and reflux using ethanol 96%. The extract was fractionated by using four solvents are n-hexane, chloroform, ethyl acetate and water. Testing of antioxidant activity using DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). The antioxidant activity of each extract and the fractions were measured using a UV-visible spectrophotometer with a concentration of 25; 50; 75; 100; 125; 150 ppm and vitamin C with a concentration of 2; 4; 6; 8; 10; 12 ppm as a positive control. The result of the antioxidant activity of extracts and fractions from the maceration (52,084 ppm) better than reflux extraction (65,478 ppm). The highest antioxidant activity shown by the fraction of n-hexane and ethyl acetate fraction from the maceration with the level of intensity of powerful antioxidants (50-100 ppm).

Keywords: *Nyctanthes arbor-tristis* L, Antioxidants, maceration, reflux.

Abstrak. Daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) adalah tanaman obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan refluks menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak difraksinasi dengan menggunakan empat pelarut yaitu n-heksana, kloroform, etil asetat dan air. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak dan fraksi diukur menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dengan konsentrasi 25; 50; 75; 100; 125; 150 ppm dan vitamin C dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8; 10; 12 ppm sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dari hasil maserasi (52,084 ppm) lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi refluks (65,478 ppm). Aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dari hasil maserasi dengan tingkat intensitas antioksidan kuat (50-100 ppm).

Kata Kunci: *Nyctanthes arbor-tristis* L, Antioksidan, Maserasi, Refluks.

A. Pendahuluan

Salah satu obat tradisional yang memiliki kandungan senyawa antioksidan yaitu srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.). Kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman ini adalah asam tanat, asam askorbat, metil salisilat dan resin yang berkhasiat sebagai antioksidan (Rathee, 2006:1352). Pada penapisan fitokimia dibuktikan bahwa pada biji, buah dan daun srigading terdapat fitosterol, tanin, flavonoid dan saponin (Balasubramanian, 2012:1689).

Tanaman yang termasuk family *Oleaceae* ini, umumnya dikenal sebagai Harsingar atau Melati malam (Partomihardjo, 1999:113). Ciri khas yang dimiliki tanaman srigading ini adalah rasa daunnya yang pahit. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa masyarakat desa memanfaatkan tanaman srigading ini selain sebagai tanaman hias, juga untuk mengobati demam, gangguan haid, penyakit kuning, encok dan wasir, rematik (Ogata, 1995: 1555).

Berdasarkan penelitian terhadap daun srigading yang dilakukan oleh Rathee, dkk (2006:1351) yang menggunakan metode ekstraksi bertingkat dengan alat *Soxhlet*, diperoleh adanya kandungan senyawa fenolat yang tinggi pada fraksi etil asetat dan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} 100 ppm. Namun belum diketahui apakah senyawa yang sama dapat diperoleh dengan metode ekstraksi yang berbeda.

Salah satu masalah yang mendasari penelitian ini adalah apakah ada perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.).

Berdasarkan penuturan di atas, perlu dilakukan pengujian antioksidan ekstrak dan fraksi daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) yang diperoleh melalui metode maserasi (cara dingin) serta metode refluks (cara panas). Pengujian potensi antioksidan dari kedua ekstrak tersebut dilakukan terhadap radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.).

B. Landasan Teori

Maserasi adalah suatu ekstraksi dengan peredaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Berdasarkan teknologinya maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI, 2000:10-11).

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut dengan menggunakan temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000:11).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang bertugas untuk menetralkan peningkatan radikal bebas, serta melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan serta berkontribusi dalam pencegahan penyakit. (Tapan, 2005:103).

Prinsip dari uji antioksidan dengan metode DPPH adalah terjadinya perubahan warna larutan dari warna ungu menjadi ungu pudar menjadi kuning. Adanya perubahan warna dari ungu menjadi warna kuning dikarenakan terjadinya penurunan absorptivitas molar dari molekul DPPH. Sehingga terjadi perubahan warna berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap (Koleva, 2002:495-500).

C. Hasil dan Pembahasan

Persiapan Sampel, Ekstraksi dan Fraksinasi

Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah daun srigading (*Nyctantes arbor-tristis* L.) berupa simplisia kering daun srigading sebanyak 600 g yang diperoleh dari 3 kg daun srigading segar (rendemen 40%). Daun diambil dari Kebun Percobaan Cimanggu Bogor. Determinasi sampel dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, dan menunjukkan bahan yang digunakan adalah benar (*Nyctantes arbor-tristis* L.).

