

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 13
NOMOR 1
FEBRUARI 2015
ISSN: 1693-2242**

PENERBIT:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Tel. & Fax. +62-271-663375
E-mail: unsjournals@yahoo.com
Online: <http://biosains.mipa.uns.ac.id/C/index.htm>

TERBIT PERTAMA TAHUN:

2003

ISSN:

1693-2242

PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:

S u t a r n o

SEKRETARIS REDAKSI:

Ahmad Dwi Setyawan

PENYUNTING PELAKSANA:

Djoko Santoso
Gut Windarsih
Ratna Setyaningsih
Solichatun
Suratman
Tetri Widiyani

PENYUNTING AHLI:

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

Pengaruh berbagai jenis beras terhadap aktivitas antioksidan pada angkak oleh *Monascus purpureus*

The effect of rice variety to antioxidant activity of red mold rice by *Monascus purpureus*

SURTIKA WANTI, M.A.M. ANDRIANI, NUR HER RIYADI PARNANTO

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 11 Oktober 2014. Revisi disetujui: 26 Desember 2014.

Abstract. Wanti S, Andriani MAM, Parnanto NHR. 2015. The effect of rice variety to antioxidant activity of red mold rice by *Monascus purpureus*. *Biofarmasi* 13: 1-5. Red mold rice is fermentation product using *Monascus* sp. mold. Red color of red mold rice is potential as substitute of synthetic color red and also as natural antioxidant source. The aim of this research is to know the antioxidant activity of red mold rice from white rice, red rice and black rice. This research has been done at Agriculture Product and Manipulated of Process Laboratory, Agriculture Product Technology Department, Agriculture Faculty, Sebelas Maret University of Surakarta, started from Mey until September 2008. Antioxidant test using DPPH and methanol as solute. This research was arranged using Randomized Complete Design with 3 times repeated. The result of this research, showed this white rice having increasing value of antioxidant activity significant after it made red mold rice from 18.40% became 21.24%. Red rice and black rice has a decreasing value of antioxidant activity after made to be red mold rice from red rice is 39.50% became 22.20%, and red mold rice from black rice is 46.20% became 45.01%. Red rice and black rice pigment inhibitor *Monascus purpureus* in secondary metabolite formation in pigment shape, so the antioxidant activity only gets from red rice and black rice.

Keywords: Antioxidant, black rice, DPPH, *Monascus purpureus*, red mold rice, red rice, white rice

PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan hal terpenting dan utama dalam kehidupan manusia. Perkembangan industri dan gaya hidup manusia menimbulkan berbagai dampak, baik dampak positif maupun negatif. Salah satu dampak negatif yang perlu diwaspadai adalah timbulnya berbagai penyakit degeneratif di Indonesia. Para peneliti pangan dan gizi Indonesia untuk saat ini sedang giat mengeksplorasi senyawa-senyawa antioksidan yang berasal dari sumber alami. Radikal bebas merupakan salah satu molekul yang dianggap bertanggung jawab dalam berbagai penyakit yang diderita manusia, termasuk penyakit degeneratif.

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai satu elektron/lebih yang tidak berpasangan biasanya pada rumus bangunnya ditulis dengan titik tebal dibelakang atom atau molekul (R•). Radikal bebas di dalam tubuh sangat berbahaya sebab untuk memperoleh pasangan elektron, ia amat reaktif dan merusak jaringan (Afriansyah 1996).

Untuk itulah, tubuh perlu tambahan asupan antioksidan yang berasal dari luar tubuh yaitu dari makanan yang dikonsumsi. Antioksidan merupakan substansi kimia yang dapat menghambat permulaan (inisiasi) atau memperlambat kecepatan oksidasi pada bahan yang mudah teroksidasi (Fennema 1985). Antioksidan atau reduktor berfungsi untuk mencegah terjadinya oksidasi atau menetralkan senyawa yang telah teroksidasi dengan cara menyumbangkan hidrogen atau elektron (Silalahi 2006). Antioksidan adalah bahan tambahan yang digunakan untuk

melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap) terutama lemak dan minyak. Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok antara lain : antioksidan sintetis yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia dan antioksidan alami yaitu antioksidan hasil ekstraksi bahan alami (Ardiansyah 2007).

Angkak merupakan produk fermentasi menggunakan kapang *Monascus* sp. berasal dari negara Cina. Pembuatan pertama dilakukan oleh Dinasti Ming yang berkuasa di Cina pada abad ke-14 sampai abad ke-17. (Ardiansyah 2005). Warna merah angkak selain berpotensi sebagai pengganti warna merah sintetis sebagai sumber antioksidan alami, yang saat ini penggunaannya sangat luas pada berbagai produk makanan. Kapang *Monascus purpureus* yang ditumbuhkan pada beras sebagai substrat dapat menghasilkan pigmen kuning, merah dan orange. Pigmen yang dihasilkan oleh angkak mengandung zat *antosianin* dari kelompok *flavonoid* yang mempunyai antioksidan kuat yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Purbani 2007). Pigmen warna utama yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada fermentasi angkak adalah *monaskorubrin* dan *monaskoflavin*. Angkak juga mengandung pigmen lovastatin (Kasim et al. 2005).

Beras sebagai substrat memiliki beberapa macam dan warna yang berbeda, secara genetik antara lain beras biasa yang berwarna putih agak transparan karena hanya memiliki sedikit aleuron, dan kandungan amilosa umumnya sekitar 20%. Beras merah, akibat aleuron mengandung gen yang memproduksi *antosianin* yang

merupakan sumber warna merah atau ungu dan beras hitam yang sangat langka disebabkan aleuron dan endospermia memproduksi *antosianin* dengan intensitas tinggi sehingga berwarna ungu pekat mendekati hitam. Di dalam beras merah dan beras hitam terdapat sejumlah komponen bioaktif, seperti pigmen dan senyawa *flavonoid* yang dapat berperan sebagai antioksidan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada angkak, *M. purpureus*, yang terbuat dari berbagai jenis beras yaitu beras putih, beras merah dan beras hitam.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan dan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta. Penelitian dilaksanakan mulai dari Mei sampai September 2008 dengan percobaan pendahuluan dilaksanakan pada April 2008.

Alat dan bahan

Biakan *Monascus* sp. Rendaman beras yang berasal dari tiga jenis beras yaitu beras putih, beras merah, dan beras hitam, serta aquades. Uji antioksidan dengan menggunakan DPPH dan methanol sebagai pelarut.

Alat-alat yang digunakan adalah *encash*, labu takar, pipet, autoklaf, alat pengering, hot plate, bunsen, ose, aluminium foil, erlenmeyer, pengaduk, gelas ukur, tabung reaksi, kapas, *vortex*, timbangan analitik, spektrofotometer UV-Vis dan lain-lain.

Cara kerja

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 3 kali ulangan. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH.

Produksi kapang

Biakan murni *M. purpureus*, diperbanyak dengan memindahkan kultur ke beberapa tabung yang berisi media PDA miring, dan diinkubasi selama 3-5 hari.

Pembuatan suspensi *M. purpureus*

Pembuatan suspensi *M. purpureus* adalah dengan cara menuangkan 2 ml aquadest steril ke media miring biakan murni *M. purpureus*, kemudian digojog menggunakan ose untuk melepaskan spora-spora *Monascus purpureus* dan menuangkannya ke dalam erlenmeyer yang berisi substrat padat beras putih, beras merah maupun beras hitam.

Pembuatan angkak

Angkak dibuat dengan cara memasukkan 100 gram beras rendaman 40 jam ke dalam erlenmeyer, yang kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, didinginkan hingga suhu sekitar 36°C, beras rendaman diinokulasi dengan 2 ml suspensi *M. purpureus*. Setelah itu, campuran tersebut diaduk hingga rata dan diinkubasi pada suhu 27-32°C

selama 30 hari, hingga terbentuknya pigmen merah yang menyelubungi beras yang disebut angkak. Angkak ini kemudian dikeringkan dengan alat pengering pada suhu 35°C selama 15 jam. Pengeringan ini bertujuan untuk mengeringkan angkak. Angkak yang sudah kering kemudian dibuat serbuk. Serbuk angkak diekstrak dengan menggunakan 10 ml metanol.

Uji antioksidan

Analisa terhadap aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. 0,05 gram sampel diekstrak dalam 10 ml methanol, kemudian divortek selama 1 jam atau didiamkan semalam. Dari larutan tersebut diambil 100 µl kemudian diencerkan menjadi 5 ml. Kemudian ditambahkan 0,1 mM DPPH sebanyak 1 ml dan divortek. Simpan dalam ruang gelap selama 30 menit, kemudian di tera absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

Analisa data

Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$. Analisis data dilakukan dengan mengaplikasikan software SPSS 11.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antioksidan beras

Ada tiga jenis beras yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan warnanya antara lain beras putih, beras merah dan beras hitam. Adanya perbedaan warna beras inilah diduga yang menyebabkan aktivitas antioksidan tiap-tiap beras berbeda. Aktivitas antioksidan berbagai jenis beras ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil analisis aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa beras putih, beras merah dan beras hitam memberikan hasil yang berbeda nyata. Pada beras hitam aktivitas antioksidannya paling tinggi jika dibandingkan dengan beras merah dan beras putih. Hal ini disebabkan beras hitam mempunyai pigmen alami yaitu *antosianin* dengan intensitas paling tinggi jika dibandingkan dengan beras merah dan beras putih, sehingga berwarna ungu pekat mendekati hitam. Selain itu menurut Suryono (2008), beras hitam juga kaya materi aktif flavonoid yang kadarnya lima kali lipat daripada beras putih. Apabila kadar antosianin tinggi maka aktivitas antioksidan tinggi. Dengan demikian, aktivitas antioksidan beras hitam menjadi lebih tinggi jika dibandingkan dengan beras yang lain.

Beras merah juga mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan beras putih, tetapi lebih rendah daripada beras hitam. Hal ini disebabkan beras merah memiliki pigmen alami yaitu antosianin dengan intensitas rendah yang merupakan sumber warna merah, yang juga berperan sebagai antioksidan. Sedangkan pada beras putih tidak memiliki pigmen alami seperti pada beras merah dan beras hitam. Hal inilah yang menyebabkan pada beras putih memiliki aktivitas antioksidan yang paling rendah.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan berbagai jenis beras

Sampel	Aktivitas antioksidan (%)
Beras putih	18.40a
Beras merah	39.50b
Beras hitam	46.20c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji Duncan 5% (berlaku pada kolom yang sama)

Tabel 2. Rerata aktivitas antioksidan angkak dari berbagai jenis beras

Sampel	Aktivitas antioksidan (%)
Angkak dari beras putih	21.24a
Angkak dari beras merah	22.20a
Angkak dari beras hitam	45.01b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji Duncan 5% (berlaku pada kolom yang sama).

Tabel 3. Aktivitas antioksidan berbagai jenis beras dan angkak

Sampel	Aktivitas antioksidan (%)
Beras putih	18.40a
Beras merah	39.50b
Beras hitam	46.20c
Angkak dari beras putih	21.24d
Angkak dari beras merah	22.20d
Angkak dari beras hitam	45.01c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji Duncan 5% (berlaku pada kolom yang sama).

Pengujian DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0.05$, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan beras putih, beras merah dan beras hitam memberikan hasil yang berbeda nyata.

Aktivitas antioksidan angkak

Perbedaan warna beras yang digunakan dalam pembuatan angkak mempengaruhi besar kecilnya aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada angkak. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pigmen yang terdapat pada tiap-tiap jenis beras mempengaruhi tingkat aktivitas antioksidan pada angkak. Pada proses fermentasi dalam pembuatan angkak, selain menghasilkan sel, *M. purpureus* juga menghasilkan metabolit sekunder berupa pigmen *Monascorubrin* yang berwarna merah. Pigmen ini bersifat larut dalam air, kloroform, aseton, etanol dan metanol (Tisnadaja 2006). Warna merah yang dihasilkan oleh *M. purpureus* merupakan pigmen alami yang mengandung *antosianin* yang berperan sebagai antioksidan (Purbani 2007). *Antosianin* merupakan sekelompok zat warna berwarna kemerahan yang larut di dalam air dan termasuk senyawa *flavonoid* (Kumalaningsih 2006). Apabila kadar

antosianin tinggi maka aktivitas antioksidannya tinggi. Menurut Ninan (2006), *antosianin* mempunyai aktivitas antioksidan dua kali lipat dibandingkan katekin dan alfa-tokoferol. Hal inilah yang menyebabkan aktivitas antioksidan pada angkak berbeda-beda. Aktivitas antioksidan angkak yang dibuat dari bahan baku beras putih, beras merah dan beras hitam ditunjukkan pada Tabel 2.

Hasil analisis aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa angkak yang terbuat dari beras putih dan angkak yang terbuat dari beras merah memiliki aktivitas antioksidan yang tidak berbeda nyata. Walaupun aktivitas antioksidan angkak dari beras merah lebih tinggi, karena adanya pigmen alami yang dimiliki beras merah yaitu *antosianin* yang berperan sebagai antioksidan, tetapi perbedaan itu tidak besar. Hal ini disebabkan, adanya pigmen dalam beras merah ini diduga dapat menghambat pertumbuhan *M. purpureus* selama proses fermentasi dalam pembuatan angkak untuk menghasilkan metabolit sekunder berupa pigmen alami yang mengandung *antosianin*, yang juga berperan sebagai antioksidan. Sehingga pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus* berjalan lambat. Sedangkan pada beras putih karena tidak memiliki pigmen alami, jadi selama proses fermentasi dalam pembuatan angkak, *M. purpureus* dalam pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen dapat berjalan dengan baik, sehingga pembentukan pigmen pada angkak oleh *M. purpureus* yang mengandung *antosianin* dapat terbentuk dengan baik. Hal inilah yang menyebabkan angkak dari beras merah memiliki aktivitas antioksidan yang tidak berbeda nyata dengan angkak dari beras putih.

Angkak yang terbuat dari beras hitam mengalami kenaikan aktivitas antioksidan secara nyata jika dibandingkan dengan angkak dari beras merah dan angkak dari beras putih. Hal ini disebabkan, karena beras hitam memiliki pigmen alami yaitu *antosianin* dengan intensitas paling tinggi, dimana adanya pigmen ini menyebabkan aktivitas antioksidannya tinggi. Walaupun dengan adanya pigmen dalam beras hitam tersebut memberikan penghambatan yang besar terhadap *M. purpureus* dalam pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen selama proses fermentasi pembuatan angkak. Tetapi hal ini tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan angkak yang terbuat dari beras hitam, sehingga aktivitas antioksidannya tetap tinggi daripada angkak dari beras putih dan angkak dari beras merah. Dengan pengujian DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0.05$, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan angkak yang terbuat dari beras hitam memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap angkak yang terbuat dari beras merah dan beras putih.

Aktivitas antioksidan antara beras dengan angkak

Pembuatan angkak selama ini dilakukan dengan menggunakan beras sebagai substrat. Beras yang cocok digunakan sebagai substrat adalah beras yang memiliki kadar amilosa tinggi, tetapi rendah amilopektin (F.G. Winarno dan Titi S.R, 1994). Selain itu, beras juga mengandung nutrisi yang dibutuhkan *M. purpureus* untuk pertumbuhan. Dalam penelitian ini menggunakan tiga jenis

beras yang berbeda warnanya antara lain beras putih, beras merah dan beras hitam. Adanya perbedaan warna ini memberikan aktivitas antioksidan yang berbeda setelah dibuat menjadi angkak. Aktivitas antioksidan beras putih, beras merah dan beras hitam serta aktivitas antioksidan beras setelah dibuat menjadi angkak disajikan pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil analisis aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa beras putih setelah dibuat menjadi angkak mengalami kenaikan secara nyata. Hal ini disebabkan, aktivitas antioksidan beras putih rendah karena tidak adanya pigmen alami. Tetapi tidak adanya pigmen alami dalam beras putih inilah yang menyebabkan selama proses fermentasi pembuatan angkak oleh *M. purpureus* dalam pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen dapat berjalan dengan baik. Hal ini ditunjukkan selama proses fermentasi, angkak yang terbuat dari beras putih, butiran-butiran berasnya dapat tertutup oleh miselia kapang *M. purpureus* dengan sempurna, sehingga warnanya terlihat merah pekat. Menurut Wong dan Koehler (1981), pigmen *M. purpureus* terakumulasi pada miselia. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak miselia yang terdapat pada beras, kandungan pigmennya juga akan semakin tinggi. Dengan demikian, semakin tinggi pigmen yang dihasilkan *M. purpureus* semakin tinggi juga aktivitas antioksidan angkak tersebut. Hal inilah yang menyebabkan aktivitas antioksidan beras putih berbeda nyata setelah dibuat menjadi angkak.

Berbeda dengan beras merah yang digunakan sebagai substrat dalam pembuatan angkak, aktivitas antioksidannya mengalami penurunan yang nyata setelah menjadi angkak. Hal ini diduga karena antosianin yang terdapat dalam pigmen beras merah mengalami kerusakan selama proses sterilisasi media yang digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan *M. purpureus*, sedangkan antosianin yang terdapat dalam pigmen beras merah intensitasnya rendah. Rendahnya intensitas pigmen yang dimiliki beras merah inilah diduga yang menyebabkan kerusakan antosianin besar. Menurut Deman (1997), antosianin bersifat tidak stabil dan laju kerusakan lebih cepat pada suhu tinggi. Selain itu, adanya pigmen dalam beras merah juga menghambat *M. purpureus* dalam pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen merah selama proses fermentasi pembuatan angkak. Hal ini ditunjukkan pada saat proses fermentasi, angkak yang terbuat dari beras merah butiran-butiran berasnya tidak dapat tertutup sempurna oleh miselia kapang, sehingga warnanya tidak terlihat merah pekat. Sedangkan pada beras merah sebelum dibuat menjadi angkak memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, karena tidak adanya perlakuan apapun dalam pengujian. Sehingga pigmen alami yaitu antosianin yang terdapat pada beras merah masih tinggi. Hal inilah yang menyebabkan aktivitas antioksidan angkak dari beras merah mengalami penurunan yang nyata dibandingkan dengan beras merah awal.

Hasil penelitian dari beras hitam setelah dibuat menjadi angkak menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya mengalami penurunan yang tidak berbeda nyata. Beras hitam memiliki penghambatan yang lebih tinggi pada *M. purpureus* dalam pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen. Hal ini dikarenakan beras hitam memiliki pigmen

alami yaitu antosianin dengan intensitas tinggi, tetapi hal ini tidak berpengaruh terhadap penurunan aktivitas antioksidan pada angkak yang dihasilkan. Selain itu, adanya proses sterilisasi pada beras hitam juga tidak memberikan penurunan yang besar terhadap aktivitas antioksidan angkak yang dihasilkan. Hal ini disebabkan, karena pada beras hitam aktivitas antioksidannya sudah tinggi dengan adanya pigmen alami yaitu antosianin dengan intensitas yang paling tinggi. Apabila kadar antosianin tinggi maka aktivitas antioksidannya tinggi. Hal inilah yang menyebabkan aktivitas antioksidan angkak yang dibuat dari beras hitam tidak mengalami penurunan yang berbeda nyata dengan beras hitam awal.

Mekanisme penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menambahkan larutan DPPH 10⁻⁴ M sebagai radikal sintesis dalam ekstrak angkak dari berbagai jenis beras. Metode DPPH dipilih karena sederhana dan efektif untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari bahan alam. Besar aktivitas antioksidan pada angkak ditunjukkan dengan semakin besarnya penurunan intensitas warna ungu pada larutan yang dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm. Pokorny et. al (2001) menjelaskan bahwa penurunan absorbansi terjadi karena penambahan elektron dari senyawa antioksidan pada elektron yang tidak berpasangan pada gugus nitrogen dalam struktur senyawa DPPH.

KESIMPULAN

Beras putih mengalami kenaikan aktivitas antioksidan secara nyata setelah dibuat menjadi angkak yaitu 18.40% menjadi 21.24%. Beras merah dan beras hitam (39.50% dan 46.20%) menunjukkan adanya penurunan aktivitas antioksidan setelah dibuat menjadi angkak beras merah (22.20%) dan angkak beras hitam (45.01%). Adanya pigmen yang dimiliki beras merah dan beras hitam menghambat pertumbuhan *M. purpureus* untuk pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen, sehingga aktivitas antioksidannya hanya berasal dari beras merah dan beras hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianyah N. 1996. Radikal bebas dikenal untuk dikendalikan. Sadar Pangan dan Gizi 5 (1): 6-7.
- Ardiansyah. 2005. Minum Angkak Menyehatkan. www.beriptek.com/angkak. (16 Februari 2008).
- Ardiansyah. 2007. Antioksidan dan Perannya Bagi Kesehatan. www.ardiansyah.multiply.com/ (16 Februari 2008).
- Deman J. 1997. Kimia Makanan. Edisi kedua. Penerbit ITB. Bandung.
- Fennema O. 1985. Food Chemistry. 2nd ed. Marcell Dekker, Inc., New York
- Kasim E, Astuti S, Nurhidayat N. 2005. Karakterisasi pigmen dan kadar lovastatin beberapa isolat *Monascus purpureus*. Biodiversitas 6 (4): 245-247.
- Kumalaningsih S. 2006. Antioksidan Alami. Penerbit Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Ninan L. 2006. Antosianin. www.kompas.com/kompas-cetak/0301/23/htm. (16 Februari 2008).
- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. 2001. Antioxidant in Food. CRC Press, Cambridge, England.

- Purbani E. 2007. Tiga Bahan Alami Untuk DBD. www.agrina-online.com/show_article.php. (16 Februari 2008).
- Silalahi J. 2006. Makanan Fungsional. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Suryono J. 2008. Beras Hitam. www.griyokulo.tv/beras%2520hitam.html. (16 Februari 2008).
- Tisnadjaja Dj. 2006. Bebas Kolesterol, Demam Berdarah dengan Angkak. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Winarno FG, Rahayu, Sulistyowati T. 1994. Bahan Tambahan Untuk Makanan dan Kontaminan. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Wong HC, Koehler PE. 1981. Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pig production, J Food Sci 42 (2): 589-592.

Kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan variasi teknik pengeringan dan warna kain penutup

Curcuminoid content, total phenol and antioxidant activity of curcuma oleoresin (*Curcuma xanthorrhiza*) in various drying technique and fabric colors closing

AGUNG ADI NUGRAHA, KAWIJI, WINDI ATMAKA

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 1 Juli 2014. Revisi disetujui: 11 September 2014.

Abstract. Nugraha AA, Kawiji, W Atmaka. 2015. Curcuminoid content, total phenol and antioxidant activity of curcuma oleoresin (*Curcuma xanthorrhiza*) in various drying technique and fabric colors closing. *Biofarmasi* 13: 6-14. Curcuma is a medicinal plant that has many health benefits because of the content of active compounds such as curcuminoids, phenolic compounds, and antioxidants. One is by making use of curcuma oleoresin. Curcuma oleoresin is a mixture of oil and resins produced from curcuma shaped viscous liquid, has a sharp smell and taste like turmeric. Created with the extract of curcuma oleoresin from curcuma powder with a maceration method and then performed the separation of materials and solvents with a rotary evaporator. This study aims to determine the effect of drying techniques and cover fabric color with interaction the two of them on serum antioxidant activity, total phenol and concentration curcuminoids curcuma oleoresin. This research using Completely Randomized Design (CRD) with two factors: variety of drying techniques (solar dryer and direct sunlight) and the color of the fabric cover (without cover, black dan white linen cloth). The treatments were as follows: SMK (sun without fabric cover), SMP (Sunlight white cloth), SMH (Sunlight black cloth), SDK (solar dryer without fabric cover), SDP (Solar Dryer white cloth), SDH (Solar Dryer black cloth). The results showed that using of solar dryer and cloth covering influential on serum antioxidant activity, total phenol, and curcuminoids concentration of curcuma oleoresin. Besides, the interaction between drying techniques and cover fabric color occur on concentration of total phenol, but not on antioxidant activity and concentration of curcuminoids. Whereas, solar dryer white cloth combination has effective on drying techniques to minimize of active compounds damage of the curcuma oleoresin better than other combination.

Keywords: Curcuma oleoresin, curcuminoids, antioxidant activity, total phenol

PENDAHULUAN

Temulawak merupakan tanaman obat yang tumbuh merumpun dengan tinggi mencapai 1-2 m. Tanaman ini merupakan tanaman asli Indonesia yang penyebarannya dimulai dari kawasan Indo-Malaysia. Saat ini tanaman temulawak selain di Asia Tenggara dapat ditemui pula di Cina, IndoCina, Bardabos, India, Jepang, Korea, Amerika Serikat dan beberapa negara Eropa (Depkes RI 1985). Menurut data dari BPS dalam Sembiring et al. (2006) ekspor rimpang temulawak Indonesia tahun 2003 sebesar 5.452 juta US\$ dengan jumlah 9.149 ton rimpang temulawak. Sedangkan di Jawa Tengah kebutuhan industri terhadap rimpang temulawak menempati urutan pertama jika dibandingkan dengan bahan baku obat lainnya yang mencapai sekitar 3,140 ton/tahun berat segar (Kemala et al. 2003).

Kandungan utama pada rimpang temulawak terdiri dari fraksi pati, kurkuminoid dan minyak atsiri. Pati pada rimpang temulawak merupakan komponen yang paling besar yaitu sekitar 48,18-59,64% (Sidik et al. 1985). Kurkuminoid merupakan zat warna kuning pada temulawak yang terdiri dari senyawa kurkumin,

desmetoksi kurkumin dan bis desmetoksi kurkumin. Sedangkan menurut Rukmana (1995) minyak atsiri rimpang temulawak merupakan cairan berwarna kuning atau kuning jingga yang mempunyai rasa tajam dan bau khas aromatik dengan kadar berkisar 3-12%. Kurkuminoid dan komponen yang menyusun minyak atsiri seperti kamfor, turmeron, xanthorrhizol dll merupakan senyawa fenol yang bersifat sebagai antioksidan karena kemampuannya meniadakan radikal-radikal bebas dan menghambat terbentuknya oksidasi lipida (Sidik et al. 1985).

Salah satu pemanfaatan rimpang temulawak yaitu dengan mengekstrak rimpang temulawak dengan menggunakan pelarut organik kemudian dilakukan proses evaporasi sehingga menjadi suatu produk yang disebut oleoresin. Oleoresin merupakan campuran minyak dan resin atau gum yang dihasilkan melalui ekstraksi menggunakan pelarut organik dari berbagai jenis rempah baik yang berasal dari buah, biji, daun, kulit maupun rimpang (Abubakar et al. 2006). Oleoresin bisa berbentuk cairan kental, pasta atau semi padat, yang memiliki aroma rasa sesuai dengan bahan yang diekstrak. Pemanfaatan oleoresin biasanya digunakan sebagai bahan baku flavor

pada industri makanan, bahan baku obat dan kosmetik, dan sebagai bahan pewarna makanan (Depkes RI 1985).

