

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
PENELITIAN TERAPAN PENGEMBANGAN NASIONAL
TAHUN ANGGARAN 2019**

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIOKSIDAN DARI
TANAMAN PANGAN FUNGSIONAL MASYARAKAT JAWA
BARAT DAN BANTEN DENGAN PENDEKATAN METABOLOMIK**



Tim Peneliti:

Drs. Dede Sukandar, M.Si	Ketua
Dr. Iwan Aminudin, M.Si	Anggota
Tarso Rudiana, M.Si	Anggota

**PUSAT PENELITIAN DAN PENERBITAN
(PUSLITPEN) LP2M UIN SYARIF HIDAYATULLAH
JAKARTA 2019**

ABSTRAK

Berdasarkan hasil penapisan bioaktivitas dan aspek nutrasetikal tanaman fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten menunjukkan bahwa beberapa tanaman pangan khas Jawa Barat dan Banten seperti ganyong, jamur merang, kemangi, sawo manila, sukun, dan namnam memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, dan antidiabetes. Senyawa-senyawa aktif tersebut terkandung dalam ekstrak tanaman pangan fungsional seperti pada umbi ganyong (saponin dan alkaloid), jamur merang (flavonoid, saponin, dan alkaloid), biji kemangi (saponin, tanin, dan alkaloid), buah sawo manila (flavonoid, saponin, dan tanin), buah sukun (flavonoid, saponin, dan alkaloid), dan namnam (triterpenoid, flavonoid, saponin). Penelitian ini bertujuan melakukan identifikasi senyawa-senyawa bioaktif dari beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten hasil analisis *liquid chromatography-mass spectroscopy* (LCMS) yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik. Ekstraksi. Sampel tanaman berupa bagian tanaman yang berpotensi sebagai bahan pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten antara lain jamur merang, kemangi, sawo manila, namnam, honje, kawista dan nenas yang telah dikeringkan dan dihaluskan, dimaserasi selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut metanol. Maserat disaring menggunakan kertas saring, sambil terus ditambahkan pelarut sampai hasil cairan penyaringan menjadi jernih. Cairan hasil penyaringan dipekatkan dalam *rotary evaporator* vakum pada suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak metanol pekat. Seluruh ekstrak kemudian diuji aktivitas antioksidan dan analisis profil senyawa kimia dengan LCMS. Aktivitas antioksidan ekstrak diukur dari kemampuannya melepaskan elektron atau atom hidrogen untuk mengubah senyawa radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang stabil membentuk DPPH non-radikal (Mathew *et al.*, 2006). Dibuat larutan induk ekstrak sebesar 1000 ppm dengan cara sebanyak 10 mg ekstrak metanol ditambahkan dengan 1000 mL metanol kemudian dibuat deret dengan konsentrasi 800; 400; 200; 100; 50; 25 ppm. Selanjutnya larutan sampel dengan berbagai konsentrasi sebanyak 2 mL ditambah 2 mL larutan DPPH dalam metanol (0,002%), divorteks kemudian didiamkan selama 30 menit di ruangan gelap dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 512-520 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan lakukan secara duplo. Sebagai blanko digunakan 2 mL metanol yang ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0,002%. Sebanyak 1 mg fraksi teraktif dilarutkan dalam pelarut metanol. Sampel kemudian diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam LCMS (Waters, USA) sistem ESI (*Electrospray Ionisation*) model ion positif, kolom C18 (RP18) superco, panjang kolom 50 mm, diameter dalam kolom 2,1 mm, ukuran partikel 1,8 µm dengan kecepatan alir diatur 0,3 mL/menit, suhu kolom 40 °C. Hasil pengukuran disajikan dalam bentuk grafik LC dan MS. Kemangi memiliki nilai aktivitas antioksidan paling besar dengan nilai IC sebesar 8.307 ppm, Honje (17.971 ppm), Nanas (250.75 ppm), Jamur merang (281.77 ppm), namnam (281,91 ppm), sawo manila (304.56 ppm), dan kawista (501,69 ppm).