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan refluks dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstrak maserasi (EM) 54,51 gram (rendemen 18,17%), ekstrak hasil refluks (ER) 71,61 gram (rendemen 23,89%). Masing-masing ekstrak dari hasil maserasi dan ekstrak hasil refluks dilakukan fraksinasi. Berikut perolehan rendemennya.

Tabel 1. Hasil rendemen fraksi dari metode maserasi dan refluks

Ekstraksi (g)	Berat ekstrak	Fraksi			
		n-heksana (%)	kloroform (%)	etil asetat (%)	air (%)
Maserasi	20	10	6,5	6	19,5
Refluks	20	12	10,5	2,5	12,5

Makroskopik & Mikroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan daun srigading mempunyai ciri fisiknya yaitu berbentuk bundar telur memanjang, tinggi 10 cm dan lebar 5 cm, berwarna hijau dengan permukaan berambut dan kasar. Hasil pemeriksaan daun srigading sesuai dengan yang disebutkan pada (Depkes RI, 1989:366).

Hasil pemeriksaan mikroskopik terhadap daun segar dengan pelarut air terlihat jaringan kolenkim, jaringan bunga karang, jaringan tiang, epidermis atas, epidermis bawah, kelenjar minyak, rambut penutup. (Depkes RI, 1989:366). Berikut ini gambar penampang melintang daun srigading dengan perbesaran 40 x 10.



Gambar 1. Penampang melintang daun srigading

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak daun srigading bertujuan untuk memastikan kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia sehingga dapat diketahui bahwa proses ekstraksi dan pemekatan tidak berpengaruh terhadap senyawa yang terkandung dalam simplisia. Hasil penapisan fitokimia pada simplisia

dan ekstrak daun srigading menunjukkan hasil yang positif terdeteksi pada golongan alkaloid, flavonoid, steroid, monoterpen atau sesquiterpen, fenolat, steroid dan triterpenoid, saponin kecuali tanin. Namun terdapat perbedaan pada senyawa saponin, pada simplisia terdeteksi sedangkan pada ekstrak tidak terdeteksi. Hal ini dikarenakan pelarut tidak mampu menarik saponin pada saat diekstrak sehingga tidak menimbulkan busa dan simplisia yang terdeteksi positif juga terdapat saponin sedikit sehingga pada saat diekstrak hilang karena telah melewati proses ekstraksi. Data penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 2**.

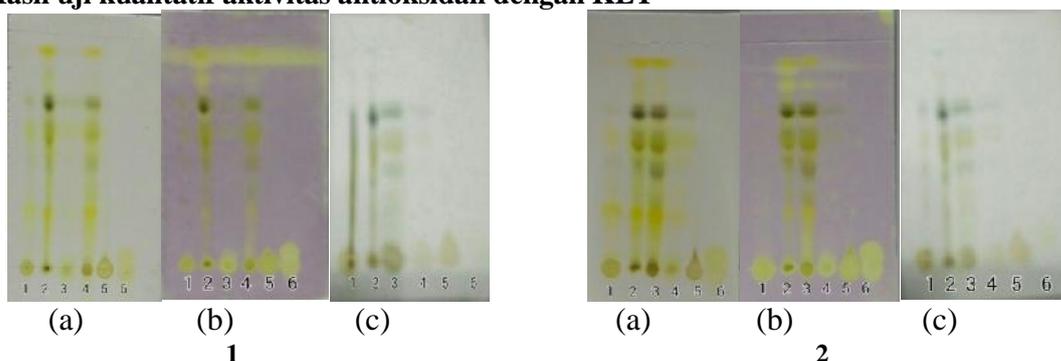
Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak daun srigading

Golongan Senyawa	Simplisia	Maserasi						Refluks				
		EM	FHM	FKM	FEtM	FAM	ER	FHR	FKR	FEtR	FAR	
Alkaloid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tanin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kuionon	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	
Monoterpen & Sesquiterpen	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	
Steroid & Triterpen	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	
Fenolat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan : (+) Terdeteksi (-) : Tidak terdeteksi; (EM) : ekstrak maserasi; (FHM) fraksi n-heksana hasil maserasi (FKM) fraksi kloroform hasil maserasi (FEtM) fraksi etil asetat hasil maserasi (FAM) fraksi air hasil maserasi. (ER) : ekstrak refluks (FHR) fraksi n-heksana hasil refluks (FKR) fraksi kloroform hasil refluks (FEtR) fraksi etil asetat hasil refluks (FAR) fraksi air hasil refluks.