Proses pembuatan oleoresin dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan mengekstrak langsung dari temulawak segar dan melalui proses pengeringan. Tujuan dilakukan proses pengeringan dalam pembuatan oleoresin adalah menstandarkan bahan yang dibuat menjadi oleoresin. Selain itu bahan yang dikeringkan terlebih dahulu juga lebih awet, tidak mudah rusak dan tahan disimpan dalam waktu lama. Proses pengeringan yang efektif sangat dibutuhkan dalam menghasilkan simplisia yang berkualitas baik. Dengan proses pengeringan yang efektif dapat meminimalkan terjadinya kerusakan pada bahan yang dikeringkan. Pada umumnya proses pengeringan pada simplisia dilakukan dengan cara penjemuran langsung dibawah sinar matahari. Cara ini dianggap oleh masyarakat merupakan cara yang sederhana dan praktis karena tidak membutuhkan biaya yang mahal dan dapat dilakukan oleh semua orang. Akan tetapi bila dilihat dari segi kualitas simplisia yang dihasilkan maka cara ini kurang efektif meminimalkan terjadinya kerusakan terhadap senyawa yang terkandung dalam temulawak.

Salah satu cara alternatif yang dapat digunakan untuk meminimalkan terjadinya kerusakan senyawa yang terkandung dalam temulawak yaitu proses pengeringan solar dryer. Solar dryer merupakan alat pengeringan buatan yang masih menggunakan sinar matahari sebagai sumber panasnya. Prinsip pengeringan solar dryer berasal dari dua arah yaitu radiasi matahari dan aliran udara panas dari bawah yang kemudian dibuang keluar menggunakan blower (Rachman 2009). Selain solar dryer, cara yang dapat digunakan untuk meminimalkan terjadinya kerusakan senyawa pada temulawak adalah dengan menggunakan kain penutup. Kain penutup dapat berfungsi sebagai pelindung temulawak dari sinar UV dan dapat menghalangi sinar matahari langsung masuk ke mengenai temulawak. Menurut Hartiwi (2001), tujuan pengeringan dengan penutup kain hitam adalah untuk menghalangi sinar matahari agar tidak langsung mengenai temulawak sehingga kerusakan kurkuminoid karena cahaya dapat diminimalkan. Warna kain berbeda juga dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif pada temulawak. Hal ini disebabkan karena panjang gelombang warna tersebut berbeda-beda.

Kandungan senyawa aktif pada temulawak khususnya kurkuminoid dan antioksidan merupakan senyawa yang penting dalam temulawak karena sifatnya sebagai antioksidan yang dapat meniadakan radikal-radikal bebas dan menghambat terbentuknya oksidasi lipida sehingga dapat mencegah penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal-radikal bebas tersebut. Kedua senyawa tersebut rentan mengalami kerusakan akibat proses pengeringan. Untuk itu perlu dilakukan proses penanganan yang baik agar dapat meminimalkan terjadinya kerusakan terhadap senyawa aktif tersebut. Dengan mempertimbangkan hal-hal tersebut, seperti potensi sumber daya alam Indonesia yang cukup besar untuk menghasilkan rimpang temulawak, perlunya proses pengeringan yang efektif terhadap temulawak serta manfaat yang begitu banyak dari penggunaan oleoresin maka penelitian ini ditujukan untuk

mengetahui kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dengan variasi teknik pengeringan dan warna kain penutup.

Tujuan dari penelitian ini adalah: Mengetahui pengaruh teknik pengeringan terhadap kadar kurkuminoid, total fenol dan antioksidan oleoresin temulawak. Mengetahui pengaruh warna kain penutup terhadap kadar kurkuminoid, total fenol dan antioksidan oleoresin temulawak. Mengetahui pengaruh interaksi teknik pengeringan dan warna kain penutup terhadap kadar kurkuminoid, total fenol dan antioksidan oleoresin temulawak.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Pangan dan Gizi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Laboratorium CV. Chem-Mix Pratama Bantul, Yogyakarta dan Institusi Obat dan Bahan Alam, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini dilaksanakan dalam jangka waktu 4 bulan mulai bulan Februari-Mei 2010.

Bahan dan alat

Bahan utama dalam penelitian ini berupa rimpang temulawak yang dirajang dengan ukuran 3 mm. Dalam proses ekstraksi temulawak pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk analisis antara lain: analisis kadar air: toluene (xylene); analisis kadar kurkuminoid: kurkuminoid standar, etanol 96%; analisis antioksidan: dpsh (diphenyl picrylhydrazyl), etanol; analisis total fenol: aquadest, folin ciocalteu, Na_2CO_3 dan asam galat.

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan oleoresin temulawak adalah 3 buah tampah, 1 solar dryer, kain hitam dan putih (masing-masing 2 buah), mesin penepungan dengan saringan kecil, ayakan 80 mesh, rotary evaporator, pipet, beaker glass, pompa vacum, kertas saring dan termometer. Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisis antara lain: analisis kadar air: pipet volume, labu destilasi, pipet, alat destilasi. analisis kadar kurkuminoid: spektrofotometer uv-vis, beaker glass, pipet, gelas ukur, vortex, tabung reaksi. analisis antioksidan: spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, pipet volume dan vortex; analisis total fenol: erlenmeyer 100 ml, gelas ukur, shaker (vortex), tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, beaker glass, labu takar 10 ml, pengaduk, pipet.

Tahap penelitian

Penyiapan. Rimpang temulawak yang digunakan berasal dari Kecamatan Baturetno, Wonogiri, Jawa Tengah dengan umur rata-rata 10-12 bulan. Kemudian rimpang tersebut dicuci sampai bersih dan dilakukan proses perajangan dengan menggunakan slicer. Proses perajangan dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan. Ketebalan rimpang temulawak mengacu pada Raharjo dan

Rostiana (2005) sekitar 3 mm yang kemudian ditimbang 800 g untuk masing-masing sampel.

Pengeringan. Proses pengeringan rimpang temulawak dilakukan dengan 2 cara yaitu pengeringan sinar matahari langsung dan solar dryer. Tiap pengeringan dilakukan perlakuan berupa: tanpa ditutup kain, ditutup kain putih dan ditutup kain hitam. Proses pengeringan tersebut dihentikan sampai kadar air rimpang temulawak sebesar 12% (rim pang kering bisa dipatahkan) yang mengacu pada Depkes RI (1985). Pengujian kadar air dilakukan dengan pengambilan sampel secara acak dengan menggunakan metode thermovolumetri (Sudarmajdi et al. 1997).

Penepungan. Proses penepungan simplisia temulawak dilakukan dengan menggunakan mesin penepung saringan berukuran kecil untuk menghasilkan bubuk temulawak. Selanjutnya bubuk temulawak dilakukan proses pengayakan dengan ayakan berukuran 80 mesh dengan menggunakan mesin pengayak.

Ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode yang mengacu pada Eryanto dan Murliana (2009) yang dipadukan dengan Zahro et al. (2009). Ekstraksi temulawak dilakukan dengan cara maserasi dengan perbandingan bahan dan pelarut 1: 5 (b/v) selama 1 x 24 jam pada suhu ruang (28-30°C) dan dilakukan pengadukan sebanyak 20 kali dengan arah pengadukan searah jarum jam. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi rimpang temulawak adalah etanol 96%.

Penyaringan. Proses penyaringan untuk memisahkan antara ampas (endapan) dan filtrat pada ekstrak temulawak dilakukan dengan pompa vacum untuk mempercepat proses penyaringan pada ekstrak temulawak.

Evaporasi. Proses pembuatan oleoresin temulawak menggunakan alat rotary vacum evaporator pada suhu 75°C dengan kecepatan yang konstan dan proses ini dihentikan setelah pelarut etanol teruapkan semua serta didapatkan oleoresin yang berbentuk pasta. Dalam proses evaporasi ini terjadi pemisahan antara pelarut dengan oleoresin berdasarkan perbedaan titik didih dengan menggunakan putaran dan pemvakuman.

Analisis senyawa aktif oleoresin temulawak. Metode analisis senyawa aktif pada oleoresin temulawak ditunjukkan pada Tabel 1.

Rancangan penelitian

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu variasi teknik pengeringan (solar dryer dan sinar matahari langsung) dan warna kain penutup (tanpa penutup, kain hitam dan kain putih) dengan ulangan tiga kali tiap sampelnya. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan two way ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan masing-masing perlakuan dan interaksi pada kedua perlakuan tersebut pada pada tingkat $\alpha = 0,05$, kemudian dilanjutkan dengan one way ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing sampel dengan kedua perlakuan tersebut pada tingkat $\alpha = 0,05$.

Tabel 1. Metode analisis senyawa aktif oleoresin temulawak

Macam uji	Metode
Kurkuminoid	Spektrofotometer UV-visible
Total fenol	Folin Ciocalteu
Antioksidan	DPPH yang kemudian dilanjutkan dengan uji pembandingan menggunakan asam askorbat

Tabel 2. Rancangan Percobaan Acak lengkap dengan dua factor

Teknik Pengeringan Warna kain Penutup	Teknik perhitungan	
	SM	SD
K	SMK	SDK
P	SMP	SDP
H	SMH	SDH

Keterangan: SM = Sinar Matahari langsung, SD = Solar Dryer, K = tanpa ditutup kain, P = ditutup kain putih, H = ditutup kain hitam

HASIL DAN PEMBAHASAN

Oleoresin temulawak merupakan salah satu produk olahan temulawak yang berbentuk cairan kental atau pasta yang memiliki aroma dan rasa temulawak. Oleoresin temulawak dibuat dengan mengekstrak bubuk temulawak dengan metode maserasi yang kemudian dilakukan pemisahan bahan dan pelarut dengan menggunakan rotary evaporator. Dalam pembuatan bubuk temulawak, temulawak terlebih dahulu dilakukan proses perajangan dan pengeringan hingga terbentuk simplisia yang kemudian ditepungkan menjadi bubuk temulawak. Perlakuan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan 2 faktor yaitu variasi teknik pengeringan (solar dryer dan sinar matahari langsung) dan warna kain penutup (tanpa penutup, kain hitam dan kain putih). Adapun parameter yang diamati dalam pengujian meliputi kadar air, kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan.

Sesuai dengan tujuan penelitian yang dikehendaki, penelitian ini dibagi menjadi 3 bagian yaitu membandingkan pengaruh teknik pengeringan terhadap kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak, membandingkan pengaruh warna kain penutup terhadap kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak dan pengaruh interaksi antara teknik pengeringan dengan warna kain penutup terhadap kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak.

Kadar air

Air merupakan salah satu unsur penting dalam bahan makanan. Meskipun bukan merupakan sumber nutrisi, tetapi air sangat esensial dalam kelangsungan proses biokimiawi organisme. Dalam bahan pangan air berfungsi untuk menentukan bentuk, ukuran, kenampakan, kesegaran, cita rasa dan daya simpan suatu bahan pangan. Terdapatnya air dalam bahan makanan karena adanya dua tipe pengikat yaitu pengikat air secara kimia dan pengikat air secara fisik. Air yang terikat secara kimia merupakan

komponen penyusun dan merupakan bagian dari komposisi kimia bahan makanan tersebut. Lain halnya untuk air yang terikat secara fisik oleh bahan makanan, air ini mempunyai kekuatan fisik yang cukup sehingga air yang diserap atau diikat oleh bahan akan saling tarik-menarik dengan molekul bahan. Untuk itu bisa dilakukan pengurangan kadar air dengan cara dikeringkan. Kadar air bahan merupakan jumlah air yang terikat secara fisik dalam bahan sehingga bahan dapat dinyatakan sebagai suatu material basah atau kering. Jumlah kandungan air dalam bahan makanan akan mempengaruhi daya tahan bahan terhadap serangan mikrobial. Dengan demikian, pengurangan kadar air hingga jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang daya tahan bahan makanan selama penyimpanan (Siswanto dan Widiyastuti 2004).

Salah satu parameter utama untuk menentukan kualitas simplisia temulawak adalah dengan menentukan kadar airnya. Kadar air simplisia temulawak menurut Depkes RI (1979) dalam penelitiannya Sembiring et al. (2006) adalah maksimal 12%. Hasil analisis kadar air simplisia bubuk temulawak dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar air simplisia bubuk temulawak dengan 3 kali ulangan adalah 11,4029%; 11,4147%; 11,4620% dengan nilai rata-rata adalah 11,4265%. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air simplisia bubuk temulawak pada keseluruhan sampel yang diwakili dari pengambilan sebagian pada masing-masing sampel berada di angka <12%. Sampel-sampel tersebut memenuhi karakteristik mutu simplisia temulawak yang dinyatakan oleh Depkes RI (1979) dalam penelitiannya Sembiring et al. (2006) yang mengatakan bahwa kadar air simplisia temulawak maksimal 12%. Jika dilihat dari standar mutu simplisia temulawak menurut RSNi (2006) untuk bahan baku obat nilai kadar air simplisia temulawak maksimal 10% maka nilai kadar air pada sampel tersebut tidak memenuhi standar yaitu >10% karena proses pengeringan pada sampel temulawak ini dihentikan sampai temulawak tersebut bisa dipatahkan. Untuk mengukur kadar air simplisia tersebut diperlukan suatu indikator yang berupa penghentian proses pengeringan. Penghentian proses pengeringan mengacu pada Cahyano (2007) yang mengatakan bahwa pada umumnya indikator yang digunakan oleh para petani dalam memperoleh gambaran mengenai kadar air simplisia jika simplisia tersebut bisa dipatahkan. Umumnya kadar air simplisia yang bisa dipatahkan kira-kira antara 10-12%.

Kadar Kurkuminoid

Kurkuminoid merupakan zat warna yang memiliki sifat dapat larut dalam pelarut minyak dan mudah larut dalam larutan basa tetapi tidak larut dalam air pada keadaan pH asam ataupun netral. Kurkuminoid bersifat stabil terhadap suhu tinggi dan dalam keadaan asam tetapi tidak stabil dalam kondisi basa dan terhadap cahaya (Stankovic 2004). Sifat kurkuminoid yang penting adalah aktivitasnya terhadap cahaya. Bila kurkumin terkena cahaya, akan terjadi dekomposisi struktur berupa siklisasi kurkumin atau terjadi degradasi struktur (Tonnesen dan Karsen 1985). Produk degradasi kurkumin adalah asam ferulat,

feruloilaldehid, dihidroksinaftalen, vinilguaikol, vanillin dan asam vanilat (Price dan Buescher 1996).

Pengaruh teknik pengeringan

Pada penelitian ini, perlakuan pengeringan dilakukan dengan dua cara yaitu dengan sinar matahari langsung dan solar dryer. Pengeringan sinar matahari dilakukan dengan cara menjemur temulawak langsung dibawah terik matahari. Sedangkan pengeringan solar dryer dilakukan dengan alat sederhana yang masih menggunakan bantuan sinar matahari sebagai sumber panasnya. Hasil pengujian analisis kadar kurkuminoid oleoresin temulawak dengan perlakuan teknik pengeringan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan pengeringan sinar matahari langsung dan solar dryer memiliki kadar kurkuminoid yang saling berbeda nyata. Sampel dengan perlakuan sinar matahari langsung mempunyai kadar kurkuminoid sebesar 2,515 %. Sedangkan sampel dengan solar dryer mempunyai kadar kurkuminoid sebesar 2,828%. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa kadar kurkuminoid pada perlakuan sinar matahari langsung lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan solar dryer. Pada umumnya pengeringan sinar matahari langsung memiliki suhu yang relatif lebih tinggi yang berkisar antara 28-45°C (Zahro 2009). Dengan sifat kurkuminoid stabil terhadap suhu tinggi maka seharusnya tidak terjadi proses degradasi kurkuminoid (Stankovic 2004). Tetapi kestabilan itu hanya terjadi pada kurkuminoid standar (murni) jika dipanaskan sedangkan untuk ekstrak kurkuminoid dari suatu bahan kurang stabil terhadap suhu tinggi (Pudjihartati 1999). Selain suhu yang relatif lebih tinggi, proses degradasi kurkuminoid juga disebabkan oleh sinar UV. Hal itu ditandai dengan pucatnya warna simplisia yang dihasilkan pada pengeringan sinar matahari.

Pengeringan solar dryer merupakan proses pengeringan dengan bantuan alat yang berupa solar dryer tetapi masih menggunakan sinar matahari sebagai sumber panasnya. Prinsip pengeringan solar dryer berasal dari dua arah yaitu radiasi matahari dan aliran udara panas dari bawah yang kemudian dibuang keluar menggunakan blower sehingga menyebabkan suhu pengeringan di dalam solar dryer lebih rendah (Rachman 2009). Proses pengeringan solar dryer ini lebih efektif untuk meminimalkan terjadinya degradasi kurkuminoid jika dibandingkan dengan pengeringan sinar matahari langsung. Hal ini dibuktikan dengan warna simplisia temulawak yang lebih cerah dan kadar kurkuminoid yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan sinar matahari langsung.

Selain itu, pengeringan solar dryer juga dapat melindungi temulawak dari sinar UV karena desain solar dryer yang seluruhnya tertutup oleh plastik bening dengan blower di atas sehingga pengeringan solar dryer merupakan pengeringan yang efektif untuk mempertahankan kandungan kurkuminoid dari suhu dan sinar UV yang dihasilkan dari sumber panas yang berupa sinar matahari. Menurut Zahro (2009), penyebab degradasi kurkuminoid pada proses pengeringan dengan menggunakan sinar matahari adalah sinar UV. Dari kedua teknik pengeringan

tersebut yang berperan besar dalam mengakibatkan terjadinya degradasi kurkuminoid adalah sinar UV yang dihasilkan dari proses pengeringan yang sama-sama menggunakan sinar matahari. Hal tersebut sesuai dengan sifat kurkuminoid yang sensitif terhadap cahaya.

Pengaruh warna kain penutup

Dalam penelitian ini, perlakuan penggunaan kain penutup pada masing-masing teknik pengeringan dilakukan dengan tiga cara yaitu tanpa menggunakan kain penutup, menggunakan kain penutup warna putih dan menggunakan kain penutup warna hitam. Fungsi kain penutup pada pengeringan adalah untuk melindungi bahan yang dikeringkan dari panas sinar matahari yang dapat menyebabkan rusaknya kandungan dalam bahan yang dikeringkan. Hasil pengujian analisis kadar kurkuminoid oleoresin temulawak dengan perlakuan penggunaan kain penutup yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kadar kurkuminoid pada perlakuan penggunaan kain penutup pada masing-masing teknik pengeringan berbeda nyata. Hal tersebut dibuktikan dengan berbedanya huruf yang mengikuti kadar kurkuminoid pada tiap-tiap perlakuan. Kadar kurkuminoid pada sampel perlakuan tanpa penutup kain, dengan kain putih dan kain hitam berturut-turut yaitu 2,369%; 2,980% dan 2,666%. Dari data tersebut, kadar kurkuminoid tertinggi terdapat pada sampel dengan perlakuan kain penutup putih sedangkan kadar kurkuminoid terendah terdapat pada sampel perlakuan tanpa penutup kain. Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan perlakuan penggunaan penutup kain dapat melindungi kandungan kurkuminoid pada temulawak dari suhu dan sinar UV yang dihasilkan selama proses pengeringan. Seperti sifat kurkuminoid yang sensitif terhadap cahaya (Tonnesen dan Karsen 1985), maka dengan penggunaan kain penutup dapat meminimalkan terjadinya degradasi kurkuminoid akibat sinar UV yang dihasilkan selama proses pengeringan.

Jika dilihat dari perlakuan penutup kain putih dan hitam, perlakuan penutup kain putih memiliki kadar kurkuminoid yang lebih tinggi dari pada penutup kain hitam karena warna kain putih bersifat memantulkan semua spectrum cahaya. Berbeda dengan warna hitam, sifat warna hitam adalah menyerap semua spectrum cahaya sehingga energi radiasi yang diterima pada warna hitam menjadi semakin besar seiring bertambahnya spectrum cahaya yang diserap yang menyebabkan warna hitam menyerap panas lebih besar dari warna lainnya (Yadie 2009). Dengan sifatnya warna hitam yang menyerap semua spectrum cahaya menyebabkan warna hitam tidak efektif melindungi kandungan kurkuminoid pada temulawak jika dibandingkan dengan warna putih yang memantulkan semua spectrum cahaya.

Interaksi teknik pengeringan dan warna kain penutup

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai signifikansi teknik pengeringan dan warna kain penutup diatas α 0,05 yang berarti tidak ada interaksi antara teknik pengeringan dengan warna kain penutup. Hal ini terjadi karena masing-masing perlakuan teknik pengeringan dan warna kain penutup tidak saling mempengaruhi antara satu

dengan lainnya terhadap kadar kurkuminoid.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing sampel dengan perlakuan teknik pengeringan dan warna kain penutup dapat dilanjutkan one way ANOVA pada tingkat α yang sama yaitu 0,05. Hasil analisis kadar kurkuminoid oleoresin temulawak pada masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 6.

Dari Tabel 6 terlihat bahwa kadar kurkuminoid pada sampel sinar matahari langsung kain penutup hitam tidak berbeda nyata dengan sampel solar dryer tanpa kain penutup, sampel sinar matahari kain penutup putih juga memiliki kadar kurkuminoid yang tidak berbeda nyata dengan solar dryer kain penutup hitam tetapi berbeda nyata dengan kadar kurkuminoid pada sampel sinar matahari tanpa kain penutup, solar dryer kain penutup putih dan sinar matahari kain penutup hitam atau solar dryer tanpa kain penutup. Kadar kurkuminoid pada masing-masing sampel dari sinar matahari tanpa kain penutup sampai solar dryer kain penutup putih berturut-turut adalah 2,2369%; 2,5262%; 2,7826%; 2,5019%; 2,8053% dan 3,1769%. Sampel solar dryer dengan kain penutup putih memiliki kadar tertinggi dengan nilai sebesar 3,1769% sedangkan kadar kurkuminoid terendah terdapat pada sampel sinar matahari tanpa kain penutup dengan nilai sebesar 2,2369%. Rata-rata hasil kurkuminoid pada semua sampel berada pada rata-rata dibawah 3,17%. Sedangkan menurut Sembiring (2007) yang mengatakan bahwa kadar kurkumin oleoresin adalah 2,88%. Komposisi kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin yang masing-masing memiliki kadar 80-85%, 15-20%, 0-5% (Ahsan et al. 1999). Perbedaan kadar kurkuminoid yang diperoleh dengan hasil dari penelitian yang lain kemungkinan disebabkan karena varietas temulawak yang digunakan berbeda dan juga perlakuan yang dilakukan berbeda pula. Selain itu kadar yang rendah dari keseluruhan sampel tersebut mungkin disebabkan tingginya suhu rotary evaporator yaitu 75oC yang mengakibatkan terjadinya degradasi kurkuminoid.

Total fenol

Fenol adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Sifat fenol baik dalam keadaan solid maupun liquid memiliki titik lebur rendah, yakni 41°C. Fenol sedikit larut dalam air, dan kelarutan fenol dalam air bervariasi antara suhu 0-65°C. Sebaliknya fenol sangat larut dalam pelarut organik. Fungsi utama fenol adalah sebagai desinfektan serta antioksidan (Kusumaningati 2006). Senyawa fenol berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya meniadakan radikal-radikal bebas dan radikal peroksida sehingga efektif dalam menghambat oksidasi lipida (Kinsella et al. 1993).

Pengaruh teknik pengeringan

Pengeringan pada temulawak merupakan faktor penting karena kandungan temulawak rentan sekali mengalami kerusakan sehingga perlu dilakukan proses pengeringan yang efektif dalam meminimalkan kerusakan senyawa-senyawa dalam temulawak. Hasil analisis kadar total fenol oleoresin temulawak dengan perlakuan teknik pengeringan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil analisis kadar air simplisia temulawak

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
	11,4029%	11,4147%	11,4620%	11,4265%

Tabel 4. Hasil analisis faktor pengeringan terhadap kadar kurkuminoid, total fenol, dan antioksidan

Pengeringan	Kadar (%)		
	Kurkuminoid	Total fenol	Antioksidan
Sinar matahari langsung	2,515a	9,291a	21,619a
Solar dryer	2,828b	15,160b	39,165b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf α 0,05

Tabel 5. Hasil analisis faktor kain penutup terhadap kadar kurkuminoid, total fenol, dan antioksidan

Penutup	Kadar (%)		
	Kurkuminoid	Total fenol	Antioksidan
Tanpa penutup	2,369a	9,840a	26,2188a
Kain penutup hitam	2,666 b	12,312b	30,7435b
Kain penutup putih	2,980c	14,523c	34,2127c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf α 0,05

Tabel 6. Hasil analisis pengaruh kombinasi pengeringan dan kain penutup terhadap kadar kurkuminoid, total fenol, dan antioksidan

Sampel	Kadar (%)		
	Kurkuminoid	Total fenol	Antioksidan
Sinar matahari tanpa penutup	2,2369a	7,018a	16,6413a
Sinar matahari penutup putih	2,5262b	9,690b	21,4173b
Sinar matahari penutup hitam	2,5262b	11,164c	26,7970c
Solar dryer tanpa penutup	2,5019b	12,663d	36,7970d
Solar dryer penutup putih	2,8053c	14,935e	40,0697e
Solar dryer penutup hitam	3,1769d	17,883f	41,6283e

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf α 0,05

Pengeringan dengan sinar matahari langsung menunjukkan kadar total fenol sebesar 9,291% dan berbeda nyata dengan teknik pengeringan dengan solar dryer sebesar 15,160 %. Pada pengeringan matahari kadar total fenolnya lebih rendah jika dibandingkan dengan solar dryer karena pengeringan sinar matahari ini suhunya relatif tinggi yaitu berkisar antara 28-45°C (Zahro 2009). Selain suhu yang relatif lebih tinggi, penyebab rusaknya senyawa fenol disebabkan oleh sinar UV dan terjadinya kontak oksigen secara langsung. Sesuai sifat fenol sebagai senyawa

antioksidan yang akan teroksidasi dengan adanya cahaya, panas, dan oksigen (Zapsalis 1985). Rusaknya senyawa fenol yang bersifat antioksidan ditandai dengan warna coklat pada simplisia karena adanya kontak langsung dengan oksigen di udara (Lestari 1978).