Keyword: Pangan fungsional, Metabolomik, Metabolit sekunder,

ABSTRACT

Based on the results of the screening of bioactivity and nutritional aspects of functional plants in West Java and Banten showed that some food plants typical of West Java and Banten such as canna, mushroom, basil, sapodilla, breadfruit, and namnam have bioactivity as antioxidants, antibacterial, and antidiabetic. The active compounds are contained in functional food plant extracts such as canna tubers (saponins and alkaloids), mushroom mushrooms (flavonoids, saponins, and alkaloids), basil seeds (saponins, tannins, and alkaloids), sapodilla manila (flavonoids, saponins, and alkaloids), basil seeds (saponins, tannins, and alkaloids), sapodilla manila (flavonoids, saponins, and saponins , and tannins), breadfruit (flavonoids, saponins, and alkaloids), and namnam (triterpenoids, flavonoids, saponins). This study aims to identify bioactive compounds from several functional food plants of West Java and Banten society results of liquid chromatography-mass spectroscopy (LCMS) analysis that correlate with antioxidant activity using metabolomic approaches. Extraction Plant samples in the form of plant parts that have the potential to function as food for West Java and Banten communities include straw mushrooms, basil, sapodilla, namnam, honje, kawista and pineapple which have been dried and mashed, macerated for 3 x 24 hours using methanol solvent. Maserat is filtered using filter paper, while adding solvents until the filtering liquid results become clear. The filtered liquid is concentrated in a vacuum rotary evaporator at 40 0C until a concentrated methanol extract is obtained. All extracts were then tested for antioxidant activity and analysis of chemical compound profiles by LCMS. The antioxidant activity of the extract was measured by its ability to release electrons or hydrogen atoms to convert the stable 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical compound to form a non-radical DPPH (Mathew et al., 2006). Extract mother liquor was made at 1000 ppm by means of 10 mg of methanol extract added with 1000 mL of methanol then made in series with 800 concentrations; 400; 200; 100; 50; 25 ppm. Furthermore, the sample solution with various concentrations of 2 mL plus 2 mL DPPH solution in methanol (0.002%), divortex then left to stand for 30 minutes in a dark room and then absorbance was measured at a wavelength of 512-520 nm using a UV-Vis spectrophotometer and do it in duplicate . As a blank, 2 mL of methanol were added with 2 mL of DPPH 0.002%. 1 mg of the most active fraction was dissolved in methanol. Samples were then injected as much as 20 µL into the LCMS (Waters, USA) ESI (Electrospray Ionization) system of positive ion models, column C18 (RP18) superco, column length 50 mm, diameter in column 2.1 mm, particle size 1.8 µm with the flow rate set at 0.3 mL / min, the column temperature is 40 oC. The measurement results are presented in the form of LC and MS charts. Basil has the greatest value of antioxidant activity with IC values of 8,307 ppm, Honje (17,971 ppm), Pineapple (250.75 ppm), Mushroom straw (281.77 ppm), Namnam (281.91 ppm), Sawilla Manila (304. 56 ppm), and kawista (501.69 ppm).

Keywords: functional food, metabolomics, secondary Metabolites

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecenderungan masyarakat untuk mengkonsumsi makanan fungsional sebagai sumber nutrisi semakin meningkat. Di Indonesia, kecenderungan tersebut telah dimanfaatkan oleh industri farmasi dan makanan untuk mempromosikan produk-produknya melalui pencantuman klaim kesehatan pada label produk maupun iklannya (Winarti dan Nurdjanah, 2005). Seiring dengan makin meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, tuntutan konsumen terhadap bahan pangan juga bergeser. Bahan pangan yang kini banyak diminati konsumen bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasanya menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh, seperti sebagai sumber antioksidan, makanan/minuman penurun tekanan darah, penurun kadar kolesterol jahat dan kadar gula darah (Astawan 2003).

Pangan fungsional yaitu bahan pangan yang mengandung komponen aktif dan mempunyai fungsi fisiologis serta dapat digunakan untuk pencegahan atau penyembuhan penyakit atau untuk mencapai kesehatan yang optimal (Winarti dan Nurdjanah, 2005). Tanaman pangan fungsional umumnya mengandung komponen aktif fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri dan antialzeimer.

Provinsi Jawa Barat dan Banten dikenal memiliki berbagai jenis tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional. Berbagai tanaman yang tumbuh dapat dijadikan produk olahan dalam berbagai jenis produk makanan dan minuman seperti minuman kesehatan, minuman instan, jus, sirup, permen, acar, manisan, dodol, selai dan jeli. Walaupun pangan fungsional dapat menjadi pendorong pertumbuhan industri pangan di wilayah Jawa Barat dan Banten, kenyataannya cukup banyak masalah yang perlu dipecahkan antara lain pemasaran, distribusi, merek dagang dan pelabelan, penentuan harga, cita rasa dari produk tersebut, termasuk penelitian untuk membuktikan klaim khasiat yang semuanya berdampak pada tingginya harga jual.

Berdasarkan hasil penapisan bioaktivitas dan aspek nutrasetikal tanaman fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten menunjukkan bahwa beberapa tanaman pangan khas Jawa Barat dan Banten seperti ganyong, jamur merang, kemangi, sawo manila, sukun, dan namnam memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, dan antidiabetes. Senyawa-senyawa aktif tersebut terkandung dalam ekstrak tanaman pangan fungsional seperti pada umbi ganyong (saponin dan alkaloid), jamur merang (flavonoid, saponin, dan alkaloid), biji kemangi (saponin, tanin, dan alkaloid), buah sawo manila (flavonoid, saponin, dan tanin), buah sukun (flavonoid, saponin, dan alkaloid), dan namnam (triterpenoid, flavonoid, saponin) (Sukandar et al., 2015). Rusanti et al. (2017) melaporkan bahwa ekstrak tanaman honje (*Etlingera elatior*) yang merupakan salah satu tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel Murine Leukemia P-388 dengan IC_{50} sebesar 19,20 $\mu\text{g/mL}$. Hasil karakterisasi menggunakan LCMS menunjukkan adanya senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik yaitu resveratrol, lapachol, apigenin, *methylated chrysin*, *6,2'-dihydroxyflavanone*, *3-hydroxy-3,4'-dymethoxyflavone* dan *4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone*.