Pemantauan Ekstrak dan Fraksi dengan KLT

Hasil uji kualitatif aktivitas antioksidan dengan KLT



Gambar 2. Hasil pemantauan sinar tampak dan semprot DPPH 0,2% dan penampak bercak sitroborat

Keterangan : Pola kromatogram ekstrak dan fraksi daun srigading diamati dengan penampak bercak DPPH 0,2% dan penampak bercak sitroborat menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3). (1) hasil maserasi (2) hasil refluks. (1.a) ekstrak dan fraksi hasil pemantauan sinar tampak hasil maserasi. (1.b) ekstrak dan fraksi yang telah disemprot DPPH 0,2% (1.c) ekstrak dan fraksi yang telah disemprot sitroborat. (1) ekstrak maserasi (2) fraksi n-heksana hasil maserasi (3) fraksi kloroform hasil maserasi (4) fraksi etil asetat hasil maserasi (5) fraksi air hasil maserasi (6) pembanding kuersetin. (2.a) ekstrak dan fraksi hasil pemantauan sinar tampak hasil refluks. (2.b) ekstrak dan fraksi hasil refluks yang telah disemprot DPPH 0,2% (2.c) ekstrak dan fraksi hasil refluks yang telah disemprot

sitroborat. (1)ekstrak refluks (2) fraksi n-heksana hasil refluks (3) fraksi kloroform hasil refluks (4) fraksi eti asetat hasil refluks (5) fraksi air hasil refluks (6) pembanding kuersetin.

Hasil uji DPPH secara kualitatif menunjukkan terdapat 2 bercak yang positif sebagai senyawa antioksidan pada ekstrak maserasi dengan nilai Rf 0,2 dan 0,5 dan ekstrak refluks dengan nilai Rf 0,3 dan 0,5. Pada fraksi n-heksan dan etil asetat hasil maserasi dan refluksterdapat 3 bercak dengan nilai Rf 0,3; 0,5 dan 0,6. Pada nilai Rf tersebut setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2%, menunjukkan hasil positif sebagai antioksidan yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pucat dengan latar ungu setelah disemprot dengan pereaksi semprot DPPH 0,2% pada sinar tampak. Kemudian dilakukan penyemprotan dengan penampak bercak sitroborat untuk mengidentifikasi flavonoid sebagai senyawa yang berpotensi antioksidan. Hasil identifikasi secara kualitatif terdapat empat bercak yang positif sebagai senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,2; 0,2; 0,4; 0,5. Nilai Rf yang telah disemprot sitroborat ditandai warna kuning setelah disemprot dengan sitroborat hasil menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan latar kuning kehijauan.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi dari masing-masing ekstraksi maserasi dan refluks yang diperoleh. Pengujian diawali dengan tahapan pembuatan larutan DPPH dalam metanol p.a, selanjutnya ditentukan panjang gelombang maksimum larutan DPPH pada konsentrasi 60 ppm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dari pengukuran tersebut, diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH 516 nm dengan absorbansi 0,633. Panjang gelombang maksimum DPPH ini selanjutnya digunakan untuk pengukuran absorbansi kontrol pada pengujian aktivitas antioksidan larutan pembanding (vitamin C) dan sampel uji.

Larutan vitamin C dibuat sebagai pembanding dengan berbagai konsentrasi 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 dan 12 ppm dalam metanol p.a. kemudian selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan pembanding dengan menggunakan DPPH sebagai kontrol dan dihitung persen aktivitas antioksidan dari setiap konsentrasi sehingga diperoleh nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Iklas, 2013:34).