Sedangkan untuk solar dryer, proses pengeringannya lebih efektif dari pada sinar matahari karena proses pengeringan berasal dari dua arah yaitu radiasi dan aliran udara panas dari bawah (konveksi) yang kemudian dibuang keluar menggunakan blower. Selain itu solar dryer juga dapat meminimalkan terjadinya kontak oksigen dan sinar UV secara langsung karena desain solar dryer yang seluruhnya tertutup oleh plastik bening dengan blower diatas sehingga pengeringan solar dryer merupakan pengeringan yang efektif untuk mempertahankan kandungan senyawa fenol dari suhu, oksigen dan sinar UV.

Pengaruh warna kain penutup

Penggunaan kain penutup dalam proses pengeringan dapat melindungi bahan yang dikeringkan sehingga dapat meminimalkan terjadinya kerusakan pada bahan tersebut. Hasil analisis kadar total fenol oleoresin temulawak dengan perlakuan warna kain penutup yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 5.

Seperti yang terlihat pada Tabel 5 bahwa sampel dengan perlakuan sinar matahari tanpa penutup, dengan kain penutup hitam dan kain penutup putih berbeda nyata yang ditunjukkan dengan huruf yang berbeda pada perlakuan tersebut. Kadar total fenol pada perlakuan tanpa penutup kain memiliki nilai yang lebih kecil jika dibandingkan dengan perlakuan kain penutup putih dan hitam. Hal ini disebabkan karena penggunaan kain dapat melindungi bahan dari suhu, sinar UV dan oksigen yang menyebabkan oksidasi pada senyawa fenol.

Dari ketiga perlakuan tersebut, penggunaan kain penutup putih memiliki kadar yang tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu sebesar 14,523%. Hal itu disebabkan penggunaan kain penutup putih dapat meminimalkan kerusakan senyawa fenol dari suhu, sinar UV dan oksigen sehingga lebih efektif dari perlakuan yang lain. Sifat warna juga mempengaruhi tingkat keefektifan dalam meminimalkan kerusakan fenol. Warna putih merupakan warna yang bersifat memantulkan semua spektrum cahaya sehingga energi radiasi yang diterima pada warna putih menjadi semakin kecil seiring dipantulkannya spectrum cahaya yang menyebabkan warna putih lebih sejuk dari pada warna hitam (Yadie 2009).

Interaksi teknik pengeringan dan warna kain penutup

Dari hasil analisis statistik menunjukkan terjadi interaksi antara teknik pengeringan dengan warna kain penutup yang ditunjukkan dari nilai sigfinikasinya kurang dari α 0,05. Hal ini berarti antara masing-masing perlakuan teknik pengeringan dan warna kain penutup saling mempengaruhi satu dengan lainnya terhadap kadar total fenol.

Untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing sampel dengan perlakuan teknik pengeringan dan warna kain penutup dilanjutkan one way ANOVA pada tingkat α yang sama yaitu 0,05. Hasil analisis kadar total fenol

oleoresin temulawak pada masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 6.

Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa kadar total fenol pada masing-masing sampel saling berbeda nyata antara satu dengan lainnya yang ditunjukkan dengan berbedanya huruf yang mengikuti kadar total fenol pada tiap-tiap perlakuan tersebut. Sampel solar dryer dengan kain penutup putih memiliki kadar total fenol tertinggi dengan nilai sebesar 17,883 % sedangkan kadar total fenol terendah terdapat pada sampel sinar matahari tanpa kain penutup dengan nilai sebesar 7,018%. Dengan kadar total fenol yang tertinggi menunjukkan bahwa perlakuan solar dryer kain penutup putih efektif dalam meminimalkan terjadinya kerusakan senyawa fenol yang disebabkan oleh cahaya, panas dan oksigen (Zapsalis 1985) jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Aktivitas antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono 2002). Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Dalimartha dan Soedibyo 1999). Antioksidan alami dapat diperoleh dari ekstrak bagian tanaman rempah-rempah atau tanaman obat-obatan seperti akar, batang, daun, bunga dan biji. Senyawa yang berperan senyawa antioksidan didalam ekstrak adalah fenol, amina aromatik, vitamin C, tokoferol, vitamin E, flavonoid dan lain sebagainya (Sukardi 2003).

Dari sejumlah penelitian pada tanaman obat dilaporkan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antioksidan dalam jumlah besar. Efek antioksidan disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti yang terdapat pada minyak atsiri. Selain itu terutama adanya kurkuminoid pada temulawak yang merupakan molekul dengan kadar polifenol yang rendah namun juga memiliki potensi sebagai antioksidan. Menurut Majeed et al. (1995), kurkuminoid tersebut mempunyai kemampuan mencegah terbentuknya peroksida. Antioksidan tersebut akan teroksidasi dengan adanya cahaya, panas dan oksigen (Zapsalis 1985).

Pengaruh teknik pengeringan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH yaitu ditunjukkan dengan penurunan intensitas warna ungu pada larutan yang dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Hasil analisis aktivitas antioksidan oleoresin temulawak dengan teknik pengeringan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pengeringan dengan sinar matahari langsung dan solar dryer berbeda nyata. Hal ini ditandai dengan berbedanya huruf pada aktivitas antioksidan tiap-tiap perlakuan. Aktivitas antioksidan dengan perlakuan sinar matahari memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan solar dryer karena pada proses pengeringan dengan sinar matahari langsung menghasilkan panas dan sinar UV yang langsung menuju ke bahan sehingga

intensitas bahan yang terkena panas dan sinar UV lebih banyak. Sedangkan pada pengeringan solar dryer dapat menjaga antioksidan pada temulawak dari sinar UV dan suhu yang ditimbulkan dari proses pengeringan. Jika dilihat dari selisih kadar yang begitu besar maka suhu pengeringan sangatlah berpengaruh terhadap kerusakan antioksidan pada temulawak yang sebagian besar terdiri dari komponen-komponen yang bersifat mudah menguap yang terdapat pada minyak atsiri.

Efek antioksidan disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti yang terdapat pada minyak atsiri. Kurkuminoid pada temulawak merupakan molekul dengan kadar polifenol yang rendah namun juga memiliki potensi sebagai antioksidan. Menurut Majeed et al. (1995), kurkuminoid tersebut mempunyai kemampuan mencegah terbentuknya peroksida. Mekanisme antioksidan pada kurkumin dihubungkan dengan adanya atom H dari gugus fenolik (Sun et al. 2002). Sebagai penangkap radikal, kurkumin dapat menjaga integritas membran sel yang diakibatkan peristiwa degradasi oksidatif karena adanya radikal oksigen dan radikal-radikal reaktif lainnya (Tonnesen and Karlsen 1985).

Pengaruh warna kain penutup

Aktivitas antioksidan oleoresin temulawak dengan perlakuan penggunaan kain penutup yang berbeda yaitu tanpa ditutup kain, ditutup kain putih dan ditutup kain hitam dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari pengujian tersebut diperoleh bahwa sampel dengan perlakuan tanpa kain penutup mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 27,727% yang lebih kecil dari pada kain penutup hitam dan kain penutup putih. Hal ini dikarenakan temulawak yang dikeringkan tanpa kain penutup mengalami tingkat kerusakan antioksidan yang tinggi yang disebabkan dari interaksi antara oksigen dan sinar UV secara langsung. Kedua faktor ini dapat menyebabkan rusaknya antioksidan. Penggunaan kain penutup dapat mengurangi efek negatif dari interaksi tersebut selain itu dapat melindungi minyak atsiri juga senyawa fenol dari penguapan yang terlalu cepat. Menurut Depkes RI (1985), simplisia yang berupa rimpang dikeringkan dengan cara dirajang dan dijemur di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam untuk menghindari penguapan terlalu cepat yang dapat menurunkan mutu minyak atsiri dalam bahan.

Jika dilihat dari perlakuan penutup kain putih dan hitam, perlakuan penutup kain putih memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi dari pada penutup kain hitam karena warna kain putih bersifat memantulkan semua spectrum cahaya. Berbeda dengan warna hitam, sifat warna hitam adalah menyerap semua spectrum cahaya sehingga energi radiasi yang diterima pada warna hitam menjadi semakin besar seiring bertambahnya spectrum cahaya yang diserap yang menyebabkan warna hitam lebih panas dari warna lainnya (Yadie 2009). Dengan sifat tersebut maka kain putih lebih dapat meminimalkan kerusakan antioksidan dari proses pengeringan.

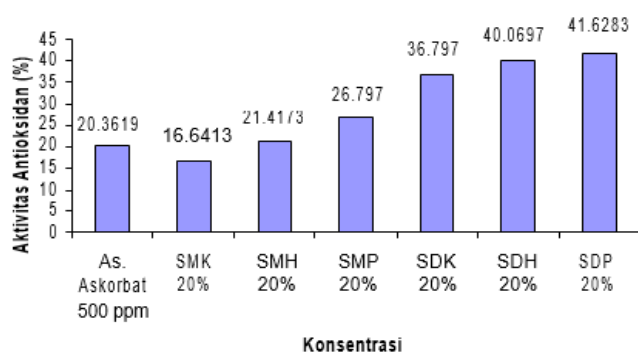
Interaksi teknik pengeringan dan warna kain penutup

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai signifikansi teknik pengeringan dan warna kain penutup diatas α 0,05 yang berarti tidak ada interaksi antara teknik pengeringan dengan warna kain penutup. Hal ini terjadi karena masing-masing perlakuan teknik pengeringan dan warna kain penutup tidak saling mempengaruhi antara satu dengan lainnya terhadap aktivitas antioksidan.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing sampel dengan perlakuan teknik pengeringan dan warna kain penutup dapat dilanjutkan one way ANOVA pada tingkat α yang sama yaitu 0,05. Hasil analisis kadar total fenol oleoresin temulawak pada masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 6.

Seperti yang terlihat pada Tabel 6 bahwa aktivitas antioksidan pada sampel solar dryer kain penutup hitam tidak berbeda nyata dengan solar dryer kain penutup putih tetapi berbeda nyata dengan aktivitas antioksidan pada sampel sinar matahari tanpa kain penutup, sinar matahari kain penutup hitam, sinar matahari kain penutup putih dan solar dryer tanpa kain penutup. Aktivitas antioksidan masing-masing sampel dari sinar matahari tanpa kain penutup sampai dengan solar dryer kain penutup putih berturut-turut adalah 16,6413%; 21,4173%; 26,7970%; 36,7970%; 40,0697% dan 41,6283%.

Dalam penelitian ini dilakukan uji pembandingan antara kadar aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari sampel dengan asam askorbat. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa aktivitas antioksidan asam askorbat dengan konsentrasi 500 ppm sebesar 20,3619%. Jika dilihat dari keseluruhan sampel, sampel SMK merupakan sampel yang memiliki kadar dibawah asam askorbat dengan aktivitas antioksidan sebesar 16,6413% yang kadarnya lebih rendah 0,8 kali dibandingkan dengan asam askorbat. Sampel SMH, SMP, SDK, SDH dan SDP masing-masing memiliki aktivitas antioksidan di atas asam askorbat dengan aktivitas antioksidan berturut-turut adalah 21,4173%; 26,797%; 36,797%; 40,0697% dan 41,6283% yang kadarnya masing-masing lebih tinggi 1,05 kali; 1,32 kali; 1,81 kali; 1,97 kali dan 2,04 kali.



Gambar 1 Uji pembandingan antara sampel dengan asam askorbat. Keterangan: SM = Sinar Matahari langsung, SD = Solar Dryer, K = tanpa ditutup kain, P = ditutup kain putih, H = ditutup kain hitam

KESIMPULAN

Penggunaan solar dryer berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktif oleoresin temulawak. Perlakuan dengan solar dryer memiliki kadar senyawa aktif (kurkuminoid, total fenol dan antioksidan) yang lebih tinggi dari pada perlakuan dengan sinar matahari. Penggunaan warna kain penutup berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktif oleoresin temulawak. Perlakuan dengan kain penutup putih memiliki kadar senyawa aktif (kurkuminoid, total fenol dan antioksidan) yang lebih tinggi dari pada perlakuan tanpa kain dan kain penutup hitam. Terjadi interaksi antara teknik pengeringan dan warna kain penutup pada kadar total fenol tetapi tidak terjadi interaksi pada kadar kurkuminoid dan kadar antioksidan oleoresin temulawak. Kombinasi solar dryer dan kain penutup putih merupakan teknik pengeringan yang efektif yang dapat meminimalkan terjadi kerusakan pada senyawa aktif (kurkuminoid, total fenol dan antioksidan) temulawak jika dibandingkan dengan kombinasi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar; Edy Mulyono dan Yulianingsih, 2006. Prospek oleoresin dan penggunaannya di Indonesia. Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Ahsan, et al. 1999. Chemico-Biological Interaction. 121 (2), 161-175.
- Cahyono B. 2007. Standardisasi Bahan Baku Obat Alam di Jawa Tengah, Seminar Nasional, Penggunaan Obat Bahan Alam untuk Kesehatan, Semarang, 29 Agustus 2007.
- Dalimartha S, Soedibyo M. 1999. Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Supleme. Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Depkes RI. 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Depkes RI. 1979. Materia Medika Indonesia Jilid III. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
- Kusumaningati RW. 2009. Analisa Kandungan Fenol Total Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.). [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Eryanto T, Murliana RA. 2009. Pengambilan Oleoresin Jahe Dengan Metode Ekstraksi. Jurusan Teknik Kimia, ITS, Surabaya.
- Hartiwi. 2001. Pengaruh Waktu Pemanasan Dan kombinasi ekstrak jahe, kunyit, kencur, dan temulawak terhadap daya tangkap radikal bebas (DPPH). [Skripsi]. UGM. Yogyakarta.
- Kemala, S., Sussiarto, Pribadi A.R, Yuhono, J.T., Yusron, M. Mauludi, M. Raharjo, M. Ferry, Y. Waskito, B., dan Nurhayati, H. 2003. Studi Serapan Pasokan dan Pemnafaatan Tanaman Obat di Indonesia. Laporan teknis
- Kinsella JE, Frankel E, German B, Kanmer J. 1993. Possible mekanisme for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. J Food Technol 4: 85-89
- Rukmana R. 1995. Temulawak: Tanaman Rempah dan Obat. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Lestari S. 1978. Pengaruh Blanching dan Cara Pengeringan Terhadap Kualitas Temulawak Kering. Fakultas Teknologi Pertanian, UGM. Yogyakarta.
- Majeed M, Vladimir B, Uma S, Rjendran R. 1995. Curcuminoids Antioxidants Phytonutrients. Nutriscience. Publ. Inc., New Jersey.
- Price LC, Buescher RW. 1996. Decomposition of turmeric curcuminoids as affected by lighth, solvent and oxygen. J Food Biochem 20: 125-133.
- Pudjihartati L. 1999. Stabilitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica*) selama penyimpanan Umbi dan Pemanasan. [Thesis]. UGM, Yogyakarta.
- Rachman D. 2009. Teknologi Pengeringan Bahan Makanan. http://localhost/pengeringan/Wizz%20Aditya%20Rachman_%20Tekn

- olog i%20Pengeringan%20Bahan%20Makanan.mht. Diakses pada tanggal 1 Januari 2010
- Rahardjo M, Rostiana O. 2005. Budidaya tanaman temulawak. Sirkuler No. 11. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.
- RSNI. 2006. Sosialisasi RSNI Temulawak. Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB. Bandung.
- Sembiring B. 2007. Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat. Warta Puslitbangbun Vol. 13 No. 2
- Sembiring B, Ma'mun, Ginting EI. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat 17 (2): 53-58.
- Sidik, Mulyono MW, Muhtadi A. 1985, Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Robx.), Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedica, Jakarta.
- Siswanto, Widiyastuti Y. 2004. Penanganan Hasil Panen Tanaman Obat Komersial. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Stankovic I. 2004. Curcumin Chemical and Technical Assessment (CTA), 61st JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Nfao, Rome.
- Sudarmadji, Suhardi, Haryono B. 1997. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Suhartono E, Fujiati, Aflanie I. 2002. Oxygen toxicity by radiation and effect of glutamic piruvat transamine (GPT) activity rat plasma after vitamine C treatmen. Internatinal Seminar on Environmental Chemistry and Toxicology, Yogyakarta.
- Sukardi. 2003. Studi Stabilitas Antioksidan ekstrak Daun Dewa (*Gynura procumbens* Merr) Selama Pemanasan Dalam Menangkap Radikal Bebas. LEMLIT UMM. Malang.
- Tonnesen H, Karlsen J. 1985. Studies on curcuminoid and curcuminoids. V. Alkaline degradation of curcumin. Z. Lebensm. Unters Forsch. 180: 132-134.
- Sun YM, Zhang HY, Chen DZ, Liu CB. 2002. Theoretical elucidation on the antioxidant mechanism of curcumin: a DFT study. Org Lett 4(17): 2909-2911.
- Yadie. 2009. Kenapa warna hitam lebih menyerap panas dari pada warna putih. <http://matahatidantelinga.blogspot.com/2009/05/kenapa-warna-hitam-lebih-menyerap-panas.html>. Diakses pada tanggal 18 Januari 2010.
- Zahro L. 2009. Profil tampilan fisik dan kandungan kurkuminoid dari simplisia temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) pada beberapa metode pengeringan. Jurnal Sains & Matematika 17 (1): 24-32.
- Zapsalis C, Beck A. 1985. Food Chemistry and Nutritional Biochemistry. John Willey and Sons, New York.

Uji toksisitas fraksi daun ambre (*Geranium radula*) terhadap *Artemia salina* dan profil kandungan kimia fraksi teraktif

Toxicity test of ambre leaf fractionation (*Geranium radula*) against *Artemia salina* and chemistry compound profile of the most active fraction

NORMA AMBARWATI, RITA RAKHMAWATI, DINAR SARI CAHYANINGRUM WAHYUNI

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 19 Maret 2014. Revisi disetujui: 18 Desember 2014.

Abstract. Ambarwati, Rakhmawati R, Wahyuni DSC. 2015. Toxicity test of ambre leaf fractionation (*Geranium radula*) against *Artemia salina* and chemistry compound profile of the most active fraction. *Biofarmasi* 13: 15-24. According to Brine Shrimp Lethality Test (BST), ambre (*Geranium radula* Cavan.) is a plant has toxic effect, that's why it may use as anticancer agent. A previous research used screening toxicity of some plants in Tawangmangu, Surakarta that used BST method showed that chloroform extract from Ambre leaves the biggest toxicity activities. According to that research, we need to do further research about toxicity test, and ambre leaves bioactive component to find scientific result. Toxicity test with BST method has been done by including ten larva *Artemia salina* Leach into flacon contains test sample. Death percentage of *A. salina* larva was counted 24 hours after giving of test sample rate series, then made equation of linear regression to determine values of LC50-24 hours. The result of toxicity test showed that fraction IV ambre leaves are fraction that has the highest toxic because it has the biggest percentage of death for all of the concentration series that has been experimented with values of LC50-24 hours = 776.46 µg/mL. Fraction IV as the most active fraction is identified its chemical compound with Thin Layer Chromatography (TLC). The detection result showed that fraction IV has terpenoid compound by $R_f = 0.16$; 0.44; 0.85 and phenolic compound by $R_f = 0.44$; 0.58.

Keywords: Anticancer, BST, *Geranium radula*, toxicity

PENDAHULUAN

Kanker menempati peringkat tertinggi sebagai penyebab kematian di negara berkembang. Usaha penyembuhan dengan obat kanker sintetik umumnya masih relatif mahal dan memiliki efek samping yang besar. Hal tersebut mendorong dilakukannya pencarian sumber obat baru yang berasal dari alam sebagai salah satu kandidat yang berkhasiat antikanker. Indonesia memiliki peluang yang potensial dalam pencarian sumber obat baru dari bahan alam tersebut. Indrayani et al. (2006) menyatakan bahwa Indonesia sebagai salah satu negara tropis yang kaya sumber daya hayati, memiliki sekitar 30.000 spesies tumbuhan, dan kurang lebih 7000 spesies di antaranya yang baru diketahui sebagai tanaman berkhasiat obat. Diperkirakan sekitar 76% spesies tanaman di Indonesia belum diketahui manfaat dan khasiatnya, sehingga berpeluang untuk diteliti lebih lanjut.

Keberadaan senyawa aktif ataupun ekstrak aktif dari bahan alam dapat diperoleh menggunakan suatu uji aktivitas (*bioassay*) dimana satu modelnya adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) (Meyer et al. 1982). Sejumlah data eksperimental membuktikan bahwa skrining toksisitas tanaman menggunakan metode BST menghasilkan senyawa-senyawa hasil isolasi yang memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker. Wahyuningsih et al. (2008), melakukan eksplorasi terhadap 140 macam ekstrak tanaman hutan Kalimantan Tengah

yang diuji dengan metode BST, diperoleh 17 ekstrak aktif dengan kematian larva *Artemia salina* 100% pada konsentrasi 500 µg/mL. Penurunan konsentrasi ekstrak sampai 100 µg/mL, diperoleh 10 ekstrak yang potensial dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kloroform *Fibraurea chloroleuca* dapat diisolasi menggunakan BST dengan *Lethal Concentration* 50 (LC50) sebesar 4,5 µg/mL

Carballo et al. (2002) melaporkan bahwa terdapat korelasi yang baik antara metode BST dengan uji sitotoksik menggunakan kultur sel kanker. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Wahyuni dan Rakhmawati (2008), skrining toksisitas beberapa tanaman di kawasan Tawangmangu Surakarta menggunakan metode BST menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dari daun ambre (*Geranium radula* Cavan.) memberikan aktivitas toksisitas yang paling besar. Hal ini ditunjukkan dengan nilai persentase kematian tertinggi berdasarkan hasil uji BST pada ekstrak kloroform jika dibandingkan dengan keempat tanaman yang lain (Wahyuni dan Rakhmawati 2008). Berdasarkan hal tersebut, tanaman ambre berpotensi sebagai sumber obat baru kandidat antikanker, namun agar dapat dipertanggungjawabkan, diperlukan penelitian ilmiah lebih lanjut tentang komponen bioaktif dari tanaman ambre, terutama bagian daunnya.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek toksik dari fraksinasi daun ambre (*Geranium radula* Cavan.) terhadap *Artemia salina* Leach, dan mengetahui kandungan kimia fraksi teraktif daun ambre.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-September 2009 di Sub Lab. Biologi Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Alat dan bahan penelitian

Pelarut penyari yang digunakan untuk proses pemisahan komponen bioaktif dalam penelitian ini adalah kloroform. Semua pelarut yang disebutkan selanjutnya berderajat pro analisis dari E. Merck, kecuali disebutkan lain. Air yang digunakan adalah aquades.

Daun ambre (*Geranium radula* Cavan.) diperoleh dari B2P2TO2T (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional) Tawangmangu pada bulan Juni 2009.

Fase diam yang digunakan yaitu plat silika gel 60 GF254 (E. Merck) dan fase gerak yang digunakan yaitu etil asetat dan kloroform berderajat pro analisis dengan perbandingan tertentu. Pereaksi semprot Serum (IV) sulfat dan beberapa pereaksi semprot spesifik.

Telur *Artemia salina* Leach, air laut dengan kadar garam 5%, suspensi ragi (Fermipan®) dengan konsentrasi 3 mg/10 mL air laut dan aquades.

Fase diam yang digunakan silika gel 60 GF254 (E. Merck) dan fase gerak *wash-benzena*, etil asetat, kloroform dan metanol berderajat teknis.

Pereaksi semprot serum (IV) sulfat (pemanasan 110°C, 10-15 menit): Serum sulfat anhidrat 0,5 g, asam sulfat pekat 1,4 mL, dan aquades 25 mL. Reagent dragendorf: bismuth subnitrat (Bi (NO₃)₃) 0,17 g, aquades 12 mL, asam asetat glasial 2 mL, potasium ioda 1,6 g. FeCl₃: besi (III) klorida 1 g, asam sulfat 20 mL. Vanilin asam sulfat: vanillin 1 g, asam sulfat 25 mL. Lieberman-burchard: 5 mL asam asetat anhidrat, 5 mL asam sulfat pekat dan 50 mL etanol absolut. Anisaldehyd 20 mL, uap amonia dan uap iodium.

Rotary evaporator (Heidolph vv 2000, Germany), Oven (Memert, Germany), lampu UV, *syringe*, gelas beker, pipa kapiler, bejana pengembang dan alat-alat gelas lainnya.

Mikropipet 10-1000 µL, mikropipet 20-250 µL, flakon, gelas ukur 50 mL, vortex, lampu 5 watt, neraca analitik, spatula, pipet tetes, wadah penetasan telur dengan 2 tipe ruang (terang dan gelap), kipas angin, dan aerator.

Bejana pengembang, pipa kapiler, gelas arloji, oven, alat penyemprot bercak dan lampu UV.

Alat yang digunakan untuk proses fraksinasi hasil partisi *wash-benzena* adalah: gelas beker, flakon, erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, dragball, corong Buchner, *sinterglass* (kolom kromatografi), statif, kipas angin dan alat-alat gelas lainnya.

Cara kerja

Persiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun ambre. Determinasi serta identifikasi dilakukan di B2P2TO2T (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional) Tawangmangu.

Pemisahan komponen bioaktif

Pada penelitian ini untuk memisahkan komponen bioaktif digunakan ekstraksi dan partisi. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan penyari kloroform.

Ekstraksi

Serbuk daun ambre dimaserasi menggunakan kloroform selama 24 jam disertai pengadukan dan maserasi dilakukan hingga 3 kali. Setelah 24 jam, rendaman disaring dengan kertas saring, ampasnya dipisahkan dan maserat I yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan disimpan di eksikator.

Ampas dimaserasi kembali dengan kloroform seperti cara diatas sehingga diperoleh maserat II dan III yang telah diuapkan menggunakan *rotary evaporator* digabungkan dengan maserat I sehingga diperoleh ekstrak kloroform ambre.

Partisi dan fraksinasi

Ekstrak kloroform yang didapatkan setelah dimonitor KLT kemudian dipartisi dengan pelarut *wash-benzena* sehingga dihasilkan dua bagian, yaitu bagian larut *wash-benzena* dan bagian tidak larut *wash-benzena*. Kedua bagian tersebut diuapkan. Kedua bagian tersebut dimonitor hasil pemisahannya dengan KLT dan dilakukan uji BST. Bagian yang lebih aktif berdasarkan uji BST difraksinasi sehingga dihasilkan 9 fraksi. Sembilan fraksi dimonitor hasil pemisahannya dengan KLT dan diuji BST.

Fraksinasi dengan metode kromatografi kolom

Preparasi Sampel: Bagian teraktif hasil partisi dilarutkan dengan kloroform dan dikeringkan dengan bantuan kipas angin.

Persiapan kolom: Silika gel 60 GF254 ditimbang kurang lebih 30 gram dan dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam *sinterglass* (kolom kromatografi) sambil diketuk-ketuk dengan batang pengaduk. Selama pengisian kolom ini, *sinterglass* (kolom kromatografi) diketuk-ketuk dengan batang pengaduk. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya *cracking* dalam pengisian kolom. Permukaan kolom dibuat serata mungkin. Fase diam yang telah jadi kemudian dielusi dengan pelarut organik yang kepolarannya paling rendah diantara pelarut-pelarut yang digunakan sebagai fase gerak untuk memperbaiki kekompakan kolom sehingga tidak banyak rongga udara dalam kolom.

Penyiapan fase gerak: Fase gerak yang digunakan pada sistem kromatografi kolom ini menggunakan sistem fase bertingkat menurut kepolarannya. Fase gerak dibuat dengan perbandingan tertentu. Perbandingan antara larutan tersebut tergantung dari tingkat kepolaran yang diinginkan, yaitu dari pelarut yang mempunyai tingkat polaritas rendah (nonpolar) ke pelarut dengan tingkat polaritas lebih tinggi

(polar) berturut-turut *wash-benzena*, kloroform, etil asetat dan metanol sehingga dihasilkan beberapa fraksi.

Elusi: Sampel ditambahkan ke permukaan fase diam yang telah dibuat kemudian ditutup dengan kertas saring. Hal ini bertujuan agar permukaan kolom tidak rusak saat dialiri fase gerak. Selanjutnya dielusi dengan fase gerak yang sudah disiapkan. Elusi dimulai dari pelarut yang kepolarannya paling rendah. Fraksi yang terpisah ditampung dalam wadah penampung.

KLT fraksi-fraksi: Masing-masing fraksi yang diperoleh diuapkan pada cawan porselen sampai kering. Profil kandungan kimia masing-masing fraksi dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Berdasarkan hasil KLT tersebut, fraksi-fraksi dengan profil kromatogram yang hampir sama dijadikan satu fraksi. Fraksi hasil penggabungan selanjutnya diuji dengan metode BST untuk mengetahui fraksi mana yang paling aktif.

Uji toksisitas dengan Metode BST

Suatu senyawa atau ekstrak dikatakan toksik apabila menunjukkan $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ pada uji dengan BST (Meyer et al. 1982). Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan pengujian dengan metode BST dengan konsentrasi 250, 500, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ pada masing-masing sampel uji. Uji dilakukan dengan 3 replikasi, masing-masing replikasi menggunakan 5 flakon untuk tiap konsentrasi demikian juga dengan kontrol.

Preparasi Sampel: Semua sampel dibuat larutan stok yaitu dengan cara melarutkan sampel dalam kloroform. Seri konsentrasi sampel uji dibuat dengan pengambilan volume sebanyak 125, 250, dan 500 $\mu\text{g/mL}$ dari larutan stok menggunakan mikropipet dan dimasukkan dalam flakon. Pembuatan kontrol uji dilakukan dengan memasukkan pelarut saja (kloroform) ke dalam flakon. Kontrol diperlukan untuk mengoreksi kemungkinan timbulnya efek karena pelarut yang belum menguap sempurna dan pengaruh lain selain pelarut terhadap pengujian yang dilakukan. Flakon-flakon yang telah berisi sampel dan kontrol kemudian diangin-anginkan hingga kering dan tidak berbau pelarut lagi.

Penetasan Telur *A. salina*: Telur *A. salina* ditetaskan dalam wadah penetas telur dengan dua bagian ruang bersekat, satu bagian ruang gelap dan yang satu terang. Sekat dibuat berlubang dengan diameter 2 mm. kemudian air laut tersebut dimasukkan ke dalam wadah, serta diaerasi menggunakan aerator. Sejumlah telur *A. salina* dimasukkan ke dalam satu ruang, kemudian ruang ini ditutup. Sisi yang lain dibiarkan terbuka dan diberi lampu untuk menarik *A. salina* yang telah menetas melalui lubang sekat. Hal ini dilakukan karena *A. salina* memiliki sifat fototaksis. Telur *A. salina* akan menetas setelah kira-kira 24 jam menjadi larva. Larva yang berumur 48 jam dapat digunakan untuk uji toksisitas (McLaughlin, 1991).

Pengujian Sampel: Flakon berisi sampel yang sudah diuapkan pelarutnya diisi air laut 1 mL, kemudian divortex kurang lebih selama 1 menit. Sepuluh ekor larva *A. salina* umur 48 jam yang sehat (bergerak aktif) dipilih secara acak, dimasukkan ke dalam flakon yang berisi sampel dengan menggunakan pipet tetes dan ditambahkan air laut sampai 5 mL. Satu tetes suspensi ragi *Saccharomyces*

cerevicease (3 mg/10 mL air laut) ditambahkan ke dalamnya sebagai makanan larva *A. salina*. Flakon-flakon diletakkan di bawah lampu penerangan selama 24 jam dan dihitung jumlah larva *A. salina* yang mati (tidak bergerak aktif). Selanjutnya dihitung persentase larva *A. salina* yang mati setelah 24 jam, dibandingkan dengan kontrol dan hasilnya dianalisis untuk menentukan nilai LC_{50} .

Penentuan golongan senyawa fraksi teraktif

Fraksi teraktif dilarutkan di pelarut yang sesuai untuk dianalisis kandungan senyawa kimianya dengan metode KLT. Sampel ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1 cm dari bawah plat. Pengembangan dilakukan dalam bejana pengembang dengan jarak pengembangan 7 cm menggunakan fase gerak yang sesuai. Hasil KLT dideteksi dengan sinar UV254 nm dan UV366 nm dan disemprot dengan serum (IV) sulfat untuk mendeteksi keberadaan senyawa organik secara umum, dan deteksi spesifik Lieberman-burchad, Dragendorf, FeCl_3 , dan Vanilin-asam sulfat. Setelah dilakukan penyemprotan, masing-masing plat dipanaskan selama 10-15 menit pada suhu 110°C dan kemudian dilakukan penghitungan Rf.

Pembuatan pereaksi semprot deteksi golongan senyawa

Pereaksi semprot serum (IV) sulfat (pemanasan 110°C , 10-15 menit): serum sulfat anhidrat 0,5 g dilarutkan dalam asam sulfat pekat 1,4 mL kemudian diencerkan dengan menambahkan aquades 25 mL.

Reagent Dragendorf: bismuth subnitrat ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$) 0,17 g dilarutkan dalam aquades 8 mL dan asam asetat glasial 2 mL, kemudian ditambahkan potasium ioda 1,6 g yang telah dilarutkan dalam aquades 4 mL.

FeCl_3 : besi (III) klorida 1 g dilarutkan dalam asam sulfat 20 mL.

Vanilin-asam sulfat: vanillin 1 g dilarutkan asam sulfat 25 mL.

Lieberman-burchad: 5 mL asam asetat anhidrat yang dicampur secara hati-hati dengan 5 mL asam sulfat pekat kemudian campuran ini ditambahkan secara hati-hati pula ke dalam 50 mL etanol absolut, setiap pencampuran zat dilakukan dengan pendinginan.

Penentuan persentase kematian larva A. salina

Efek toksik daun ambre terhadap *A. salina* dianalisis dengan menghitung persen kematian larva uji setelah 24 jam perlakuan, dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{jumlah larva } A. \text{ salina mati} \times 100\%}{\text{jumlah larva uji}}$$

Analisis data

Data persentase kematian larva *A. salina* digunakan untuk mencari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan regresi linier:

$$y = bx + a$$

Dimana: y = angka probit, dan x = log konsentrasi

Berdasarkan persamaan di atas, kemudian dihitung LC50-24 jam hasil fraksinasi daun ambre dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut sehingga diperoleh konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian. Bila ada kematian pada kontrol dapat dikoreksi dengan rumus Abbo's yaitu:

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{jumlah larva } A. \text{ salina (mati-kontrol)}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Suatu senyawa atau ekstrak dikatakan toksik apabila menunjukkan $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ pada uji dengan BST (Meyer et al. 1982). Penentuan golongan fraksi komponen kandidat antikanker dideteksi dengan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak dan fase diam yang sesuai serta pereaksi semprot yang spesifik. Profil kromatografi lapis tipis hasil deteksi semprot spesifik dianalisis secara kualitatif dengan analisis deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan sampel

Sampel tumbuhan ambre dideterminasi guna menghindari kesalahan bahan utama penelitian. Jika terjadi kesalahan bahan utama akan menyesatkan peneliti yang nantinya akan bekerja dengan sampel yang sama dan menyebabkan kebingungan dalam literatur ilmiah (Cannell, 1998). Determinasi tumbuhan telah dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO-OT) dan diketahui bahwa tumbuhan yang diteliti adalah *Geranium radula* Cavan.

Pemisahan komponen bioaktif

Pemisahan komponen bioaktif daun ambre digunakan metode ekstraksi dan partisi. Serbuk daun ambre diekstraksi menggunakan metode maserasi yang merupakan proses penyarian yang sederhana baik cara pengerjaan maupun peralatan yang digunakan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel uji dalam cairan. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Hargono, 1986). Perendaman dapat meluruhkan susunan sel sehingga zat aktif yang terkandung di dalam sampel akan terlarut dalam pelarut.

Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk daun ambre seberat 290 gram dalam pelarut kloroform (6,3 L). Ekstraksi dengan pelarut kloroform (indeks polaritas = 4,1) ini dimaksudkan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat non polar hingga semi polar yang terkandung dalam daun ambre. Proses maserasi perlu disertai pengadukan agar terjadi interaksi yang merata antara cairan penyari dengan seluruh permukaan masing-masing serbuk. Selain itu menurut Cannell (1998), pengadukan pada proses maserasi ditujukan untuk meningkatkan efisiensi metode

maserasi supaya kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan maserasi yang diperoleh lebih homogen. Pelarut akan dapat mengalir secara berulang-ulang ke dalam serbuk halus sehingga memungkinkan adanya interaksi antara pelarut dengan serbuk. Kejenuhan terjadi apabila tidak ada perbedaan konsentrasi. Perpindahan pelarut atau zat terlarut dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah tidak terjadi apabila konsentrasi di dalam dan diluar sel dalam kondisi yang seimbang. Maserasi dengan kloroform dilakukan hingga 3 kali selama 24 jam, dengan asumsi bahwa senyawa yang dikehendaki telah terambil dalam rentang waktu tersebut.

Maserat dipisahkan dengan cara disaring dengan kertas saring. Langkah selanjutnya maserasi yang telah disaring diuapkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak kloroform sebanyak 11 gram, berwarna hijau tua kehitan.

Proses pemisahan pada tahap ekstraksi dimonitor profil kandungan senyawa kimianya dengan KLT, kemudian dilakukan deteksi terhadap keberadaan senyawa kimia organik secara umum yang ada di dalamnya menggunakan pereaksi semprot serum (IV) sulfat. Hasilnya terbentuk bercak yang berwarna coklat setelah

pemanasan. Warna coklat yang terbentuk disebabkan karena dalam serum (IV) sulfat terdapat H_2SO_4 10% yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif simplisia sehingga panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang sehingga noda menjadi tampak oleh mata, bila dipanaskan bercak pada KLT berubah warnanya menjadi coklat. Deteksi UV digunakan untuk mengetahui senyawa yang tidak terlihat dengan sinar tampak.

Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dapat terelusi naik dengan fase gerak kloroform. Hal ini disebabkan ekstrak kloroform merupakan senyawa nonpolar dan memiliki afinitas yang rendah terhadap plat silika gel sehingga kemampuan migrasi pelarut untuk memisahkan senyawa berjalan cepat (Cannell, 1998).

Deteksi hasil KLT menggunakan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat menunjukkan adanya beberapa bercak yang terlihat pada masing-masing deteksi. Hasil deteksi KLT terdapat 2 bercak yang terlihat dengan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat, dan beberapa bercak lainnya yang terlihat tidak terlalu jelas.

Deteksi kromatogram dengan sinar UV254 (Gambar 1) menunjukkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa bercak yang berwarna gelap pada latar belakang berfluoresensi hijau yang menunjukkan adanya senyawa. Deteksi dengan sinar UV366 (Gambar 1) memperlihatkan bercak yang berfluoresensi dan berwarna biru muda yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpondasi pada penyinaran UV gelombang panjang.

Partisi dan uji Brine Shrimp Lethality Test (BST)

Ekstrak kloroform dipartisi menggunakan pelarut *wash-benzena* sehingga dihasilkan dua bagian, yaitu bagian terlarut dan bagian tidak larut *wash-benzena*. Partisi ini dimaksudkan untuk menyari senyawa-senyawa yang lebih

polar agar masuk dalam fraksi tidak larut *wash-benzena*. Pemilihan pelarut *wash-benzena* berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan dengan berbagai macam pelarut, seperti n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kloroform yang dipartisi dengan *wash-benzena* memberikan profil yang berbeda (tidak tumpang tindih) antara bagian yang larut dan tidak larut *wash-benzena*, dibandingkan dengan tiga pelarut lainnya. Selanjutnya hasil partisi dipisahkan dengan partisi padat-cair menggunakan alat sentrifugasi dengan kecepatan 3000-5000 rpm selama 15 menit.

Prinsip metode sentrifugasi yang dilakukan di atas yaitu objek diputar secara horizontal pada jarak radial dari titik dimana titik tersebut dikenakan gaya. Pada saat objek diputar, partikel-partikel yang ada akan berpisah dan berpisah sesuai dengan berat jenis masing-masing partikel. Gaya yang berperan dalam proses teknik sentrifugasi ini yaitu gaya sentrifugal. Dengan adanya teknik ini, proses pengendapan suatu bahan akan lebih cepat dan optimum dibandingkan dengan menggunakan teknik biasa (manual). Prinsip sentrifugasi ini dapat bekerja secara optimum jika para pengguna dapat memasukkan nilai RPM dan nilai konsentrasi yang tepat ke dalam alat sentrifugasi (Putra 2008).

Tujuan sentrifugasi dalam penelitian ini adalah untuk memisahkan antara filtrat dan residu dari ekstrak kloroform daun ambre sehingga diperoleh hasil yang optimal yaitu bagian yang tidak mengendap yang merupakan bagian larut *wash-benzena* dan bagian yang mengendap merupakan bagian yang tidak larut *wash-benzena*. Setelah diperoleh dua bagian hasil partisi, kemudian dianalisis menggunakan KLT. Adapun kromatogram hasil partisi dengan *wash-benzena* tersaji pada Gambar 2.

Deteksi hasil KLT menggunakan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat menunjukkan bahwa partisi dengan *wash-benzena* dapat memisahkan ekstrak kloroform menjadi dua bagian yang pemisahannya tidak saling tumpang tindih. Pada kromatogram hasil deteksi UV366, pada bagian larut *wash-benzena* terlihat adanya bercak pada Rf 0,53 (Gambar 2 C.1) sedangkan bagian tidak larut *wash-benzena* mempunyai bercak pada Rf 0,44 (Gambar 2 C.2). Hal ini menandakan kedua bagian tersebut mempunyai kandungan senyawa yang berbeda. Bagian larut *wash-benzena* dapat terelusi naik oleh fase gerak CHCl_3 yang bersifat lebih nonpolar dibandingkan bagian tidak larut *wash-benzena*.

Tahap selanjutnya kedua bagian hasil partisi diuji dengan BST (*Brine Shrimp Lethality Test*). Uji BST terhadap bagian larut *wash-benzena* dan tidak larut *wash-benzena* menggunakan tiga seri konsentrasi larutan uji (250, 500, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$) dengan tiga replikasi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui persentase kematian dari kedua partisi. Adapun hasil uji BST bagian larut *wash-benzena* dan tidak larut *wash-benzena* dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan *bioassay guided partition* menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BST), bagian larut *wash-benzena* memberikan persentase kematian yang lebih besar dari bagian tidak larut *wash-benzena* (Tabel 1). Hal ini berarti senyawa teraktif berdasarkan metode BST berada

pada bagian larut *wash-benzena* yang selanjutnya akan difraksi lebih lanjut.

Fraksinasi dan Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)

Bagian larut *wash-benzena* sebagai bagian aktif selanjutnya difraksinasi untuk memisahkan kandungan senyawa-senyawa didalamnya berdasarkan polaritasnya. Fraksinasi dilakukan menggunakan kromatografi kolom yang bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa kimia agar lebih sederhana.

Sampel uji berupa bagian larut *wash-benzena* (5,9 gram) dari daun ambre dielusi dengan berbagai perbandingan tertentu dari berbagai pelarut berdasarkan gradien polaritas, dimulai dari yang nonpolar hingga polar dengan cara menaikkan tingkat kepolarannya. Fase gerak yang digunakan terdiri dari *wash-benzena*, etil asetat, kloroform dan metanol dengan komposisi pelarut seperti terlihat pada Tabel 2. Eluen yang turun berupa pita-pita warna dengan laju yang berlainan dan ditampung sebagai fraksi. Fraksinasi dengan kromatografi kolom ini menghasilkan sembilan fraksi yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil fraksinasi yang didapat kemudian dianalisis dengan menggunakan KLT. Profil kandungan kimia dideteksi dengan menggunakan sinar UV254 dan sinar UV366 dan pereaksi semprot serum (IV) sulfat. Profil KLT masing-masing fraksi hasil fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan profil kandungan kimia pada gambar 3, fraksi-fraksi dengan profil KLT yang hampir sama dijadikan ke dalam satu fraksi dengan asumsi bahwa fraksi-fraksi tersebut memiliki kandungan senyawa yang hampir sama. Kesembilan fraksi yang diperoleh kemudian dikelompokkan menjadi 4 fraksi yaitu fraksi I (gabungan fraksi 1, 2 dan 3) dengan berat 97 mg, fraksi II (gabungan fraksi 4, 5 dan 6) dengan berat 371 mg, fraksi III (fraksi 7) dengan berat 94 mg dan fraksi IV (gabungan fraksi 8 dan 9) dengan berat 10 mg. Profil KLT hasil penggabungan fraksi-fraksi dapat dilihat pada Gambar 4.

Langkah berikutnya fraksi-fraksi tersebut diuji potensi ketoksikannya terhadap *A. salina* untuk mengetahui fraksi mana yang paling toksik. Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 250, 500 dan 1000 $\mu\text{g/mL}$. Dalam uji ini, hewan uji yang digunakan adalah *A. salina* yang berumur 48 jam, yang dinamakan *nauplius*. Hasil uji toksisitas masing-masing fraksi dan perhitungan nilai $\text{LC}_{50-24\text{jam}}$ dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa fraksi yang paling toksik adalah fraksi IV karena mempunyai nilai persentase kematian terbesar pada semua seri konsentrasi yang diujikan. Nilai rata-rata persentase kematian fraksi IV yang diperoleh selanjutnya diubah menjadi nilai probit dengan menggunakan tabel probit (perhitungan tidak ditunjukkan), kemudian dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi (x) dan nilai probit (y) sehingga diperoleh persamaan garis lurus yang dapat dilihat pada Tabel 4. Kurva hubungan antara log konsentrasi dan nilai probit larva *A. salina* dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan persamaan garis lurus dari masing-masing replikasi dapat ditentukan nilai $\text{LC}_{50-24\text{jam}}$ dengan cara

memasukkan nilai $y = 5$ ke dalam persamaan garis lurus, sehingga diperoleh log konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian. LC50 menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan kematian pada 50% hewan uji. LC50 merupakan indikasi untuk toksisitas senyawa. Harga LC50 yang diperoleh mencerminkan toksisitas bahan terhadap hewan uji. Semakin besar harga LC50 berarti toksisitasnya semakin kecil dan sebaliknya semakin kecil harga LC50 maka semakin besar toksisitasnya.

Menurut Meyer et al. (1982), senyawa uji dikatakan toksik jika harga LC50 lebih kecil dari 1000 µg/mL. Hasil perhitungan diperoleh harga LC50-24 jam rata-rata dari kedua replikasi sebesar 776,46 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi IV bersifat toksik. Meskipun uji toksisitas dengan BST tidak dapat secara langsung menggambarkan kemampuan toksiknya terhadap sel kanker tertentu, namun metode ini sudah banyak dilaporkan bermanfaat untuk uji skrining senyawa aktif antikanker (Astuti et al. 2005). Hasil penelitian pada senyawa metabolit sekunder dari *Eucheuma alvarezii* diketahui bersifat toksik terhadap *A. salina*. Nilai LC50 dari ekstrak *E. alvarezii* yang terlarut dalam metanol adalah 23,33 ppm dan LC50 dari ekstrak *E. alvarezii* yang terlarut dalam kloroform adalah 89,74 ppm. Dari hasil penghitungan LC50 tersebut menunjukkan bahwa tanaman *E. alvarezii* dapat berpotensi sebagai antikanker (Nurhayati et al. 2006). Penelitian awal pada uji sitotoksik ekstrak etanol daun *Swietenia mahagoni* dengan uji BST menunjukkan nilai LC50 sebesar 6,61 µg/mL dan berpotensi sebagai kandidat antikanker (Akbar et al. 2009).

Tabel 1. Hasil uji BST bagian larut wash-benzena dan tidak larut wash- benzena daun amber

Sampel uji	Konsentrasi (ug/mL)	Rata-rata % kematian
Bagian larut wash- benzena	1000	52
	500	36
	250	17
Bagian tidak larut wash-benzena	1000	33
	500	22
	250	11
Kontrol	1000	0
	500	0
	250	0

Tabel 4. Persamaan regresi linier dan perhitungan nilai LC50-24 jam fraksi IV hasil fraksinasi dari bagian larut wash-benzena daun Ambre

Replikasi	Persamaan regresi linier	LC50 (µg/mL)
I	$y = 1,113x + 1,786$ $r^2 = 0,983$	758,58
II	$y = 1,029x + 1,98$ $r^2 = 0,972$	794,33
LC50-24jam rata-rata		776,46

Tabel 2. Fase gerak yang digunakan dalam fraksinasi bagian larut wash- benzena daun ambre

Fraksi	Fase gerak
1	Wash Benzena Wash Benzena: Kloroform (15:1 v/v) Wash Benzena: Kloroform (10:1 v/v) Wash Benzena: Kloroform (5:1 v/v) Wash Benzena: Kloroform (3:1 v/v) Wash Benzena: Kloroform (1:1 v/v)
2	Wash Benzena: Kloroform (1:3 v/v) Wash Benzena: Kloroform (1:5 v/v) Wash Benzena: Kloroform (1:10 v/v) Kloroform
3	Kloroform: Etil Asetat (10:1 v/v) Kloroform: Etil Asetat (5:1 v/v) Kloroform: Etil Asetat (3:1 v/v)
4	Kloroform: Etil Asetat (1:1 v/v)
5	Kloroform: Etil Asetat (1:3 v/v)
6	Kloroform: Etil Asetat (1:5 v/v)
7	Kloroform: Etil Asetat (1:10 v/v)
8	Etil Asetat
9	Metanol

Tabel 3. Hasil uji toksisitas fraksi daun ambre terhadap *A. salina*

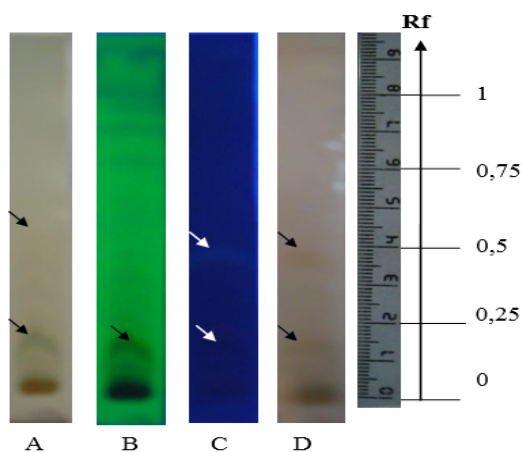
Sampel uji	Konsentrasi (ug/mL)	Replikasi (% kematian)	
		1	2
Fraksi I	250	16	8
	500	18	20
	1000	32	26
Fraksi II	250	14	22
	500	26	36
	1000	36	38
Fraksi III	250	26	28
	500	34	38
	1000	38	46
Fraksi IV	250	30	30
	500	40	38
	1000	56	54
Kontrol	250	0	0
	500	0	0
	1000	0	0

Keterangan: Blok hitam: Data yang menunjukkan persentase kematian yang potensial untuk uji selanjutnya

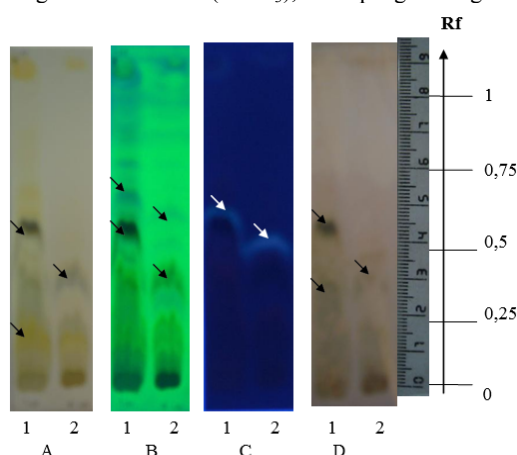
Tabel 5. Hasil KLT kromatogram fraksi IV daun Ambre

Rf	Penampakan Bercak					
	UV254	UV366	VA	LB	DD	Fe Cl3
0,16	-	-	ungu	-	-	-
0,44	-	-	ungu	-	-	Biru
0,58	-	-	-	-	-	Biru
0,68	peredaman	berpendar	-	-	-	-
0,85	-	-	ungu	-	-	-

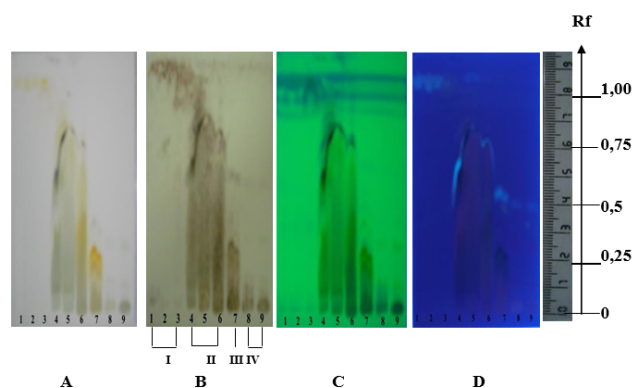
Keterangan: VA = Vanilin - asam sulfat; LB = Lieberman-Burchard; DD = Dragendorff