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Hasil Maserasi

Tabel V.9. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Hasil Maserasi

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
EM	25	0,354	44,076	52,084
	50	0,323	48,637	
	75	0,280	55,766	
	100	0,246	61,137	
	125	0,208	76,141	
	150	0,179	71,722	
FHM	25	0,375	40,738	67,594
	50	0,342	45,972	
	75	0,278	50,635	
	100	0,239	59,084	
	125	0,233	62,875	
	150	0,213	66,035	
FKM	25	0,445	29,669	197,780
	50	0,413	34,439	
	75	0,404	36,177	
	100	0,387	38,863	
	125	0,367	42,022	
	150	0,331	44,549	
FETM	25	0,363	42,634	71,734
	50	0,357	45,453	
	75	0,343	54,541	
	100	0,293	54,754	
	125	0,253	59,716	
	150	0,230	63,663	
FAM	25	0,450	28,909	126,188
	50	0,420	33,649	
	75	0,366	42,180	
	100	0,346	45,339	
	125	0,324	48,813	
	150	0,287	54,660	

Keterangan : EM : Ekstrak Maserasi; FHM : Fraksi n-heksana hasil maserasi ; FKM : fraksi koroform hasil maserasi ; FETM :fraksi etil asetat hasil maserasi; FAM: fraksi air hasil maserasi.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Hasil Refluks

Tabel V.10. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Hasil Refluks

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
ER	25	0,376	40,600	65,478
	50	0,343	45,813	
	75	0,298	52,922	
	100	0,243	61,611	
	125	0,222	64,928	
	150	0,213	66,035	
FHR	25	0,363	42,634	75,595
	50	0,346	45,339	
	75	0,322	49,131	
	100	0,227	58,331	
	125	0,209	58,327	
	150	0,157	63,343	
FKR	25	0,432	28,394	138,730
	50	0,423	33,175	
	75	0,400	36,308	
	100	0,356	43,739	
	125	0,328	48,499	
	150	0,310	51,026	
FHR	25	0,433	42,634	90,114
	50	0,382	45,453	
	75	0,362	54,541	
	100	0,259	54,754	
	125	0,184	59,716	
	150	0,083	63,663	
FAR	25	0,435	31,279	166,555
	50	0,422	33,333	
	75	0,403	36,018	
	100	0,376	40,800	
	125	0,350	44,708	
	150	0,331	47,551	

Keterangan : ER : Ekstrak Refluks; FHR : Fraksi n-heksana hasil maserasi ; FKR : fraksi koroform hasil maserasi ; FETM :fraksi etil asetat hasil maserasi; FAR: fraksi air hasil maserasi.

Hasil menunjukkan bahwa ekstrak hasilmaserasi menunjukkan IC₅₀ lebih besar (52,084 ppm) dibandingkan dengan ekstrak hasil refluks (65,478 ppm). Dari masing-masing fraksi diperoleh fraksi n-heksanadan etil asetathasil maserasi dengan tingkat intensitas antioksidan kuat (50-100 ppm). Dari perbandingan aktivitas antioksidan sampel terhadap vitamin C yang memiliki IC₅₀ 5,830 ppm diketahui bahwa untuk

mencapai IC₅₀ yang sebanding dengan vitamin C, konsentrasi ekstrak maserasi dari daun srigading dibutuhkan sebanyak 9 kalinya dari konsentrasi vitamin C.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan daun srigading. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dari hasil maserasi (52,084 ppm) lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi refluks (65,478 ppm). Aktivitas antioksidan tertinggi yang ditunjukkan oleh fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dari ekstrak hasil maserasi dengan tingkat intensitas antioksidan kuat (50-100 ppm).

Daftar Pustaka

- Balasubramanian.,M.,(2012). *Study On Phytochemical Screening and antibacterial activityof nyctantes-arbortristis*. Journal Of Chemical and Pharmaceutical Research (3):1689.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000).*Parameter Standar Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan pertama, Direktorat Jendral Pengawasan Mutu Obat dan Makanan, Jakarta.
- Ikhlas, N.(2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*ocimum americanum* Linn) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).
- Koleva.,I.,Van Beek T, Linnsen JpH, de brootA, Eutarieva LN,.(2002). Screening of Plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phyrochemical anal.*494-500.
- Ogata.,dkk.,(1995). *Medicinal Herb Index in Indonesia 2nden* PT.Eisai Indonesia, Jakarta.
- Partomihardjo.,T.,(1999), *Tumbuh-tumbuhan penghasil pewarna dan tannin*. Prosea Indonesia Bogor.
- Rathee, S. Jitesh., Shyam A.Hassarajani, Subrata Chattopadhyay. (2006) Antioxidant activityof *Nyctanthes arbor-tristis leaf extract*. Food Chemistry:1351.
- Tapan.,E. (2005). *Kanker, Antioksidan dan Terapi Komplementer*. PT. Elex Media Komputindo, Jakarta. 103.