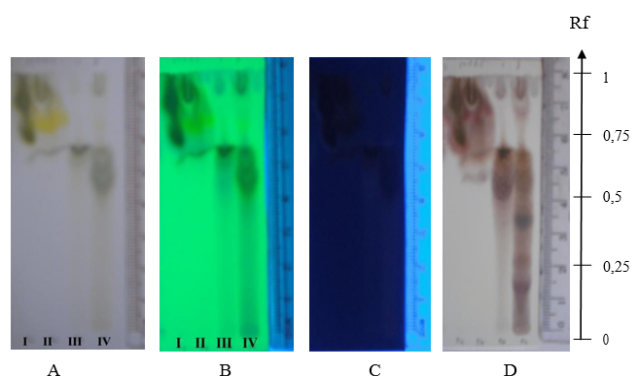
Gambar 1. Kromatogram hasil KLT ekstrak kloroform daun ambr. Keterangan: Deteksi dengan (A) sinar tampak; (B) UV254; (C) UV366; (D) Serum (IV) Sulfat; Fase diam: Silika Gel GF254, Fase gerak: Kloroform (CHCl_3), Jarak pengembangan: 8 cm



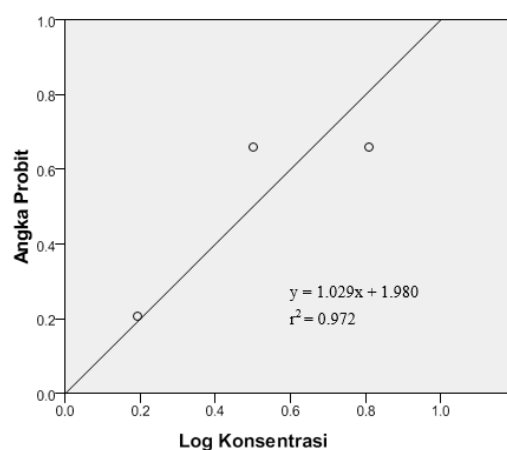
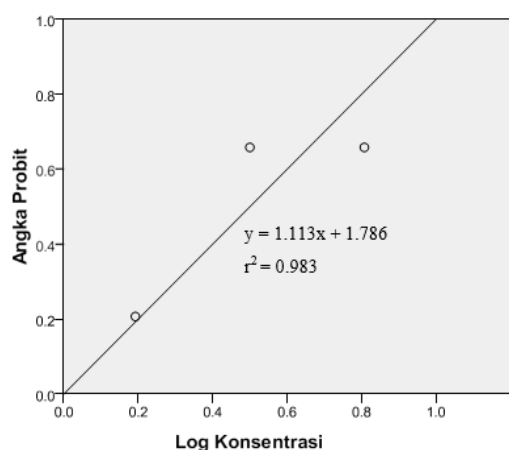
Gambar 2. Kromatogram hasil KLT Partisi ekstrak kloroform daun ambr deteksi dengan (A) sinar tampak; (B) UV254; (C) UV366; (D) serum(IV) sulfat. Keterangan: 1. Larut *wash-benzena*, 2. Tidak larut *wash-benzena*. Fase diam: Silika Gel GF254, Fase gerak: Kloroform (CHCl_3), Jarak pengembangan: 8 cm



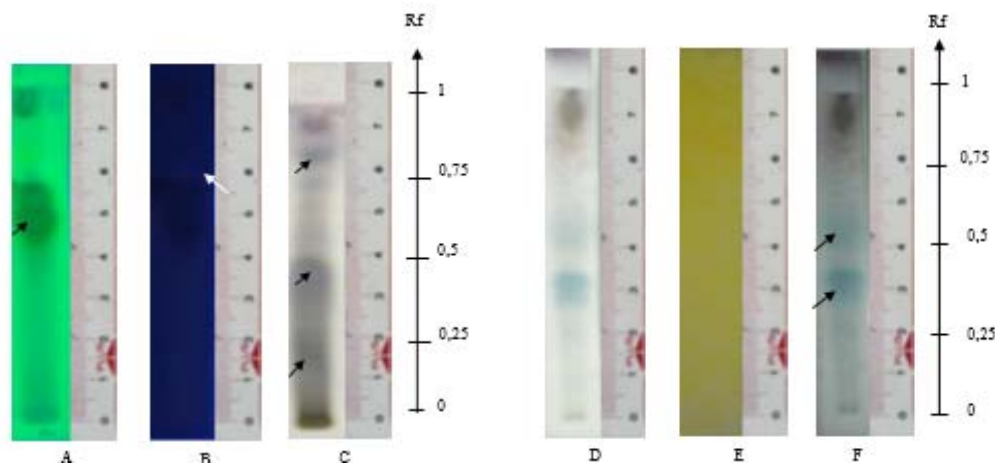
Gambar 3. Profil kromatogram masing-masing fraksi hasil fraksinasi dari partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun ambr dengan deteksi (A) Sinar tampak /visible; (B) Serum (IV) sulfat; (C) UV254; (D) UV366. Fase diam: Silika gel 60 GF254, Fase gerak: Kloroform, Jarak pengembangan: 7 cm



Gambar 4. Profil kromatogram penggabungan fraksi daun ambr dengan deteksi Sinar tampak/visible, (B) UV254, (C) UV366, (D) serum (IV) sulfat. Keterangan: Fraksi 1,2,3 menjadi fraksi I, fraksi 4,5,6 menjadi fraksi II, fraksi 7 menjadi fraksi III, fraksi 8,9 menjadi fraksi IV. Fase diam: Silika gel 60 GF254, Fase gerak: Kloroform, Jarak pengembangan: 7 cm



Gambar 5. Kurva regresi linier hasil uji toksisitas fraksi IV hasil fraksinasi bagian larut *wash-benzena* daun Ambre terhadap *A. salina* replikasi (kiri) dan replikasi II (kanan)



Gambar 6. Profil kromatogram fraksi IV daun Ambre dengan berbagai pereaksi penampak bercak. (A) UV254, (B) UV366, (C) Vanilin-asam sulfat, (D) Libermann Burchard, (E) Dragendorff, dan (F) FeCl₃. Fase diam: Silika gel 60 GF254, Fase gerak: kloroform:etil asetat 1:3 (v/v), Jarak pengembangan: 7 cm

Deteksi golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi teraktif (fraksi IV) kemudian dianalisis menggunakan metode KLT dengan beberapa pereaksi penampak bercak. Deteksi menggunakan sinar UV254, sinar UV366 dan beberapa pereaksi penampak bercak, yaitu Dragendorff, Vanilin-asam sulfat (Vanilin H₂SO₄), FeCl₃ dan Liebermann Burchard.

Pereaksi semprot yang digunakan diantaranya FeCl₃ untuk mendeteksi senyawa golongan fenol dengan respon positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna hijau sampai kelabu (Nurhayati et al. 2009). Vanilin H₂SO₄ untuk mendeteksi keberadaan senyawa terpenoid dengan respon positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi biru sampai ungu (Sulistijowati dan Gunawan 2001). Deteksi dengan pereaksi semprot Lieberman Burchard akan menunjukkan warna merah atau merah muda yang menandakan hasil positif untuk senyawa terpenoid dan terbentuknya warna biru atau hijau untuk hasil positif senyawa steroid (Lenny 2006).

Hasil deteksi bercak pada kromatogram menggunakan deteksi sinar tampak, sinar UV dan pereaksi semprot spesifik pada fraksi IV daun Ambre disajikan pada Tabel 5.

Profil KLT hasil fraksi IV hasil fraksinasi daun Ambre dengan berbagai deteksi penampak bercak dapat dilihat pada Gambar 6.

Hasil KLT menunjukkan bahwa hasil deteksi dengan sinar UV254 (Gambar 12.A) memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa bercak yang berwarna gelap berlatar belakang fluoresensi hijau. Peredaman yang terjadi pada UV254 ini menunjukkan adanya suatu senyawa. Deteksi dengan sinar UV366 (Gambar 12.B) memperlihatkan adanya bercak yang berfluoresensi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran dengan UV gelombang panjang.

Pemeriksaan alkaloid

Pelarut pengembang yang digunakan pada KLT untuk analisis alkaloid adalah kloroform: etil asetat (1:3 (v/v)). Plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff dan kemudian dikeringkan dengan suhu 110 °C selama 10 menit. Hasil kromatogram tidak menunjukkan adanya bercak berwarna coklat jingga (Gambar 12.E). Alkaloid dan basa nitrogen akan menunjukkan bercak berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff (Santosa 2005). Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa di dalam fraksi IV daun Ambre tidak terdapat senyawa golongan alkaloid.

Pemeriksaan fenolik

Hasil deteksi dengan pereaksi semprot FeCl₃ menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan perubahan warna totalan sampel fraksi menjadi biru, dengan R_f 0,44 dan 0,58 (Gambar 12.F), yang menunjukkan bahwa kandungan senyawa dalam fraksi IV daun Ambre terdapat golongan senyawa fenolik. Pereaksi semprot FeCl₃ merupakan cara klasik deteksi senyawa fenol sederhana yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat, tetapi kebanyakan fenol (terutama flavonoid) dapat dideteksi pada kromatogram berdasarkan warnanya atau fluoresensinya di bawah lampu UV, warnanya diperkuat atau berubah bila diuapi amonia. Senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV (Harborne, 1987). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 12.B, dimana pada spektrum UV366 tampak bercak biru sehingga dapat disimpulkan bahwa di dalam fraksi IV terdapat senyawa golongan fenolik.

Pemeriksaan terpenoid

Pelarut pengembang yang digunakan pada KLT untuk analisis terpenoid adalah kloroform: etil asetat (1:3 (v/v)). Pemeriksaan terpenoid dilakukan dengan menggunakan Vanilin-asam sulfat. Plat disemprot yang dengan pereaksi

tersebut kemudian dikeringkan dengan suhu 110 °C selama 10 menit. Pemeriksaan terpenoid menggunakan pereaksi Vanilin-asam sulfat, bila terdapat terpenoid maka akan menunjukkan bercak berwarna antara biru sampai ungu (Sulistijowati dan Gunawan 2001). Pada hasil kromatogram menunjukkan adanya bercak berwarna ungu pada Rf 0,16; 0,44; dan 0,85 (Gambar 12.C), sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi IV mengandung senyawa terpenoid.

Deteksi senyawa dengan pereaksi Liebermen-Burchad digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa triterpenoid (steroid) dengan hasil positif warna kuning jingga. Dari hasil pemeriksaan menunjukkan tidak adanya perubahan warna menjadi kuning jingga (Gambar 12.D). Hal ini memberikan hasil yang negatif, sehingga fraksi IV tersebut tidak mengandung senyawa triterpenoid (steroid).

Hasil pemeriksaan fenolik dengan pereaksi semprot FeCl₃ dan pemeriksaan terpenoid dengan Vanilin-asam sulfat menunjukkan hasil yang positif. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi IV mengandung senyawa terpenoid dan fenolik.

Hasil penelitian efek toksisitas komponen bioaktif daun Lobak (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Back.) menunjukkan fraksi tidak larut asetonitril mempunyai efek toksisitas tertinggi terhadap *A. salina* dengan nilai LC₅₀-24 jam sebesar 90,54 µg/mL. Senyawa toksik yang terdapat dalam fraksi tidak larut asetonitril daun Lobak yang diduga ikut bertanggungjawab menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. adalah golongan senyawa fenolik (Khoiriyah 2009). Senyawa fenolik dilaporkan mempunyai sejumlah aktifitas biologis termasuk antioksidan. Menurut Zhai (1998) terdapat hubungan antara proses terjadinya kanker (karsinogenesis) dengan senyawa antioksidan yang erat kaitannya dengan kerusakan oksidatif DNA. Dengan menekan reaksi oksidatif radikal bebas, kerusakan mitokondria sebagai organel penyedia energi dalam sel dapat dicegah. Antioksidan dapat melindungi disfungsi mitokondria dan gangguan lain yang dapat menyebabkan penyakit lain (Poon et al. 2004).

Hasil uji toksisitas fraksi VI dari fraksinasi fraksi larut etil asetat ekstrak kloroform daun Rumpun Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) menunjukkan toksisitas paling tinggi terhadap *A. salina* Leach dengan nilai LC₅₀-24 jam = 281,77 µg/mL dan berpotensi untuk diteliti lebih lanjut ke arah senyawa antikanker. Pada fraksi VI tersebut ditemukan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid dan senyawa *Ursolic acid* (Murdiyono 2008). Senyawa *Ursolic acid* termasuk dalam golongan senyawa triterpenoid. Senyawa *Ursolic acid* mempunyai efek antiproliferasi dan antivirus terhadap sel kanker serviks (Yim et al. 2006), selain itu *ursolic acid* dan 2 α -hydroxy*ursolic acid* dapat menghambat aktivitas pertumbuhan empat sel tumor yaitu HL-60, BGC, Bel-7402 dan Hela (Ma et al. 2005).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Moulissha et al. (2009) pada hasil isolasi dari buah *Dregea volubilis* ditemukan kandungan senyawa taraxeron yang termasuk golongan senyawa triterpenoid. Senyawa tersebut menunjukkan aktivitas antikanker pada sel leukemia K 562. Sun et al. (2007) menemukan adanya senyawa

Cimicifloetisida A dan B dari rhizoma *Cimicifunga foetida* yang merupakan senyawa golongan triterpenoid. Hasil uji sitotoksitas yang dilakukan, menunjukkan bahwa dua senyawa golongan triterpenoid tersebut dapat menghambat proliferasi sel kanker, yaitu EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*) dan MDA-MB-A231 (sel kanker payudara).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wu et al. (2004) menunjukkan sebagian besar kandungan bioaktif dari genus tanaman *Aristolochia* adalah golongan senyawa terpenoid. Pada tanaman *Aristolochia indica* memiliki kandungan senyawa bioaktif diantaranya (S)-Linalool dan α -terpinolene yang merupakan golongan monoterpenoid, serta α -humulene dan β -caryophyllene yang merupakan golongan sesquiterpenoid. Hasil uji pada tanaman *Aristolochia indica* menunjukkan adanya aktivitas antitumor dan diduga senyawa bioaktif dari kedua golongan terpenoid inilah yang bertanggung jawab.

Pemeriksaan beberapa golongan senyawa dari penelitian ini menunjukkan bahwa dalam fraksi IV daun ambre mengandung senyawa terpenoid dan fenolik. Kedua senyawa yang berhasil dideteksi tersebut dapat dikatakan sebagai golongan senyawa yang ikut bertanggung jawab terhadap kematian *A. salina* dan diduga merupakan senyawa yang dapat berpotensi sebagai antikanker. Namun tidak menutup kemungkinan ada golongan senyawa lain yang ikut bertanggung jawab terhadap efek toksik *A. salina* yang belum terdeteksi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan teknik purifikasi (pemurnian) seperti KLT preparatif atau kromatografi filtrasi gel dengan fase diam dan fase gerak tertentu serta atau purifikasi dengan alat *Gas Chromatography* (kromatografi gas). Penggunaan kromatografi sangat membantu dalam pendeteksian senyawa metabolit sekunder dan dapat dijadikan patokan untuk proses pengerjaan berikutnya dalam penentuan struktur senyawa. Metode identifikasi dan elucidasi struktur senyawa kimia dapat dilakukan dengan menggunakan alat Spektrofotometer Inframerah (IR), Spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti ¹H (¹H NMR) dan Spektroskopi Massa (Lenny 2006).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Hasil uji toksisitas fraksi IV dari hasil fraksinasi dari partisi larut wash- benzena ekstrak kloroform daun ambre menunjukkan toksisitas paling tinggi terhadap *A. salina* Leach dengan nilai LC₅₀-24 jam = 776,46 µg/mL dan berpotensi untuk diteliti lebih lanjut ke arah senyawa antikanker. Pada fraksi IV daun ambre ditemukan senyawa golongan terpenoid (Rf = 0,16; 0,44; 0,85) dan fenolik (Rf = 0,44; 0,58) yang diduga merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti P, Utami S, Pratiwi T, Hertiani T, Alam G, Tahir A, Wahyono S. 2005. Antimicrobial activity screening of marine sponges extracts collected from Barang Lomposea. *J Trad Med* (10): 32.
- Cannell RJP (Ed), 1998, How to approach the isolation of a natural product. In: Cannell RJP (ed.). *Methods in Biotechnology*. Vol. 4: Natural Products Isolation, Humana, Totowa, NJ.
- Carballo JL, Inda ZLH, Perez P, Gravalos MDG. 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *Biotechnology* 2 (17): 1-5.
- Cutler SJ, Cutler HG. 2000. *Biologically Active Natural Product: Pharmaceutical*. CRC Press, London.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia edisi II*. ITB Press, Bandung.
- Hargono D, Farouq, Sutarno S, Pramono S, Rahayu TR, Tanuatmadja US, Sumarsono. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Indrayani L, H Soetjipto, L Sihasale. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Berkala Penelitian Hayati* (12): 57-61.
- Khoiriyah Y N. 2009. Efek Toksisitas Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Back.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test sebagai Kandidat Antikanker dan Profil Kromatografi Lapisnya [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Lenny S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah (*Gruptophyllum pictum* L. Griff) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara, Sumatera.
- Ma CM, Cai SQ, Cui JR, Wang RQ, Tu PF, Hattori M, Daneshtalab M. 2005. The cytotoxic activity of ursolic acid derivated. *Eur J Med Chem* 40 (06): 582-589
- McLaughlin JL. 1991. Crown gall tumours on potato disc and brine shrimp lethality: two simple bioassay for higher plant screening and fractionation. *Meth Plants Biochem* 6 (1): 1-30.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45 : 31-34
- Moulissha B, Bikash MN, Partha P, Kumar GA, Sukdeb B, Kanti HP. 2009. In vitro anti-leishmanial and anti-tumour activities of a pentacyclic triterpenoid compound isolated from the fruits of *Dregea volubilis* Benth Asclepiadaceae. *Trop J Pharmaceut Res* 8 (2): 127-131.
- Murdiyono T. 2008. Uji Toksisitas Hasil Fraksinasi Daun Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) Terhadap *Artemia salina* Leach. dan Profil Kandungan Kimia Fraksi Teraktif [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Nurhayati APD, Abdulgani N, Febrianto R. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo* 2 : 41- 46.
- Nurhayati, Fachriyah NE, Kusriani D. 2009. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Trak Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga* L. Wild). Jurusan Kimia Universitas Diponegoro, Semarang.
- Poon HF, Calabrese V, Butterfield DA. 2004. Free radicals and brain aging. *Clinical Geriatri Medical* 20: 329-359
- Putra I. 2008. Artikel Ilmiah: Sentrifugasi, Metode Terpenting dalam Penelitian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rakhmawati R, Anggarwulan E, Retnaningtyas E. 2009. Potency of lobak leaves (*Raphanus sativus* L. var. *hortensis* Back) as anticancer and antimicrobial candidates. *Biodiversitas* 10 (3): 158-162.
- Santosa CM, Hertiani T. 2005. Kandungan senyawa kimia dan efek ekstrak air daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) pada aktivitas fagositosis netrofil tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (3): 141 - 148.
- Sulistijowati A, Gunawan D. 2001. Efek ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* (130): 32-36.
- Sun L, Qing C, Zhang Y, Jia S, Li Z, Pei S, Qiu M, Gross M L, Qiu S X. 2007. Cemicifoetisides glycosides from the rhizomes of *Cimicifuga foetida*, inhibit proliferation of cancer cells. *Beilstein J Chem* 3 (3). DOI: 10.1186/1860-5397-3-3
- Wahyuni DSC, Rakhmawati R. 2008. Skrining Toksisitas Beberapa Tanaman di Kawasan Tawangmangu Surakarta dan Profil Kandungan Kimianya. Laporan Penelitian Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Wahyuningsih MSH, Wahyuono S, Santoso D, Setiadi J, Soekotjo, Widiastuti SM, Rakhmawati R, Wahyuni DSC. 2008. Eksplorasi Tumbuhan Dari Hutan Kalimantan Tengah Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Biodiversitas* 9 (3):169-172.
- Wu T, Damu A G, Rensu C, Kuo P C. 2004. Terpenoids of Aristolochia and their Biological Activities. *Natural Product*. Departement of Chemistry National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan.
- Yim EK, Lee MJ, Lee KH, Um SJ, Park JS. 2006. Antiproliferatif and antiviral mechanism of ursolic acid and dexamethasone in cervical carcinoma cell line. *Intl J Gynecol Cancer* (16): 2023-2031.
- Zhai S, Dai R, Friedman F, Vestal R. 1998. Comparative inhibition of human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 by flavonoids. *Drug Metabol Dispos* 26 (10) 989-989.

Karakteristik oleoresin jahe berdasarkan ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol

Characteristics of ginger oleoresin based on powder size and submerging duration in ethanol

MUH. IRFAN FAKHRUDIN, CHOIRUL ANAM, M.A.M. ANDRIANI

Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 11 September 2014. Revisi disetujui: 5 Januari 2015.

Abstract. Fakhrudin MI, C Anam, MAM Andriani. 2009. *Characteristics of ginger oleoresin based on powder size and submerging duration in ethanol*. Biofarmasi 13: 25-33. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) is one of high-production commodities in Indonesia, particularly in Central Java Province. Nevertheless, in general, ginger is usually traded in fresh ginger form or simple processing results, such as dry ginger or ginger powder. Ginger oleoresin is a combination of resin, and volatile oils derive from ginger powder extraction by using organic solvent. Oleoresin is used as food and beverage flavoring substance having taste and aroma characteristics similar to the original spices. In addition, to give ginger hot taste, oleoresin is also hygienic as well as contains natural antioxidant. The research aims to find out whether or not the ginger powder size and submerging duration in ethanol, as well as, the interaction of them affect the oleoresin characterization produced. The experimental design employed was factorial design with two factors: ginger powder size variations (20 mesh, 30 mesh, 50 mesh) and ginger powder submerging duration variations in ethanol (extraction) (24 hours, 48 hours, 72 hours). The data was obtained from the submerging analysis, density, and solvability in alcohol, acid and ester values, as well as phenol content of ginger oleoresin. The result of research shows that the ginger powder size and submerging duration in ethanol affect the oleoresin characterization produced; the smaller the ginger powder size and the longer the submerging duration of ginger powder in ethanol, the higher are the values of submerging, density, acid value, ester as well as phenol content. The interaction of them only affects the oleoresin density. The range of submerging value obtained is 8-14.5%; density 1.2252-1.2809; solvability in alcohol 1:6-1:10; acid value 0.560-2.248; ester value 5.416-14.978 as well as phenol content 3-7%.

Keywords: Ethanol, ginger, oleoresin, powder size, submerging duration

PENDAHULUAN

Dari segi jumlah, jenis, kegunaan maupun mengenai nilai ekonominya, komoditas jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) terus berkembang. Produksi jahe di Propinsi Jawa Tengah dari tahun 1997-2001 cukup tinggi, yaitu 5.224-6.692 ton. Produksi jahe secara maksimal juga cenderung meningkat dari tahun ke tahun, kecuali pada tahun 2001 terjadi sedikit penurunan (BPS Jawa Tengah 2006). Ekspor jahe Indonesia pada tahun 1999 mencapai 43.193 ton, sebagian besar dalam bentuk jahe segar dan jahe kering (Departemen Pertanian 2005).

Produk olahan jahe lainnya yang dapat dikembangkan adalah oleoresin jahe. Oleoresin jahe merupakan campuran resin dan minyak atsiri yang diperoleh dari ekstraksi serbuk jahe menggunakan pelarut organik. Menurut Uhl (2000), resin tersebut terdiri dari komponen-komponen aktif berupa fenol yang terkandung dalam oleoresin seperti gingerol, shogaol, dan zingerone; yang memberikan rasa pedas. Komponen minyak atsiri jahe adalah apinene, camphene, phellendrene, mycene, cineol, methytheptenone, borneol, linalool, citral, C10 dan Ca-aldehid, a dan b-zingiberone, a-curcumene, farnesene, sesquiterpene alkohol yang memberikan karakteristik aroma jahe (Panda, 2004).

Komponen fenol dalam oleoresin jahe, selain memberikan rasa pedas khas jahe, juga berperan sebagai antioksidan alami (Gouvindarajan 1982). Komponen-komponen fenol seperti 6-gingerol dan 6-shogaol dikenal memiliki aktivitas antioksidan cukup tinggi (Nakatani 1992).

Menurut Uhl (2000), oleoresin jahe dapat dibuat dengan penggilingan atau pengecilan ukuran rempah-rempah, dilanjutkan ekstraksi dengan pelarut dan penguapan pelarut. Oleoresin jahe memiliki aroma dan rasa pedas yang kuat seperti rempah-rempah segar atau kering karena mengandung komponen volatile (minyak atsiri) dan non volatile. Minyak atsiri memberikan aroma yang khas untuk setiap jenis rempah-rempah, sedangkan komponen non volatile terdiri dari gum dan resin. Komponen-komponen berupa asam amida misalnya kapsaisin pada lada merah atau piperin pada lada hitam, karbonil misalnya gingerol pada jahe, dan tioester misalnya dialilsulfida pada bawang putih dan bawang merah akan memberikan karakteristik (panas atau pedas) secara berbeda-beda.

Oleoresin jahe digunakan secara meluas dalam industri pangan, dalam campuran minyak untuk flavor permen, minuman keras dan saos. Salah satu contoh penggunaan oleoresin dalam industri pangan adalah flavor jahe. Bahan-bahan yang digunakan untuk flavor jahe adalah minyak jahe, oleoresin jahe, minyak lemon, minyak cengkeh,

dipropeline glikol, dan polisorbat dengan komposisi tertentu. Hasilnya adalah flavor jahe dengan kenampakan berupa cairan coklat kemerahan dengan bau khas jahe. Penggunaan oleoresin tersebut memiliki kelebihan dalam hal keseragaman (konsentrasi, rasa, dan aroma), umur simpan, penyimpanan yang mudah, serta keamanan dari kontaminasi mikrobiologis. Selain menimbulkan rasa pedas jahe, oleoresin juga bersifat higienis, mengandung antioksidan alami, bebas enzim, dan cukup stabil (Anam dan Manuhara, 2005).

Oleoresin dimanfaatkan sebagai bahan penyedap makanan dan minuman yang mempunyai karakteristik rasa dan aroma sama dengan rempah-rempah aslinya. Oleoresin jahe merupakan produk oleoresin jahe yang berupa cairan pekat, berwarna coklat tua dan minyak atsiri 15% - 35% (Santoso 1989).

Menurut Anam dan Manuhara (2005), teknik pengolahan oleoresin jahe yang lazim dan sering digunakan yaitu teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut organik. Prinsip kerjanya adalah diawali dengan penggilingan rimpang jahe kering yang tidak dikupas kemudian menghancurkannya hingga diperoleh serbuk jahe. Selanjutnya dilakukan ekstraksi oleoresin dari serbuk jahe dengan menggunakan pelarut organik (etanol atau aseton). Selama proses ekstraksi berlangsung maka harus dipastikan bahwa seluruh serbuk jahe terendam dalam pelarut. Kemudian hasilnya disaring untuk mendapatkan cairan berwarna coklat kekuningan atau coklat gelap yang terdiri dari oleoresin dan sisa pelarut. Tahap terakhir dari pengolahan jahe menjadi oleoresin ini adalah proses penguapan pelarut dengan prinsip perbedaan titik didih.

Pada teknik pengolahan oleoresin jahe tersebut, terdapat tahap pembuatan serbuk jahe dan tahap perendaman serbuk jahe dalam etanol untuk mengekstrak oleoresin dalam jahe. Untuk mempermudah proses ekstraksi, sebelumnya dilakukan perlakuan terhadap bahan. Perlakuan pendahuluan yang biasa dikerjakan untuk mempermudah ekstraksi yaitu pengeringan dan pengecilan ukuran bahan (pembuatan serbuk jahe). Pengecilan ukuran bertujuan untuk mempercepat penetrasi uap atau bahan pelarut ke dalam bahan yang akan diekstrak, sehingga dalam waktu yang lebih singkat rendemen minyak yang akan diperoleh lebih tinggi. Sebenarnya semakin kecil ukuran bahan (makin luas permukaan bahan) semakin banyak minyak yang dapat diekstrak, akan tetapi ukuran bahan yang terlalu kecil juga menyebabkan banyak minyak yang menguap selama penghancuran (Kadin 2007).

Menurut Utomo dan Cisilia (2003), untuk menghasilkan oleoresin dengan rendemen yang tertinggi maka ekstraksi dilakukan dengan ukuran serbuk jahe sebesar 20 sampai 30 mesh dan rasio pelarut 1:5. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol selama 24 jam (Ariviani 1999). Waktu ekstraksi oleoresin yang terlalu lama akan menyebabkan minyak atsiri menguap dan mengalami oksidasi sehingga berbau tengik. Oleoresin yang dihasilkan dari proses ekstraksi tersebut masih mengandung pelarut organik, sehingga pelarut ini harus dihilangkan dengan diuapkan menggunakan cara distilasi vakum (Utomo dan Cisilia, 2003). Perolehan oleoresin dengan rendemen tertinggi dicapai dengan menggunakan

pelarut etanol, rendemen yang dihasilkan sebesar 11%-12% dari bahan kering (Sundari, 2001 dalam Abubakar et al, 2007).

Tujuan dari penelitian ini adalah: (i) mengetahui apakah ukuran serbuk jahe berpengaruh terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan. (ii) mengetahui apakah lama perendaman serbuk jahe dalam etanol berpengaruh terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan. (iii) mengetahui apakah interaksi antara keduanya yakni ukuran serbuk jahe dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol berpengaruh terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian UNS dalam jangka waktu 5 bulan, yakni bulan Maret 2008 sampai dengan bulan Juli 2008.

Alat dan bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe (*Zingiber officinale*) dari varietas jahe emprit untuk membuat oleoresin. Jahe emprit digunakan dengan maksud agar diperoleh oleoresin dalam jumlah yang banyak dengan harga yang relatif murah.

Pada penentuan berat jenis dan kelarutan dalam alkohol dari oleoresin jahe maka digunakan metode dari Guenther dengan bahan yaitu aquadest untuk penentuan berat jenis dan alkohol 90% untuk penentuan kelarutan dalam alkohol. Kemudian bahan yang digunakan untuk penentuan bilangan asam pada oleoresin jahe dengan metode dari Guenther adalah alkohol 95%, indikator phenolphthalein 1%, larutan 0,1 N NaOH yang telah distandarisasi.

Untuk penentuan bilangan ester pada oleoresin dengan metode dari Guenther, bahan yang digunakan yakni alkohol 95 %, indikator phenolphthalein 1%, larutan 0,1 N NaOH standard, larutan 0,5 N NaOH, serta larutan 0,5 N HCl standard. Selanjutnya untuk penentuan kandungan fenol dalam oleoresin, bahan yang digunakan antara lain larutan KOH 1 N.

Alat yang digunakan meliputi alat perajang jahe, blender, neraca analitik, ayakan 20 mesh, ayakan 30 mesh, ayakan 50 mesh, kertas whatman 40, vacuum evaporator, mikropipet, stopwatch, gelas beker, labu cassia, pipet tetes, buret, pipet ukur, pengaduk gelas, erlenmeyer.

Cara kerja

Preparasi sampel

Sampel jahe kering dari varietas jahe emprit dipilih yang utuh dan tidak cacat, kemudian dicuci dan dikupas. Jahe diiris tipis-tipis dengan ketebalan ± 3 mm untuk mempercepat proses pengeringan dalam kabinet dryer pada suhu 50°C selama 12 jam. Setelah kering, jahe dikecilkan ukurannya untuk mengoptimalkan ekstraksi. Pengecilan ukuran dilakukan dengan pemblenderan menggunakan blender kering, dan selanjutnya diseragamkan ukurannya

dengan pengayakan menggunakan 3 macam variasi ayakan yang berbeda, yakni ayakan 20 mesh (U1), ayakan 30 mesh (U2), serta ayakan 50 mesh (U3) (Tabel 1). Serbuk jahe yang lolos ayakan 20 mesh, 30 mesh, serta 50 mesh siap untuk diekstraksi kandungan oleoresinnya.

Ekstraksi oleoresin jahe

Ekstraksi oleoresin jahe dilakukan dengan menggunakan metode yang digunakan Ariviani (1999). Serbuk jahe diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol dengan perbandingan serbuk: pelarut = 1: 3 (b/v) dengan 3 variasi lama perendaman (ekstraksi) yakni selama 24 jam (T1), 48 jam (T2) serta 72 jam (T3) (Tabel 1).. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan kertas whatman 40. Filtrat yang diperoleh lalu diuapkan pelarutnya dalam *vacum evaporator* pada suhu 50° C sampai pelarut sudah menguap semua. Filtrat yang tidak menguap tersebut merupakan oleoresin jahe.

Tabel 1. Rancangan percobaan

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)		
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)
20 mesh (U1)	U1T1	U1T2	U1T3
30 mesh (U2)	U2T1	U2T2	U2T3
50 mesh (U3)	U3T1	U3T2	U3T3

Keterangan: *Masing-masing perlakuan dilakukan pengujian sebanyak 3 ulangan

Pengujian kadar oleoresin jahe (Guenther 1948)

Randemen merupakan kadar kandungan oleoresin (randemen) di dalam rimpang jahe yang dinyatakan dengan persen. Kadar oleoresin dinyatakan dalam volume per berat, sehingga perhitungannya berdasarkan berat kering, yakni:

$$\text{Kadar Oleoresin} = \frac{\text{volume oleoresin (ml)}}{\text{berat kering sampel (gram)}} \times 100\%$$

Pengujian berat jenis oleoresin jahe (Guenther 1948)

Berat jenis sample (oleoresin) dapat didefinisikan sebagai perbandingan dari berat sample dengan berat air dalam volume dan suhu yang sama (Guenther 1948). 1 ml aquadest yang diambil dengan pipet volume 1 ml ditimbang beratnya. Selanjutnya ambil 1 ml oleoresin dengan pipet volume 1 ml dan ditimbang beratnya, pengambilan sampel oleoresin dilakukan setelah 1 jam dari proses pembuatan oleoresin selesai dilakukan. Berat jenis oleoresin tersebut adalah hasil bagi dari berat oleoresin dengan berat aquadest dalam volume dan suhu yang sama atau hasilnya dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Berat Jenis} = \frac{\text{berat 1 ml minyak pada } T^{\circ}\text{C}}{\text{berat 1 ml air pada } T^{\circ}\text{C}}$$

Koreksi temperatur pembacaan ke temperatur standard yang diinginkan dirumuskan (AOAC 1970):

$$\text{Berat Jenis } (25^{\circ}\text{C}) = \text{Berat Jenis } (T^{\circ}\text{C}) + 0,00064 (T - 25)$$

Pengujian kelarutan dalam alkohol oleoresin jahe (Guenther 1948)

Sampel oleoresin diambil sebanyak 1 ml, masukkan dalam tabung reaksi, pengambilan sampel oleoresin dilakukan setelah 2 jam dari proses pembuatan oleoresin selesai dilakukan. Ditambah alkohol 90% sedikit demi sedikit sampai terbentuk larutan jernih. Setiap kali penambahan alkohol, tabung dikocok atau digoyang-goyang. Kelarutan dalam alkohol dinyatakan dalam jumlah alkohol yang dibutuhkan untuk melarutkan 1 ml oleoresin. Semakin besar kelarutan oleoresin dalam alkohol, semakin baik mutunya (SII 1988). Kelarutan dalam alkohol dinyatakan sebagai berikut:

Kelarutan dalam 90% alkohol = 1 volume dalam Y volume

Penentuan bilangan asam oleoresin jahe (Guenther 1948)

Oleoresin sebanyak 1 g, dimasukkan dalam Erlenmeyer 100 ml. kemudian ditambahkan 15 ml alkohol netral 95% dan 3 tetes indikator phenolphthalein 1%. Titiasi dengan larutan 0,1 N NaOH yang telah distandarisasi sampai terbentuk warna merah jambu yang tidak hilang selama 10 detik. Pada penentuan ini, basa yang digunakan adalah NaOH, dan besarnya bilangan asam dihitung berdasarkan:

$$\text{Bilangan Asam} = \frac{56,1 \times N \text{ NaOH} \times V \text{ NaOH}}{\text{berat sampel (gram)}}$$

Penentuan bilangan ester oleoresin jahe (Guenther 1948)

Oleoresin sebanyak 1,5 gram, ditambahkan 5 ml alkohol netral 95 % dan 3 tetes indikator phenolphthalein 1%. Campuran tersebut dinetralkan dengan larutan 0,1 N NaOH standard, kemudian ditambah dengan 10 ml 0,5 N NaOH. Dididihkan selama 1 jam, dan dinginkan selama 15 menit. Titiasi kelebihan NaOH dengan menggunakan 0,5 N HCl standard dan indikator phenolphthalein. Selain itu juga dilakukan titrasi blanko. Besarnya bilangan ester dapat diperhitungkan dengan rumus:

$$\text{Bilangan Ester} = \frac{\text{ml HCl (blanko - sampel)} \times N \text{ HCl} \times 56,1}{\text{berat sampel (gram)}}$$

Penentuan kandungan fenol oleoresin jahe (Guenther 1948)

Sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam labu cassia 150 ml, yang diukur dengan pipet. Tambahkan 75 ml larutan KOH 1 N, yang diukur dengan gelas ukur. Botol ditutup dan kocok selama 5 menit. Diamkan selama 1 jam, sesudah itu tambahkan larutan KOH yang berlebihan untuk mendesak minyak yang tidak larut ke bagian leher tabung. Ukur jumlah oleoresin yang tidak larut dalam volume atau persen volume, hasilnya dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Persentase fenol = 10 (10 - jumlah ml oleoresin yang tidak terlarut)

Rancangan percobaan berupa rancangan faktorial dengan dua faktor yaitu variasi ukuran serbuk jahe (20 mesh, 30 mesh, 50 mesh) dan variasi lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (ekstraksi) (24 jam, 48 jam, 72 jam). Data yang diperoleh dari analisa randemen, berat

jenis, kelarutan dalam alkohol, bilangan asam, bilangan ester, serta kandungan fenol kemudian dianalisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5%, apabila terdapat beda nyata dilanjutkan DMRT pada $\alpha = 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar oleoresin jahe (randemen)

Peneliti menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) Randemen merupakan kadar kandungan oleoresin di dalam rimpang jahe yang dinyatakan dengan persen. Hasil dari tiap-tiap perlakuan terhadap kadar (randemen) oleoresin yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 2.

Pada perlakuan pengecilan ukuran sebesar 20 mesh diperoleh randemen oleoresin sebesar 8%; 9% dan 9,67%. Pada ukuran sebesar 30 mesh diperoleh randemen oleoresin sebesar 11,83%; 12,17% dan 12,67%. Pada ukuran sebesar 50 mesh diperoleh randemen oleoresin sebesar 12,83%; 13,67% serta 14,50%. Berdasarkan hasil analisa statistik menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan pengecilan ukuran berpengaruh terhadap randemen oleoresin yang dihasilkan.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol selama 24 jam diperoleh randemen oleoresin sebesar 8%; 11,83% dan 12,83%. Pada perendaman selama 48 jam diperoleh randemen oleoresin sebesar 9%; 12,17% dan 13,67%. Pada perendaman selama 72 jam diperoleh randemen oleoresin sebesar 9,67%; 12,67% serta 14,50%. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh terhadap randemen oleoresin yang dihasilkan.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, tidak berpengaruh terhadap randemen oleoresin yang dihasilkan. Seberapa besar pengaruh perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman dapat disimak pada Tabel 2.

Pengecilan ukuran bertujuan untuk memperluas atau memperbesar luas permukaan bahan, sehingga kontak antara bahan sumber oleoresin dengan etanol ketika perendaman menjadi lebih besar dan lebih merata. Akibatnya oleoresin akan lebih mudah terekstrak serta jumlahnya lebih banyak. Menurut Bernasconi et al (1995), perbesaran luas permukaan dimaksudkan antara lain untuk mempercepat pelarutan, serta menambah kekuatan warna. Selain itu, menurut Ketaren (1987), ekstraksi minyak atsiri dapat dipermudah dengan melakukan perajangan atau pengecilan ukuran untuk merusak dinding-dinding sel yang bersifat semipermeabel, sehingga dengan rusaknya dinding-dinding sel atau jaringan bahan maka minyak menjadi lebih mudah terekstrak. Oleh sebab itu, semakin kecil ukuran serbuk jahe maka semakin besar randemen oleoresin yang dihasilkan.

Perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol (ekstraksi) yang lebih lama akan menghasilkan randemen oleoresin yang lebih besar, hal ini dikarenakan semakin lamanya proses ekstraksi maka semakin lama juga waktu kontak antara bahan sumber oleoresin dengan etanol,

sehingga oleoresin akan lebih mudah terekstrak serta jumlahnya lebih banyak. Oleh sebab itu, semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol maka semakin besar randemen oleoresin yang dihasilkan. Akan tetapi, dengan uji DMRT 5% ternyata semua perlakuan lama perendaman tidak berbeda nyata. Hal ini diduga pada perlakuan lama perendaman selama 24 jam telah tercapai kondisi yang konstan, sehingga lama perendaman yang lebih lama, yakni 48 jam dan 72 jam tidak nyata pengaruhnya. Menurut Anonim (1986) cit. Rakhmawati (2006), ekstraksi merupakan proses pemindahan atau penarikan masa zat aktif di dalam sel, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan melarut. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel menyebabkan larutan dengan konsentrasi tinggi didesak keluar ke konsentrasi rendah, peristiwa tersebut terjadi berulang terus hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Menurut Balittro (2008), pada pembuatan oleoresin jahe, teknik ekstraksi yang optimal adalah menggunakan serbuk jahe berukuran 60 mesh, jenis pelarut yang digunakan alkohol 70%, perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 6 jam.

Berat jenis oleoresin jahe

Berat jenis oleoresin dapat didefinisikan sebagai perbandingan dari berat oleoresin dengan berat air dalam volume dan suhu yang sama (Guenther 1948). Hasil dari tiap-tiap perlakuan terhadap nilai berat jenis oleoresin yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 3. Pada perlakuan pengecilan ukuran sebesar 20 mesh diperoleh berat jenis oleoresin sebesar 1,2265; 1,2282 dan 1,2353. Pada ukuran sebesar 30 mesh diperoleh berat jenis oleoresin sebesar 1,2381; 1,2391 dan 1,2455. Pada ukuran sebesar 50 mesh diperoleh berat jenis oleoresin sebesar 1,2683; 1,2750 serta 1,2802. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan pengecilan ukuran berpengaruh terhadap berat jenis oleoresin yang dihasilkan.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol selama 24 jam diperoleh berat jenis oleoresin sebesar 1,2265; 1,2381 dan 1,2683. Pada perendaman selama 48 jam diperoleh berat jenis oleoresin sebesar 1,2282; 1,2391 dan 1,2750. Pada perendaman selama 72 jam diperoleh berat jenis oleoresin sebesar 1,2353; 1,2455 serta 1,2802. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh terhadap berat jenis oleoresin yang dihasilkan.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, berpengaruh terhadap berat jenis oleoresin yang dihasilkan. Seberapa besar pengaruh perlakuan pengecilan ukuran, lama perendaman serta interaksi antara keduanya dapat disimak pada Tabel 3. Pada perlakuan pengecilan ukuran, terjadi gesekan atau benturan antara bahan sumber oleoresin dengan alat pengecil ukuran (blender), sehingga menimbulkan panas pada bahan sumber oleoresin yang

diblender. Adanya panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender menyebabkan terjadinya polimerisasi dan resinifikasi dari sebagian komponen yang ada di dalam minyak atsiri pada oleoresinnya. Polimerisasi dan resinifikasi menyebabkan terbentuknya senyawa resin dan polimer-polimer yang mempunyai berat molekul lebih tinggi (Widada 1993), sehingga viskositas oleoresinnya bertambah besar dan berat jenis oleoresin tinggi. Oleh sebab itu, semakin kecil ukuran serbuk jahe maka berat jenis oleoresin yang dihasilkan semakin tinggi.

Perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol (ekstraksi) yang lebih lama akan menghasilkan oleoresin dengan berat jenis yang lebih tinggi, hal ini dikarenakan semakin lamanya proses ekstraksi maka semakin lama juga waktu kontak antara bahan sumber oleoresin dengan etanol, sehingga menyebabkan semakin banyaknya padatan yang terlarut dalam oleoresin yang dihasilkan. Oleh sebab itu, oleoresin yang dihasilkan mempunyai viskositas yang besar dan berat jenisnya pun tinggi. Semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol, maka berat jenis oleoresin yang dihasilkan semakin tinggi. Akan tetapi, dengan uji DMRT 5% ternyata semua perlakuan lama perendaman tidak berbeda nyata. Hal ini diduga pada perlakuan lama perendaman selama 24 jam telah tercapai kondisi yang konstan, sehingga lama perendaman yang lebih lama, yakni 48 jam dan 72 jam tidak nyata pengaruhnya. Kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Balittro (2008), pada pembuatan oleoresin jahe, teknik ekstraksi yang optimal adalah menggunakan serbuk jahe berukuran 60 mesh, jenis pelarut yang digunakan alkohol 70%, perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 6 jam.

Interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, juga menghasilkan oleoresin dengan nilai berat jenis yang berbeda nyata. Pengecilan ukuran bahan sumber oleoresin dapat menyebabkan terjadinya polimerisasi dan resinifikasi dari sebagian komponen yang ada di dalam minyak atsiri pada oleoresinnya akibat adanya panas yang ditimbulkan ketika proses pengecilan ukuran dilakukan. Polimerisasi dan resinifikasi menyebabkan terbentuknya senyawa resin dan polimer-polimer yang mempunyai berat molekul lebih tinggi, sehingga viskositas oleoresinnya bertambah besar dan berat jenis oleoresinnya tinggi. Pada perendaman serbuk jahe dalam etanol, semakin lamanya proses perendaman maka semakin lama juga waktu kontak antara bahan sumber oleoresin (serbuk jahe) dengan etanol, sehingga menyebabkan semakin banyaknya padatan yang terlarut dalam oleoresin yang dihasilkan. Oleh sebab itu, oleoresin yang dihasilkan mempunyai viskositas yang besar dan berat jenisnya pun tinggi. Semakin kecil ukuran serbuk jahe dan semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol, maka berat jenis oleoresin yang dihasilkan semakin tinggi.

Kelarutan oleoresin jahe dalam alkohol

Kelarutan dalam alkohol dinyatakan dalam jumlah alkohol yang dibutuhkan untuk melarutkan 1 ml oleoresin. Semakin besar kelarutan sampel dalam alkohol, semakin baik mutunya (SII 1988). Hasil dari tiap-tiap perlakuan

terhadap kelarutan oleoresin dalam alkohol ditunjukkan pada Tabel 4.

Pada perlakuan pengecilan ukuran sebesar 20 mesh diperoleh angka kelarutan oleoresin sebesar 0,1667; 0,1508 dan 0,1429. Pada ukuran sebesar 30 mesh diperoleh angka kelarutan oleoresin sebesar 0,1369; 0,1250 dan 0,1250. Pada ukuran sebesar 50 mesh diperoleh angka kelarutan oleoresin sebesar 0,1111; 0,1074 serta 0,1037. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan pengecilan ukuran berpengaruh terhadap kelarutan oleoresin dalam alkohol.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol selama 24 jam diperoleh angka kelarutan oleoresin sebesar 0,1667; 0,1369 dan 0,1111. Pada perendaman selama 48 jam diperoleh angka kelarutan oleoresin sebesar 0,1508; 0,1250 dan 0,1074. Pada perendaman selama 72 jam diperoleh angka kelarutan oleoresin sebesar 0,1429; 0,1250 serta 0,1037. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh terhadap kelarutan oleoresin dalam alkohol.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, tidak berpengaruh terhadap kelarutan oleoresin dalam alkohol. Seberapa besar pengaruh perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman dapat disimak pada Tabel 4.

Pengecilan ukuran bertujuan untuk memperluas atau memperbesar luas permukaan bahan, sehingga kontak antara bahan sumber oleoresin dengan etanol ketika perendaman menjadi lebih besar dan lebih merata. Akibatnya oleoresin akan lebih mudah terekstrak serta jumlahnya pun lebih banyak. Namun, pada proses pengecilan ukuran, timbul panas akibat adanya benturan/gesekan antara bahan sumber oleoresin dengan alat pengecil ukuran (blender). Oleh sebab itu, adanya panas tersebut dapat mengakibatkan terjadinya polimerisasi pada terpena tersebut. Hal tersebut menyebabkan kelarutan dalam alkohol relatif kecil (lebih sukar larut dalam alkohol). Polimerisasi terbentuk dari senyawa isoprena dan monoterpena serta senyawa yang mengandung gugus fungsional misalnya aldehid dan keton. Polimerisasi akan menghasilkan resin dan fraksi terpena atau sesquiterpena yang mempunyai kelarutan dalam alkohol relatif rendah (Rachman et al 1990 *cit.* Widada 1993).

Kelarutan oleoresin dalam alkohol disebabkan oleh adanya komponen kimia yang mengandung gugus OH. Semakin banyak senyawa yang mengandung gugus tersebut, maka akan semakin tinggi kelarutannya, sedangkan adanya komponen terpena terutama monoterpena dan sesquiterpena akan menurunkan kelarutan oleoresin tersebut dalam alkohol. Semakin banyak jumlah alkohol yang ditambahkan untuk melarutkan oleoresin, berarti semakin kecil kelarutannya.

Kelarutan oleoresin dalam alkohol digunakan untuk mengetahui kerusakan minyak atsiri pada oleoresin yang dihasilkan akibat proses resinifikasi. Perbedaan kelarutan dalam alkohol sangat dipengaruhi oleh komponen-komponen yang terkandung dalam oleoresin jahe. Senyawa hasil polimerisasi akan menurunkan kelarutan oleoresin

dalam alkohol. Proses polimerisasi mudah terjadi terutama pada minyak atsiri dalam oleoresin jahe yang mengandung sejumlah besar terpena yang disebabkan oleh panas (Hermani dan Rishaferi 1989). Oleh sebab itu, semakin kecil ukuran serbuk jahe, maka kelarutan oleoresin yang dihasilkan semakin rendah.

Tabel 2. Pengaruh ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol terhadap randemen oleoresin jahe

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)			Rata-rata
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)	
20 mesh (U1)	8,00	9,00	9,67	8,89a
30 mesh (U2)	11,83	12,17	12,67	12,22b
50 mesh (U3)	12,83	13,67	14,50	13,67c
Rata-rata	10,89a	11,61a	12,28a	11,59

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Tabel 3. Pengaruh ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol terhadap berat jenis oleoresin jahe

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)			Rata-rata
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)	
20 mesh (U1)	1,2265a	1,2282a	1,2353b	1,2300a
30 mesh (U2)	1,2381c	1,2391c	1,2455d	1,2409b
50 mesh (U3)	1,2683e	1,2750f	1,2802g	1,2745c
Rata-rata	1,2443a	1,2474a	1,2537a	1,2485

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Tabel 4. Pengaruh ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol terhadap kelarutan oleoresin dalam alkohol

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)			Rata-rata
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)	
20 mesh (U1)	1: 6	1: 6,7	1: 7	1: 6,56c
30 mesh (U2)	1: 7,3	1: 8	1: 8	1: 7,78b
50 mesh (U3)	1: 9	1: 9,3	1: 9,7	1: 9,33a
Rata-rata	1: 7,44a	1: 8,00a	1: 8,22a	1: 7,89

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Tabel 5. Pengaruh ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol terhadap bilangan asam oleoresin jahe

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)			Rata-rata
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)	
20 mesh (U1)	0,751	0,934	1,120	0,935a
30 mesh (U2)	1,122	1,493	1,683	1,433b
50 mesh (U3)	1,868	2,241	2,243	2,117c
Rata-rata	1,247a	1,556a	1,682a	1,495

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Tabel 6. Pengaruh ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol terhadap bilangan ester oleoresin jahe

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)			Rata-rata
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)	
20 mesh (U1)	6,207	7,376	8,574	7,386a
30 mesh (U2)	9,322	10,600	12,492	10,805b
50 mesh (U3)	12,518	13,270	14,309	13,366c
Rata-rata	9,349a	10,415a	11,792a	10,519

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Tabel 7. Pengaruh ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol terhadap kandungan fenol oleoresin jahe

Ukuran serbuk jahe (U)	Lama perendaman serbuk jahe dalam etanol (T)			Rata-rata
	24 jam (T1)	48 jam (T2)	72 jam (T3)	
20 mesh (U1)	3,0	3,7	4,0	3,56a
30 mesh (U2)	4,0	4,7	5,3	4,67b
50 mesh (U3)	5,7	6,3	6,7	6,22c
Rata-rata	4,22a	4,89a	5,33a	4,82

Keterangan: angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Tabel 9. Karakteristik mutu oleoresin jahe menurut standar The Essentials Oil Association of America (EOA)

Karakteristik	Syarat
Warna dan bau	Cokelat tua, kental, kental sekali dengan aroma dan bau jahe
Kadar minyak atsiri	18- 25 ml/100 g
Indeks bias	1,4880 - 1,4970
Putaran optik	(-30°C) - (-60°C)
Sisa Pelarut	Sesuai dengan Federal Food, Drug, and Cosmetic Regulation
Kelarutan	Alkohol: larut dengan endapan; Benzyl benzoat: larut dalam semua perbandingan

Sumber: Rukmana (2000)

Tabel 10. Standar Mutu Minyak Jahe

Karakteristik	Syarat
Putaran optik	(-26°0') - (-50°0')
Indeks bias pada 20°C	1,489-1,494
Bilangan asam	sampai 2
Bilangan ester	sampai 15
Daya larut	hanya larut dalam alkohol larut di dalam alkohol 90% tetapi tidak selalu larut sempurna

Sumber: Gildemeister dan Hoffmann (1956)

Tabel 8. Karakteristik oleoresin jahe dengan berbagai variasi perlakuan

Karakteristik	Sampel								
	U1T1	U1T2	U1T3	U2T1	U2T2	U2T3	U3T1	U3T2	U3T3
Randomen (%)	8,00	9,00	9,67	11,83	12,17	12,67	12,83	13,67	14,50
Berat jenis	1,2265	1,2282	1,2353	1,2381	1,2391	1,2455	1,2683	1,2750	1,2802
Kelarutan dalam alkohol	1: 6	1: 6,7	1: 7	1: 7,3	1: 8	1: 8	1: 9	1: 9,3	1: 9,7
Bilangan asam	0,751	0,934	1,120	1,122	1,493	1,683	1,868	2,241	2,243
Bilangan ester	6,207	7,376	8,574	9,322	10,600	12,492	12,518	13,270	14,309
Kandungan fenol (%)	3,0	3,7	4,0	4,0	4,7	5,3	5,7	6,3	6,7

Keterangan: U1: Ukuran serbuk 20 mesh; U2: Ukuran serbuk 30 mesh; U3: Ukuran serbuk 50 mesh; T1: Lama perendaman 24 jam; T2: Lama perendaman 48 jam; T3: Lama perendaman 72 jam

Perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol (ekstraksi) yang lebih lama akan menghasilkan oleoresin dengan kelarutan yang lebih rendah, hal ini dikarenakan semakin lamanya proses ekstraksi maka semakin lama juga waktu kontak antara bahan sumber oleoresin dengan etanol, sehingga menyebabkan semakin banyaknya padatan yang terlarut dalam oleoresin yang dihasilkan. Oleh sebab itu, oleoresin yang dihasilkan mempunyai viskositas yang lebih besar dan berat jenisnya pun tinggi. Oleoresin yang mempunyai viskositas yang lebih besar, akan membutuhkan alkohol yang lebih banyak untuk melarutkannya. Semakin banyak jumlah alkohol yang ditambahkan untuk melarutkan oleoresin, berarti semakin kecil kelarutannya. Oleh sebab itu, semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol, maka kelarutan oleoresin yang dihasilkan semakin rendah. Akan tetapi, dengan uji DMRT 5% ternyata semua perlakuan lama perendaman tidak berbeda nyata. Hal ini diduga pada perlakuan lama perendaman selama 24 jam telah tercapai kondisi yang konstan, sehingga lama perendaman yang lebih lama, yakni 48 jam dan 72 jam tidak nyata pengaruhnya. Kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Balitro (2008), pada pembuatan oleoresin jahe, teknik ekstraksi yang optimal adalah menggunakan serbuk jahe berukuran 60 mesh, jenis pelarut yang digunakan alkohol 70%, perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 6 jam.

Bilangan asam oleoresin jahe

Umumnya oleoresin mengandung sejumlah kecil asam bebas, yang biasa dinyatakan sebagai bilangan asam. Bilangan asam merupakan banyaknya miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam bebas yang ada dalam satu gram sampel (oleoresin). Pada prinsipnya asam yang ada dalam sampel dilarutkan dalam alkohol, kemudian dengan menggunakan indikator phenolphthalein direaksikan dengan basa sampai larutan netral (Guenther 1948). Hasil dari tiap-tiap perlakuan terhadap bilangan asam oleoresin yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 5. Pada perlakuan pengecilan ukuran sebesar 20 mesh diperoleh bilangan asam oleoresin sebesar 0,751; 0,934 dan 1,120. Pada ukuran sebesar 30 mesh diperoleh bilangan asam oleoresin sebesar 1,122; 1,493 dan 1,683. Pada ukuran sebesar 50 mesh diperoleh bilangan asam oleoresin sebesar 1,868; 2,241 serta 2,243. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5%

menunjukkan bahwa perlakuan pengecilan ukuran berpengaruh terhadap bilangan asam oleoresin yang dihasilkan.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol selama 24 jam diperoleh bilangan asam oleoresin sebesar 0,751; 1,122 dan 1,868. Pada perendaman selama 48 jam diperoleh bilangan asam oleoresin sebesar 0,934; 1,493 dan 2,241. Pada perendaman selama 72 jam diperoleh bilangan asam oleoresin sebesar 1,120; 1,683 serta 2,243. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh terhadap bilangan asam oleoresin yang dihasilkan.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, tidak berpengaruh terhadap bilangan asam oleoresin yang dihasilkan. Seberapa besar pengaruh perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman dapat disimak pada Tabel 5.

Pada perlakuan pengecilan ukuran, terjadi gesekan atau benturan antara bahan sumber oleoresin dengan alat pengecil ukuran (blender), sehingga menimbulkan panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender. Adanya panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender menyebabkan terjadinya peristiwa perubahan pada komponen-komponen oleoresin dalam jahe, yang biasanya tidak dikehendaki seperti peristiwa oksidasi. Peristiwa oksidasi dapat terjadi pada ikatan rangkap senyawa terpena dan pada molekul alkohol serta aldehida dalam minyak atsiri pada oleoresin jahe, sehingga menyebabkan terbentuknya asam-asam organik (Gunawan 1987). Hal inilah yang menyebabkan bilangan asam oleoresin menjadi meningkat. Oleh sebab itu, semakin kecil ukuran serbuk jahe, maka semakin tinggi bilangan asam oleoresin jahe yang dihasilkan.

Menurut Utomo dan Cisilia (2003), waktu ekstraksi oleoresin yang terlalu lama akan menyebabkan terjadinya oksidasi, peristiwa oksidasi dapat terjadi pada ikatan rangkap senyawa terpena dan pada molekul alkohol serta aldehida dalam minyak atsiri pada oleoresin jahe, sehingga menyebabkan terbentuknya asam-asam organik (Gunawan 1987). Hal inilah yang menyebabkan bilangan asam oleoresin menjadi meningkat. Semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol, maka semakin tinggi bilangan asam oleoresin jahe yang dihasilkan. Akan tetapi, dengan uji DMRT 5% ternyata semua perlakuan lama perendaman

tidak berbeda nyata. Hal ini diduga pada perlakuan lama perendaman selama 24 jam telah tercapai kondisi yang konstan, sehingga lama perendaman yang lebih lama, yakni 48 jam dan 72 jam tidak nyata pengaruhnya. Kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Balittro (2008), pada pembuatan oleoresin jahe, teknik ekstraksi yang optimal adalah menggunakan serbuk jahe berukuran 60 mesh, jenis pelarut yang digunakan alkohol 70%, perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 6 jam.

Bilangan ester oleoresin jahe

Bilangan ester merupakan banyaknya miligram KOH yang diperlukan untuk menyabunkan ester-ester yang ada dalam satu gram sampel (oleoresin). Pada prinsipnya sampel ditambah basa secara berlebihan untuk menyabunkan ester-ester yang ada dalam sampel, kemudian sisa basa dinetralkan dengan menggunakan asam (Guenther 1948). Hasil dari tiap-tiap perlakuan terhadap bilangan ester oleoresin yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 6.

Pada perlakuan pengecilan ukuran sebesar 20 mesh diperoleh bilangan ester oleoresin sebesar 6,207; 7,376 dan 8,574. Pada ukuran sebesar 30 mesh diperoleh bilangan ester oleoresin sebesar 9,322; 10,600 dan 12,492. Pada ukuran sebesar 50 mesh diperoleh bilangan ester oleoresin sebesar 12,518; 13,270 serta 14,309. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan pengecilan ukuran berpengaruh terhadap bilangan ester oleoresin yang dihasilkan.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol selama 24 jam diperoleh bilangan ester oleoresin sebesar 6,207; 9,322 dan 12,518. Pada perendaman selama 48 jam diperoleh bilangan ester oleoresin sebesar 7,376; 10,600 dan 13,270. Pada perendaman selama 72 jam diperoleh bilangan ester oleoresin sebesar 8,574; 12,492 serta 14,309. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh terhadap bilangan ester oleoresin yang dihasilkan.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, tidak berpengaruh terhadap bilangan ester oleoresin yang dihasilkan. Seberapa besar pengaruh perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman dapat disimak pada Tabel 6.

Pengecilan ukuran bahan sumber oleoresin dapat menyebabkan terjadinya gesekan atau benturan antara bahan sumber oleoresin dengan alat pengecil ukuran (blender), sehingga menimbulkan panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender. Adanya panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender menyebabkan terjadinya peristiwa perubahan pada komponen-komponen oleoresin dalam jahe, yang biasanya tidak dikehendaki seperti peristiwa oksidasi, sehingga menyebabkan terbentuknya asam-asam organik. Terbentuknya asam-asam tersebut pada waktu pengecilan ukuran dan senyawa alkohol dalam minyak atsiri pada oleoresin akan menyebabkan terjadinya reaksi di antara keduanya, sehingga membentuk ester (Gunawan 1987). Hal inilah

yang menyebabkan bilangan ester oleoresin menjadi meningkat. Semakin kecil ukuran serbuk jahe, maka semakin tinggi bilangan ester pada oleoresin jahe yang dihasilkan.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol, semua sampel mengalami perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol, sehingga semua sampel juga mengalami reaksi pembentukan ester, sebab adanya asam-asam bebas pada oleoresin ketika perendaman akan bereaksi dengan alkohol membentuk ester. Semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol, maka bilangan ester oleoresin yang dihasilkan semakin tinggi. Akan tetapi, dengan uji DMRT 5% ternyata semua perlakuan lama perendaman tidak berbeda nyata. Hal ini diduga pada perlakuan lama perendaman selama 24 jam telah tercapai kondisi yang konstan, sehingga lama perendaman yang lebih lama, yakni 48 jam dan 72 jam tidak nyata pengaruhnya. Kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Balittro (2008), pada pembuatan oleoresin jahe, teknik ekstraksi yang optimal adalah menggunakan serbuk jahe berukuran 60 mesh, jenis pelarut yang digunakan alkohol 70%, perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 6 jam.

Kandungan fenol oleoresin jahe

Komponen fenol (gingerol dan shogaol) merupakan komponen yang berperan sebagai antioksidan yang terdapat dalam oleoresin jahe (Gouvindarajan 1982). Hasil dari tiap-tiap perlakuan terhadap kandungan fenol oleoresin yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 7.

Pada perlakuan pengecilan ukuran sebesar 20 mesh diperoleh kandungan fenol oleoresin sebesar 3%; 3,7% dan 4%. Pada ukuran sebesar 30 mesh diperoleh kandungan fenol oleoresin sebesar 4%; 4,7% dan 5,3%. Pada ukuran sebesar 50 mesh diperoleh kandungan fenol oleoresin sebesar 5,7%; 6,3% serta 6,7%. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan pengecilan ukuran berpengaruh terhadap kandungan fenol oleoresin yang dihasilkan.

Pada perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol selama 24 jam diperoleh kandungan fenol oleoresin sebesar 3%; 4% dan 5,7%. Pada perendaman selama 48 jam diperoleh kandungan fenol oleoresin sebesar 3,7%; 4,7% dan 6,3%. Pada perendaman selama 72 jam diperoleh kandungan fenol oleoresin sebesar 4%; 5,3% serta 6,7%. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama perendaman berpengaruh terhadap kandungan fenol oleoresin yang dihasilkan.

Hasil analisa statistik dengan menggunakan ANOVA uji F 5% menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya, yaitu perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman, tidak berpengaruh terhadap kandungan fenol oleoresin yang dihasilkan. Seberapa besar pengaruh perlakuan pengecilan ukuran dan lama perendaman dapat disimak pada Tabel 7.

Pada perlakuan pengecilan ukuran, terjadi gesekan atau benturan antara bahan sumber oleoresin dengan alat pengecil ukuran (blender), sehingga menimbulkan panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender. Adanya

panas pada bahan sumber oleoresin yang diblender menyebabkan terjadinya polimerisasi dan resinifikasi dari sebagian komponen yang ada di dalam minyak atsiri pada oleoresinnya. Polimerisasi dan resinifikasi menyebabkan terbentuknya senyawa resin dan polimer-polimer yang mempunyai berat molekul lebih tinggi (Widada 1993). Menurut Uhl (2000), resin tersebut terdiri dari komponen-komponen aktif berupa fenol yang terkandung dalam oleoresin seperti gingerol, shogaol, dan zingerone; yang memberikan rasa pedas. Komponen fenol dalam oleoresin jahe tersebut, selain memberikan rasa pedas khas jahe, juga berperan sebagai antioksidan alami (Gouvindarajan 1982). Oleh sebab itu, terbentuknya senyawa resin dapat mengakibatkan peningkatan jumlah komponen fenol dalam oleoresin, dengan demikian, semakin kecil ukuran serbuk jahe, maka kandungan fenol oleoresin yang dihasilkan semakin tinggi.

Perlakuan perendaman serbuk jahe dalam etanol (ekstraksi) yang lebih lama akan menghasilkan oleoresin dengan kandungan fenol yang lebih tinggi, hal ini dikarenakan semakin lamanya proses ekstraksi maka semakin lama juga waktu kontak antara bahan sumber oleoresin dengan etanol, sehingga menyebabkan semakin banyaknya komponen fenol yang terlarut dalam oleoresin yang dihasilkan. Oleh sebab itu, oleoresin yang dihasilkan mempunyai kandungan fenol tinggi. Semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol, maka kandungan fenol oleoresin yang dihasilkan semakin tinggi. Akan tetapi, dengan uji DMRT 5% ternyata semua perlakuan lama perendaman tidak berbeda nyata. Hal ini diduga pada perlakuan lama perendaman selama 24 jam telah tercapai kondisi yang konstan, sehingga lama perendaman yang lebih lama, yakni 48 jam dan 72 jam tidak nyata pengaruhnya. Kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Balitro (2008), pada pembuatan oleoresin jahe, teknik ekstraksi yang optimal adalah menggunakan serbuk jahe berukuran 60 mesh, jenis pelarut yang digunakan alkohol 70%, perbandingan bahan dengan pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 6 jam.

Hasil dari tiap-tiap perlakuan terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan ditunjukkan pada Tabel 8. Hingga saat ini, standar mutu oleoresin jahe hanya mencakup warna dan bau, kadar minyak atsiri, indeks bias, putaran optik, sisa pelarut serta kelarutan oleoresin. Untuk itu standar mutu bilangan asam dan bilangan ester oleoresin yang dihasilkan dalam penelitian ini masih mengacu pada standar mutu minyak jahe. Standar mutu oleoresin jahe dan minyak jahe masing-masing ditunjukkan pada Tabel 9 dan Tabel 10.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: Ukuran serbuk jahe berpengaruh terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan, semakin kecil ukuran serbuk jahe maka oleoresin yang dihasilkan mempunyai nilai randemen, berat jenis, bilangan asam, bilangan ester serta kandungan fenol yang semakin tinggi. Lama perendaman serbuk jahe dalam

etanol berpengaruh terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan, semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol maka oleoresin yang dihasilkan mempunyai nilai randemen, berat jenis, bilangan asam, bilangan ester serta kandungan fenol yang semakin tinggi. Interaksi antara keduanya yakni ukuran serbuk jahe dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol tidak berpengaruh terhadap karakteristik oleoresin yang dihasilkan, kecuali pada berat jenis oleoresin. Semakin kecil ukuran serbuk jahe dan semakin lama perendaman serbuk jahe dalam etanol maka oleoresin yang dihasilkan mempunyai nilai berat jenis yang semakin tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, Mulyono E, Yulianingsih. 2007. Prospek Oleoresin dan Penggunaannya di Indonesia. Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Anam C, Manuhara GJ. 2005. Teknologi Pengolahan Jahe: Pengolahan Oleoresin Jahe (Materi Pelatihan Retooling). Disnakertrans, Karanganyar.
- AOAC. 1970. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. The Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Ariviani S. 1999. Daya Tangkal Radikal dan Aktivitas Penghambatan Pembentukan Peroksida Sistem Linoleat Ekstrak Rimpang Jahe, Laos, Temulawak, dan Temuireng. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Balitro. 2008. *Teknologi Pengolahan Tanaman Obat*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor.
- Bernasconi G, Gerster H, Hauser H, Stauble H, Schneiter E. 1995. *Teknologi Kimia 2*. PT Pradnya Paramita. Jakarta.
- BPS Provinsi Jawa Tengah. 2006. Luas dan Produksi Tanaman Perkebunan Rakyat Menurut Jenis Tanaman. BPS Provinsi Jawa Tengah, Semarang.
- Departemen Pertanian. 2005. *Teknologi Pengolahan Jahe*. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Gildemeister E, Hoffmann F. 1956. *Die Ätherischen Öle [The Essential Oils]*, 3rd ed., Vol. I, Springer, Berlin
- Gouvindarajan VS. 1982. *Ginger Chemistry, Technology and Quality Evaluation: Part 1*. CRC Press. London.
- Guenther E. 1948. *The Essential Oils Volume I*. D. van Nostrand Company Inc., New York
- Gunawan M. 1987. *Peranan Pengeringan Pada Minyak Jahe*. [Skripsi] Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Hernani, Risfaheri. 1989. Pengaruh Perlakuan Bahan Sebelum Penyulingan Terhadap Rendemen dan Karakteristik Minyak Nilam. *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri*. Surakarta.
- Kadin. 2007. *Pedoman Teknologi Pengolahan Lada*. Kadin Indonesia, Jakarta.
- Ketaren S. 1987. *Minyak Atsiri*. UI Press. Jakarta.
- Nakatani N. 1992. Natural Antioxidants From Spices. In: Huang MT, Ho CT, Lee CY. (eds.). *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health*. American Society. Washington DC.
- Panda H. 2004. *Essential Oils Handbooks*. National Institute of Industrial Research, New Delhi.
- Rukmana R. 2000. *Usaha Tani Jahe*. Kanisius, Yogyakarta.
- Santoso HB. 1989. *Jahe*. Kanisius, Yogyakarta
- Uhl SR. 2000. *Handbook of Spices, Seasonings and Flavoring*. Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, USA.
- Utomo J, Cisilia M. 2003. Pengaruh Ukuran Biji Pala dan Rasio Pelarut Terhadap Rendemen dan Mutu Oleoresin Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt). Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan. Bandung.
- Widada HD. 1993. Pengaruh Pengcilaan Ukuran Daun, Gagang dan Bunga Cengkeh Terhadap Rendemen dan Kualitas Minyak yang Dihasilkan. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta.

Uji mutagenisitas fraksi ekstrak kloroform daun ambre (*Geranium radula*) terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, dan TA1535 serta profil kandungan kimia fraksi teraktif

Mutagenicity test of the fraction of ambre leaf (*Geranium radula*) chloroform extract against *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA1535 and chemistry profile of active fraction

TANTI PRIYANI, TJAHJADI PURWOKO, ARTINI PANGASTUTI

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126

Manuskrip diterima: 7 Agustus 2014. Revisi disetujui: 4 Februari 2015.

Abstract. Priyani T, Purwoko T, Pangastuti A. 2015. Mutagenicity test of the fraction of ambre leaf (*Geranium radula*) chloroform extract against *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA1535 and chemistry profile of active fraction. *Biofarmasi* 13: 34-39. Ambre (*Geranium radula* Cavan.) is a plant with toxicity effect based on Brine Shrimp Lethality Test (BST) method and so that, it potentially can be used as anticancer agent. The cancer cell, can be normalized by repairing the abnormal gen with selective reverse mutation efforts until its function normal again. The aim of this investigation has examined mutagenic effect from fraction chloroform extract Ambre leaf to bacteria *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA1535, and to get the profile of the most actively chemical contents within which has the biggest mutagenic effect, that can be used to result how much its ability as the anticancer agent. The method in this research is a separation chemical compound components by fractionation of partitioned dissolved result of chloroform extract Ambre leaf using column chromatography with the stationary phase of silica gel GF254 (E. Merck) and mobile phase of wash-benzene, ethyl acetate, chloroform, and methanol. The composition profile of chemical compound is monitored by using Thin Layer Chromatography (TLC). The fraction with different chromatogram profile was tested to its mutagenicity using Ames method. Then its most active fraction that shows the biggest mutagenic effect, executed to which group is its chemical compound belongs. The mutagenicity test result shows that fraction IV has the biggest mutagenic effect with the highest bacterial colony growth at concentration 500 μ l/mL. Fraction IV as the most active fraction was identified on its chemical compound classification with TLC method. The detection result shows that fraction IV has a number of terpenoid and phenolic in its composition.

Keywords: Ambre, Ames method, anticancer, mutagenicity

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di dunia (Astuti et al. 2005). Beberapa publikasi menyebutkan bahwa agen antikanker dapat menyebabkan mutasi. Mutasi merupakan perubahan yang terjadi pada bahan genetik (DNA maupun RNA), baik pada taraf urutan gen maupun kromosom (Moutschen 1985; Mulyadi 1996). Penanggulungan sel kanker dapat dilakukan dengan mereparasi gen abnormal dengan cara mutasi balik selektif sedemikian rupa sehingga akan mengembalikan fungsi normal gen tersebut (Malik 2005). Uji yang digunakan untuk mengetahui adanya mutasi balik selektif adalah uji mutagenisitas dengan menggunakan metode Ames. Metode Ames merupakan metode yang berdasarkan sistem mutasi balik guna mendeteksi adanya *point of mutation* (Isnawati dan Sukmayati 2004).

Saat ini banyak sekali bahan alam yang digunakan sebagai obat alternatif untuk menanggulangi penyakit kanker. Ambre (*Geranium radula* Cavan.) merupakan salah satu tanaman yang menunjukkan efek toksisitas berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) (Wahyuni dan Rakhmawati 2008). Berdasarkan penelitian

menggunakan metode BST menunjukkan bahwa fraksi IV dari ekstrak kloroform daun Ambre memiliki aktivitas toksisitas dengan nilai LC50 sebesar 758,578 μ g/mL (Ambarwati, *unpublished*). Penelitian lain menyebutkan bahwa partisi larut *wash-benzena* dari ekstrak kloroform daun Ambre memiliki efek mutagenisitas terbesar terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, TA 100 dan TA1535.

Berdasarkan informasi di atas, maka perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sifat mutagenik fraksi dari ekstrak kloroform daun Ambre sehingga dapat diketahui kemampuannya sebagai agen antikanker. Uji mutagenisitas dengan metode Ames menggunakan bakteri strain mutan *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA1535. Hasil positif dari bahan uji yang diperiksa jika mengandung mutagen, maka bakteri dalam media akan mengalami pertumbuhan dengan terbentuknya koloni. Metode pemisahan fraksi ekstrak kloroform daun Ambre dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dan dimonitor profil kandungan senyawa kimianya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi dengan profil kromatogram yang berbeda diuji mutagenisitasnya, selanjutnya fraksi teraktif yang

menunjukkan sifat mutagenik terbesar ditentukan golongan senyawa kimianya.

Tujuan Penelitian ini adalah: Mengetahui potensi efek mutagenik fraksi dari ekstrak kloroform daun Ambre terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA 1535. Mengetahui profil kandungan senyawa kimia dari fraksi teraktif daun Ambre yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Sub Lab Biologi Laboratorium Pusat FMIPA UNS, Surakarta dan Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta pada bulan Juni-Oktober 2009.

Bahan penelitian

Bahan utama adalah hasil partisi larut *wash-benzena* daun Ambre yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawang Mangu yang dilakukan proses maserasi dan partisi.

Bahan untuk fraksinasi kandungan senyawa kimia

Fase diam silika gel GF254 (E. Merck), fase gerak *wash-benzena*, etil asetat, kloroform dan metanol berderajat pro analisis (PA).

Bahan untuk uji mutagenisitas

Biakan murni bakteri *Salmonella typhimurium* strain mutan TA98, TA100 dan TA1535 yang diperoleh dari *Enviromental Biodection Products Inc.* (EBPI), Canada. Bahan kimia untuk pembuatan media, kontrol positif sodium azide dan 2-Nitrofluorene serta kontrol negatif DMSO (dimetil sulfoksida).

Bahan untuk penentuan golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Fase diam plat silika gel 60 PF254 (E. Merck), fase gerak kloroform dan etil asetat berderajat pro analisis (PA), pereaksi semprot Serum (IV) Sulfat ((Ce (IV) SO₄)), FeCl₃, Dragendorff, Vanilin H₂SO₄/Vanilin asam sulfat dan Libermann Burchard.

Cara kerja

Fraksinasi kandungan senyawa kimia

Pemisahan kandungan senyawa kimia hasil partisi larut *wash-benzena* daun Ambre dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom (*Coloumn Chromatography*). Pembuatan fase diam menggunakan metode basah dan penggunaan fase gerak berdasarkan polaritas dari pelarut yang polaritas rendah hingga ke pelarut dengan polaritas tinggi yaitu *wash-benzena*, etil asetat, kloroform dan methanol. Perbandingan antara larutan tersebut tergantung dari tingkat kepolaran yang diinginkan, yaitu *wash-benzena* 100%, *wash-benzena*: kloroform (15:1; 10:1; 5:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:5; 1:10 (v/v)), kloroform 100%, kloroform: etil asetat

(10:1; 5:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:5; 1:10 (v/v)), etil aetat 100 % dan methanol 100%.

Proses fraksinasi menghasilkan 9 fraksi. Sembilan fraksi yang diperoleh dimonitor profil kandungan kimia masing-masing fraksi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam plat silika gel 60 PF254 dan fase gerak kloroform 100% yang diletakkan dalam bejana pengembang. Kemudian plat KLT di letakkan di bawah sinar UV254 dan UV366 serta disemprot dengan menggunakan pereaksi spesifik Serum (IV) Sulfat untuk mengetahui profil kandungan kimia masing-masing fraksi. Berdasarkan hasil KLT tersebut, fraksi-fraksi dengan profil kromatogram yang hampir sama dijadikan satu fraksi. Fraksi yang diperoleh adalah 4 fraksi hasil penggabungan. Fraksi hasil penggabungan selanjutnya diuji mutagenisitas untuk mengetahui fraksi mana yang paling aktif.

Uji mutagenisitas

Persiapan larutan uji (500, 100, 10 dan 5 µg/mL); Persiapan larutan stok (stok garam, stok dekstroza, stok histidin dan biotin); Pembuatan biakan bakteri semalam; Pembuatan media/agar plates; Uji mutagenisitas larutan uji; Uji kontrol positif; Uji kontrol negatif.

Penentuan golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Penentuan golongan senyawa kimia fraksi teraktif dilakukan menggunakan metode KLT. Hasilnya dideteksi dengan sinar UV254 nm dan UV366 nm dan disemprot dengan pereaksi spesifik Dragendorff, Vanilin asam sulfat (Vanilin H₂SO₄), FeCl₃ dan Libermann Burchard. Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi kuning jingga. Vanilin H₂SO₄ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi biru, merah atau coklat. FeCl₃ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa fenolik dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi biru sampai kelabu. Libermann Burchard digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa triterpenoid (steroid) dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi kuning jingga.

Analisis data

Data hasil uji mutagenisitas diperoleh secara kuantitatif dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dari setiap bakteri uji pada seri konsentrasi 500, 100, 10 dan 5 µg/mL yang diberikan. Dimana jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada mutagen standar sebagai kontrol positifnya harus lebih besar dari jumlah koloni revertan spontan sebagai kontrol negatifnya. Untuk menetapkan adanya efek mutagenik, koloni revertan sampel uji paling sedikit harus mencapai dua kali revertan kontrol negatif dan menunjukkan adanya respon sekurang-kurangnya pada tiga seri konsentrasi yang digunakan.

Analisis data hasil KLT dilakukan secara deskriptif terhadap bercak-bercak yang dinyatakan dengan nilai Rf (*Retardation factor*) dimana:

$$R_f = \frac{\text{Jarak perambatan bercak dari titik awal}}{\text{Jarak perambatan fase gerak dari titik awal}}$$

Bercak yang ditunjukkan merupakan bercak yang memberikan respon positif terhadap pereaksi spesifik yang diberikan untuk mengetahui golongan senyawa mutagenik berdasarkan warna yang terbentuk dan nilai R_f -nya. Golongan senyawa fraksi yang teraktif akan menunjukkan sifat mutagenik terbesar yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu proses untuk memurnikan ekstrak atau dengan kata lain fraksinasi dimaksudkan untuk mendapatkan senyawa dalam fraksi dengan profil KLT yang lebih sederhana dan lebih jelas (Wahyuono 2002). Profil KLT masing-masing fraksi hasil fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Uji mutagenisitas

Uji mutagenisitas berdasarkan test Ames merupakan suatu uji jangka pendek untuk menetapkan kadar mutasi balik guna mendeteksi mutagenisitas suatu senyawa kimia yang dapat menghasilkan kerusakan genetik yang menyebabkan adanya mutasi gen (Ames et al. 1973). Hasil uji mutagenisitas masing-masing fraksi ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa fraksi yang paling mutagenik adalah fraksi IV dengan jumlah koloni bakteri yang tumbuh terbesar. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi yang lebih besar yaitu 500 µg/mL dapat menumbuhkan lebih banyak koloni bakteri yang tumbuh dibandingkan dengan konsentrasi 100, 10 dan 5 (µg/mL). Konsentrasi tersebut telah memenuhi persyaratan dari uji Ames dimana batas suatu uji dikatakan mutagen jika konsentrasi yang memberikan hasil positif kurang dari 10.000 (µg/mL) (Radji et al. 2004).

Setiap strain mengandung gen mutasi histidin, mutasi *rfa*, mutasi *uvrB* dan faktor resisten (faktor R) untuk meningkatkan kepekaan bakteri terhadap senyawa mutagenik (Ames dan Maron 1982). Terjadinya perubahan atau penambahan mutasi/penambahan genotip dapat membuat strain lebih sensitif terhadap senyawa kimia mutagen tertentu (Mortelmans dan Zeiger 2000).

Mutasi *DNA-Repair* (*uvrA/B*) menghilangkan sistem *excision-repair* pada DNA, sistem *excision-repair* merupakan jalur perbaikan DNA yang rusak akibat terkena sinar UV dan mutagen tertentu. Adanya mutasi *uvrA/B* membuat strain tersebut lebih sensitif terhadap beberapa partikel yang diujikan yaitu mempengaruhi terjadinya kerusakan DNA dengan menyebabkan terjadinya banyak luka pada DNA (Mortelmans dan Zeiger 2000). Mutasi *uvrA/B* juga menyebabkan terjadinya delesi pada gen biotin yang menyebabkan bakteri tidak dapat mensintesis biotin untuk pertumbuhannya, mutasi *uvrA/B* ditandai dengan kepekaan terhadap sinar UV. Strain TA 102 tidak mengandung mutasi *uvrB* karena dibuat untuk mendeteksi

mutagen yang membutuhkan sistem *excision repair* utuh (Ames et al. 1973).

Mutasi *rfa* dapat mengubah struktur dinding sel bakteri dan mengakibatkan hilangnya kapsul/penghalang lipopolisakarida (LPS) sehingga meningkatkan permeabilitas sel terhadap bahan kimia tertentu. Mutasi *rfa* ditandai oleh sensitifitas/kepekaan terhadap kristal violet (Ames et al. 1973). Plasmid faktor R (pKM101) membuat strain lebih responsif/peka terhadap bermacam jenis mutagen dan sinar UV yang dapat menyebabkan terjadinya mutasi melalui peningkatan kesalahan rekombinasi jalur perbaikan DNA (McCann et al. 1975; Walker dan Dobson 1979). Plasmid membawa satu gen resisten ampicillin, dimana gen tersebut merupakan marker/penanda untuk mendeteksi keberadaan plasmid (Mortelmans dan Stocker 1979). Plasmid pAQ1 membawa sebuah gen resisten tetracycline, dimana gen resisten tetracycline menunjukkan bahwa strain TA102 mempertahankan plasmid (Ames dan Maron 1982).

Pada strain *S. typhimurium* TA98 menunjukkan adanya respon mutasi yang lemah (Lopes et al. 2004). Dari uji yang dilakukan terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98 menunjukkan hasil bahwa bakteri yang dapat bermutasi balik jumlahnya lebih kecil dibandingkan dengan uji menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 dan 1535. *S. typhimurium* TA 98 tergantung pada keberadaan histidin karena mutasi pada gen *hisD3052* yang merupakan penghilangan 1-frameshift DNA (Levin dan Ames 1986; DeMarini 2000). Mutasi *hisD3052* yang dimiliki oleh strain TA98 merupakan mutasi *frameshift* yang mempengaruhi pembacaan kerangka berulang urutan sekuen -C-G-C- G-C-G-C-G- (Isono dan Yournon 1974).

Hasil uji mutagenisitas terhadap bakteri *S. typhimurium* TA100 dan 1535 menunjukkan bahwa bakteri yang bermutasi balik jumlah koloni lebih banyak dibandingkan dengan uji menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA98. Hasil ini sesuai dengan Kaleeswaran et al (2009) yang menyebutkan bahwa pada bakteri *S. typhimurium* TA100 dan 1535 kemungkinan terjadi mutasi substitusi pasangan basa DNA. *S. typhimurium* TA100 tergantung pada keberadaan histidin karena mutasi pada gen *hisG46* yang menyebabkan substitusi pasangan basa suatu leusin (GAG/CTC) oleh suatu prolin (GGG/CCC), mutagen yang menyebabkan terjadinya substitusi pasangan basa (transisi atau transversi) pada pasangan GC, dapat dimutasi kembali oleh strain bakteri tersebut (Levin dan Ames 1986; DeMarini 2000). Setiap strain mengandung gen mutasi histidin, mutasi *rfa*, mutasi *uvrB* dan faktor resisten (faktor R) untuk meningkatkan kepekaan bakteri terhadap senyawa mutagenik (Ames dan Maron 1982).

Fraksi IV yang menunjukkan efek mutagenik terbesar kemudian dianalisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui kandungan senyawa kimianya.

Deteksi golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi teraktif dianalisis menggunakan metode KLT dengan beberapa pereaksi penampak bercak. Fase diam yang digunakan adalah silika gel PF254 dengan fase gerak

kloroform:etil asetat dengan perbandingan 1:3, serta jarak pengembangan 7,5 cm. Deteksi menggunakan sinar UV254, sinar UV366 dan beberapa pereaksi penampak bercak, yaitu Dragendorff, Vanilin-asam sulfat (Vanilin H₂SO₄), FeCl₃ dan Libermann Burchard (Tabel 2).

Deteksi kromatogram fraksi IV dengan sinar UV254 memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa zona gelap berlatar belakang fluoresensi hijau. Peredaman yang terjadi pada UV254 ini menunjukkan adanya keberadaan suatu senyawa yang mengandung minimal dua ikatan rangkap. Deteksi dengan sinar UV366 memperlihatkan beberapa bercak yang berpendar dan berwarna. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran dengan UV gelombang panjang. Profil kromatogram fraksi IV hasil fraksinasi dari partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre dengan berbagai pereaksi penampak bercak dapat dilihat pada Gambar 2.

Pemeriksaan terpenoid

Pemeriksaan terpenoid menggunakan pereaksi warna Valinin-asam sulfat, bila terdapat senyawa terpenoid maka akan menunjukkan bercak berwarna antara biru sampai

ungu (Sulistijowati dan Gunawan 2001). Hasil kromatogram menunjukkan munculnya tiga bercak berwarna biru hingga ungu dengan harga R_f 0,16; 0,44 dan 0,85 yang menandakan bahwa di dalam fraksi IV terdapat senyawa golongan terpenoid (Gambar 3.C).

Penggunaan fase gerak kloroform:etil asetat (1:3 (v/v)) pada KLT didasarkan karena fase gerak tersebut dapat memisahkan senyawa dengan baik. Keduanya mempunyai indeks polaritas masing-masing sebesar 4,1 dan 4,4 yang dapat menarik senyawa non-polar sampai semi-polar. Menurut Sastrohamidjojo (1985), senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid bersifat non-polar. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa fraksi IV yang mengandung senyawa terpenoid bersifat non- polar.

Pemeriksaan fenolik

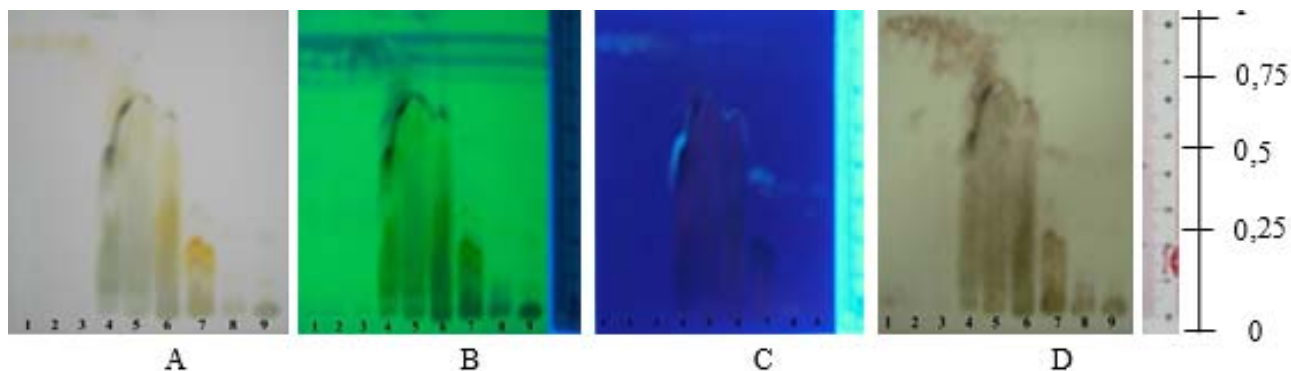
Pemeriksaan fenolik menggunakan pereaksi warna Uap ammonia (FeCl₃), bila terdapat senyawa fenolik maka akan menunjukkan bercak berwarna biru sampai kelabu (Harborne 1987). Pada hasil kromatogram menunjukkan munculnya dua bercak berwarna biru dengan harga R_f 0,44 dan 0,58 yang menandakan bahwa di dalam fraksi IV terdapat senyawa golongan fenolik (Gambar 3.F).

Tabel 1. Hasil uji mutagenisitas masing-masing fraksi

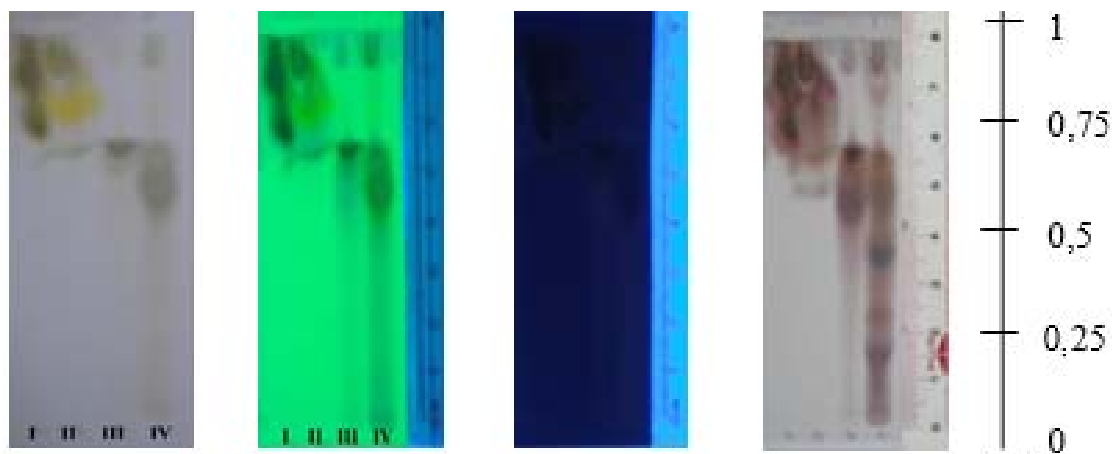
Sampel uji	Konsentrasi (µg/mL)	Rerata koloni <i>S. typhi</i> TA98	Rerata koloni <i>S. typhi</i> TA100	Rerata koloni <i>S. typhi</i> TA1535
Fraksi I	500	0	0	1
	100	0	0	0
	10	3	2	0
	5	0	0	0
Fraksi II	500	38	67	49
	100	35	57	46
	10	21	41	8
	5	29	25	1
Fraksi III	500	85	Tak hingga	49
	100	44	109	30
	10	35	99	29
	5	34	97	53
Fraksi IV	500	87	Tak hingga	270
	100	72	225	87
	10	53	115	67
	5	58	99	16
Kontrol negatif (DMSO)		40	63	31
Kontrol Positif (2-Nitrofluorene®TA98) (Sodium Azide ® TA100 dan TA1535)	-	99	173	94

Tabel 2. Hasil uji KLT

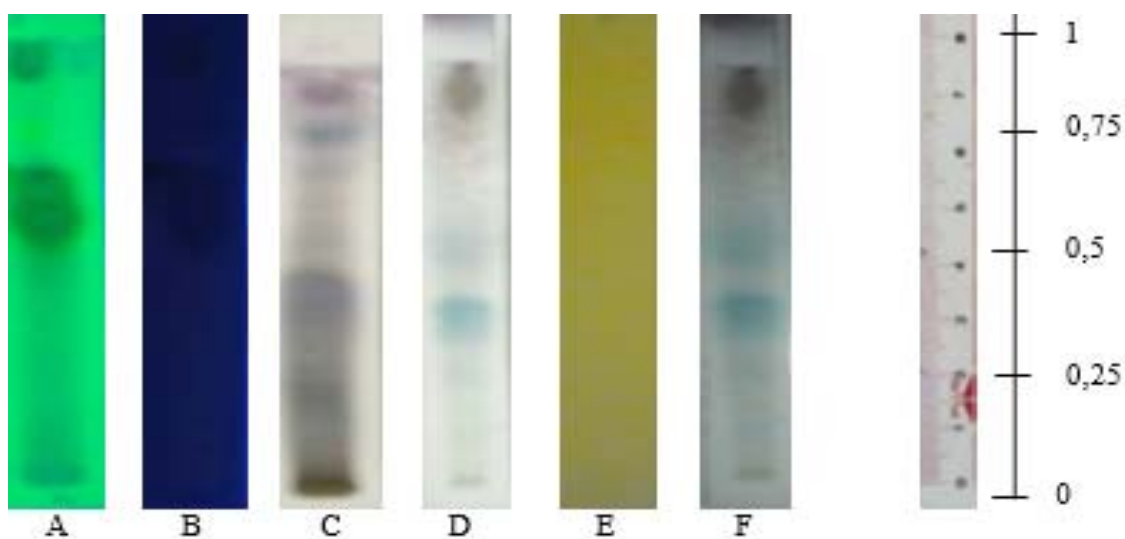
R _f	Penampak bercak					
	UV254	UV366	FeCl ₃	Vanilin- asam sulfat	Libermann Burchard	Dragen-dorff
0,16	-	-	-	Ungu	-	-
0,44	-	-	Biru	Ungu	-	-
0,58	Peredaman	-	Biru	-	-	-
0,68	Peredaman	Berpendar	-	-	-	-
0,85	-	-	-	Ungu	-	-



Gambar 1. Profil kromatogram masing-masing fraksi hasil fraksinasi partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre dengan deteksi Sinar tampak / visible (A) UV254, (B) UV366, (C) Serum (IV) sulfat (D)



Gambar 2. Profil KLT hasil penggabungan fraksi-fraksi



Gambar 3. Profil kromatogram fraksi IV hasil fraksinasi dari partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre dengan berbagai pereaksi penampak bercak. (A) UV254, (B) UV366, (C) Vanilin-asam sulfat, (D) Libermann Burchard, (E) Dragendorff, dan (F) FeCl₃

Penggunaan fase gerak kloroform:etil asetat (1:3 (v/v)) pada KLT didasarkan karena fase gerak tersebut dapat memisahkan senyawa dengan baik. Keduanya mempunyai indeks polaritas masing-masing sebesar 4,1 dan 4,4 yang dapat menarik senyawa non-polar sampai semi-polar. Menurut Cannell (1998), senyawa fenolik bersifat kurang larut dalam pelarut organik non-polar. Berdasarkan referensi tersebut, dapat diketahui bahwa fraksi IV yang memiliki kandungan senyawa fenolik cenderung bersifat semi-polar.

Pemeriksaan alkaloid

Dragendorff merupakan pereaksi khusus untuk mendeteksi keberadaan senyawa yang mengandung basa nitrogen secara umum dan senyawa alkaloid. Alkaloid dan basa nitrogen akan menunjukkan bercak berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff (Padmawinata dan Soediro 1996). Pada hasil kromatogram tidak menunjukkan adanya bercak berwarna coklat jingga, sehingga dapat disimpulkan bahwa di dalam fraksi IV tidak terdapat senyawa yang mengandung basa nitrogen dan alkaloid. Ketidakhadiran senyawa alkaloid disebabkan karena fraksi IV cenderung bersifat non-polar sampai semi-polar, sedangkan senyawa alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar (Sastrohamidjojo 1991).

Pemeriksaan triterpenoid (steroid)

Pemeriksaan triterpenoid (steroid) menggunakan pereaksi warna Libermann Burchard, bila terdapat senyawa triterpenoid (steroid) maka akan menunjukkan bercak berwarna kuning jingga. Pada hasil kromatogram menunjukkan tidak adanya bercak berwarna kuning jingga. Ketidakhadiran triterpenoid (steroid) disebabkan karena steroid termasuk ke dalam fraksi lipid (Croteau *et al* 2000), berdasarkan hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom, kandungan senyawa lipid terdapat pada fraksi

Berdasarkan referensi tersebut dapat disimpulkan bahwa pada fraksi IV tidak terdapat kandungan senyawa triterpenoid (steroid) karena fraksi IV tidak mengandung fraksi lipid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Hasil uji mutagenisitas fraksi IV dari fraksinasi partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre (*Geranium radula* Cavan.) menunjukkan efek mutagenik terbesar terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA1535 dan berpotensi untuk diteliti lebih lanjut ke arah senyawa antikanker. Pada fraksi IV ditemukan senyawa golongan terpenoid dan fenolik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ames, BN, Lee FD, Durston WE. 1973. An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 782-786.
- Ames, BN, Maron D. 1982. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutat Res* 113: 173-215.
- Astuti, P, Gemini A, Mae SH, Sari D, Subagus W. 2005. Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari Spons *Petrosia* sp. Potensial Pengembangan Sebagai Antikanker. *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (1): 58-62.
- Cannell, RJP. 1998. *Natural Products Isolation*. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey.
- Croteau, R, Kutchan TM, Lewis NG. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). In Buchanan B, Gruissem W, Jones R (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, New York.
- DeMarini, DM. 2000. Influence of DNA Repair on Mutation Spectrain Salmonella. *Mutat Res* 450: 5-17.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. (Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro). ITB Press, Bandung.
- Isnawati A, Alegantina S. 2004. Efek Mutagenik Ekstrak Etanol Daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus*). *Penelitian Kesehatan*: 32 (3): 112-118. Puslitbang Farmasi dan Obat, Badan Litbangkes.
- Isono K, Youmo J. 1974. Chemical carcinogens as frameshift mutagens: salmonella DNA sequence sensitive to mutagenesis by polycyclic carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 71 (5): 1612-1617.
- Kaleeswaran S, Sriram P, Prabhu D, Vijayakumar C, Mathuram LN. 2009. Anti- and pro- mutagenic effects of silymarin in the ames bacterial reverse mutation assay. *Phytother Res* 23: 1378- 1384.
- Levin, DE, Ames BN. 1986. Classifying mutagens as to their specificity in causing the six possible transitions and transversions: a simple analysis using the *Salmonella* mutagenicity assay. *Environ Mutagen* 8-28.
- Lopes MIL, Saffi J, Sergio E, Henriques JAP, Salvador M. 2004. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* in biological systems. *J Ethnopharmacol* 95: 437-445.
- Malik, A. 2005. RNA Therapeutic, Pendekatan Baru Dalam Terapi Gen. *Majalah Ilmu Kefarmasian* II: 51-61. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
- McCann, J, Spingam NE, Kobori J, Ames BN. 1975. Detection of Carcinogens as Mutagens: Bacterial Tester Strains with R Factor Plasmids. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 979-983.
- Mortelmans K, Stocker BAD. 1979. Segregation of the Mutator Property of Plasmid R46 from its Ultraviolet-Protection Properties. *Mol Gen Genet* 167: 317-327.
- Mortelmans, K, Zeiger E. 2000. The Ames *Salmonella* / Microsome Mutagenicity Assay. *Mutat Res* 455: 29-60.
- Moutschen, J. 1985. *Introduction to Genetic Toxicology*. John Wiley and Son Inc., New York.
- Mulyadi. 1996. *Kanker, Karsinogen, Karsinogenesis dan Antikanker*. Edisi I. PT. Tiara Wacana, Yogyakarta.
- Padmawinata K, Soediro I. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan Kedua. Penerbit ITB, Bandung.
- Radji, M, Sumiati A, Indani N.. 2004. Uji mutagenisitas dan anti kanker ekstrak aseton dan n-heksana dari kulit batang sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.). *Majalah Ilmu Kefarmasian* 1 (2): 69-78.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Liberty, Yogyakarta.
- Sulistijowati, A, Gunawan D. 2001. Efek Ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* 130: 32-36.
- Wahyuni DSC, Rakhmawati R. 2008. Skrining Toksisitas Beberapa Tanaman di Kawasan Tawangmangu Surakarta dan Profil Kandungan Kimianya. Laporan Penelitian LPPM. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Wahyuono, S. 2002. Penemuan obat baru dari bahan alam. *Majalah Obat Tradisional* 7 (22): hal 6-8.
- Walker GC, Dobson PP. 1979. Mutagenesis and Repair Deficiencies of *Escherichia coli* umuC Mutans are Suppressed by the Plasmid pKM101. *Mol Gen Genet* 172: 17-24.

PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

Tulisan diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm²), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tata nama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butilhidroksitoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m⁻², l⁻¹, h⁻¹) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

Judul ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat berseri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian, dan metode-metode khusus yang digunakan.

Pendahuluan (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka, dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas glossy dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto

sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan menyertakan foto atau gambar untuk sampel depan meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

Pustaka dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa penulis, nama penulis diurutkan berdasarkan kebaruan pustaka. Pada naskah yang ditulis oleh dua penulis, nama keduanya disebutkan, sedangkan pada naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, hanya nama penulis pertama yang ditulis diikuti et al. atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto et al. 1998; Baker and Manwell 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy 1991 *cit* Coward 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward 1999).

Daftar Pustaka diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

Jurnal:

Suranto S, Gough KH, Shukla DD et al. 1998. Coat protein sequence of Krish-infecting strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. Arch Virol 143: 1015-1020.

Buku:

Sprent JI, Sprent P. 1990. Nitrogen fixing organisms: Pure and applied aspects. Chapman and Hall, London.

Bab dalam buku:

Baker CMA, Manwell C. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman CG (ed). Cattle Genetic Resources. Elsevier, Amsterdam.

Abstrak:

Liu Q, Salih S, Ingersoll J et al. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science. Lake Buena Vista, FL, 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra HS. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. In: Setyawan AD, Sutarno (eds). Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko T. 2001. Biotransformasi Isoflavon oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai. [Tesis]. Universitas Indonesia, Jakarta.

Informasi dari Internet:

Rosauer D. 1998. Forest disturbance and succession. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

Beberapa catatan tambahan. Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol α , β , γ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

Kemajuan Naskah. Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

PENTING: Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok masih memegang hak cipta (*copyright*) dan mempertahankan hak penerbitan tanpa pembatasan atas naskah yang diterbitkan **Biofarmasi**. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

Pengaruh berbagai jenis beras terhadap aktivitas antioksidan pada angkak oleh <i>Monascus purpureus</i>	1-5
• SURTIKA WANTI, M.A.M. ANDRIANI, NUR HER RIYADI PARNANTO	
Kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) dengan variasi teknik pengeringan dan warna kain penutup	6-14
• AGUNG ADI NUGRAHA, KAWIJI, WINDI ATMAKA	
Uji toksisitas fraksi daun ambre (<i>Geranium radula</i>) terhadap <i>Artemia salina</i> dan profil kandungan kimia fraksi teraktif	15-24
• NORMA AMBARWATI, RITA RAKHMAWATI, DINAR SARI CAHYANINGRUM WAHYUNI	
Karakteristik oleoresin jahe berdasarkan ukuran dan lama perendaman serbuk jahe dalam etanol	25-33
• MUH. IRFAN FAKHRUDIN, CHOIRUL ANAM, M.A.M. ANDRIANI	
Uji mutagenisitas fraksi ekstrak kloroform daun ambre (<i>Geranium radula</i>) terhadap bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, dan TA1535 serta profil kandungan kimia fraksi teraktif	34-39
• TANTI PRIYANI, TJAHJADI PURWOKO, ARTINI PANGASTUTI	