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten telah dilakukan, namun penelitian mengenai korelasi antara profil senyawa aktif dengan aktivitas antioksidan dari beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten menggunakan pendekatan metabolomik belum pernah dilakukan.

Pendekatan metabolomik merupakan analisis komprehensif dan kualitatif komponen dari seluruh metabolit di dalam sampel (Dettmer et al., 2007). Data yang diperoleh sebagai hasil metabolomik adalah data yang jumlahnya cukup besar sehingga diperlukan analisis data multivariat sebagai interpretasi data. Salah satu analisis data multivariat menggunakan Principal Component Analysis (PCA) yang digunakan untuk menganalisis korelasi antara profil kimia dengan aktivitas biologis. Analisis PCA menunjukkan beberapa plot seperti score plot, kurva S-plot, dan Y related coefficient plot (Yuliana et al., 2011).

Penelitian ini mengidentifikasi senyawa bioaktif dari beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten hasil analisis liquid chromatography-mass spectroscopy (LCMS) yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan melakukan identifikasi senyawa-senyawa bioaktif dari beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten hasil analisis liquid chromatography-mass spectroscopy (LCMS) yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik.

1.3 Perumusan Masalah

Penelitian ini merupakan kajian mengenai bukti ilmiah yang terkait dengan profil kimia hasil analisis LCMS yang berkorelasi dengan khasiat beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten sebagai antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik. Permasalahan penelitian ini dibatasi pada:

1. Bagaimanakah aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari bagian tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten antara lain jamur merang, kemangi, sawo manila, namnam, honje, kawista, dan nenas?
2. Bagaimanakah hasil identifikasi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dari bagian tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten antara lain jamur merang, kemangi, sawo manila, namnam, honje, kawista, dan nenas menggunakan analisis LCMS?
3. Bagaimanakah korelasi antara profil senyawa kimia dengan aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dari bagian tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten antara lain jamur merang, kemangi, sawo manila, namnam, honje, kawista, dan nenas menggunakan pendekatan metabolomik?

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan

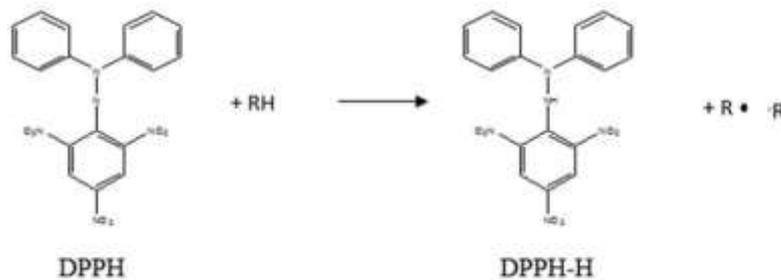
Antioksidan merupakan senyawa inhibitor yang berfungsi untuk menghambat oksidasi dengan cara mendonorkan atom hidrogen membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, antara lain Antioksidan Sintetik (Ardiansyah, 2007) dan Antioksidan Alami (Pratt, 1992).

Senyawa radikal bebas yang bereaksi di dalam tubuh mengakibatkan disfungsi sistem metabolisme tubuh sehingga keberadaan antioksidan diharapkan dapat mengimbangi reaksi radikal bebas (Ivanova dan Ivanov, 2000).

2.2 Metode Pengukuran Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya Metode *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH). Metode DPPH merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman. Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC50) (Molyneux, 2004). Sifat stabil tersebut dikarenakan radikal bebas ini memiliki satu elektron yang didelokalisir dari molekul utuhnya, sehingga molekul tersebut tidak reaktif

sebagaimana radikal bebas lain. DPPH berwarna ungu dalam larutan dan dapat bereaksi dengan radikal lain membentuk suatu senyawa yang bersifat stabil. Selain itu, DPPH juga dapat bereaksi dengan atom hidrogen (berasal dari suatu antioksidan) membentuk DPPH tereduksi (DPPH Hidrazin) yang stabil (Pourmorad *et al.*, 2006). Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Osman *et al.*, 2004; dan Gurav *et al.*, 2007). Reaksi antara radikal bebas DPPH dengan suatu antioksidan fenolik ditampilkan pada gambar 1 (Molyneux, 2004).



Gambar 1. Reaksi Penghambatan Radikal DPPH

2.3 Tanaman Pangan Fungsional

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (POM), pangan fungsional adalah pangan yang secara alami maupun melalui proses mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan hasil kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan. Meskipun mengandung senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, pangan fungsional tidak berbentuk kapsul, tablet atau bubuk yang berasal dari senyawa alami (Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2001).

Pangan fungsional mempunyai tiga fungsi dasar antara lain sensory (warna dan penampilan menarik, citarasanya enak); nutritional (bernilai gizi); dan physiological (memberikan pengaruh fisiologis, menguntungkan bagi tubuh) (Muchtadi, 2004).

Senyawa fitokimia merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman mempunyai peranan yang sangat penting bagi kesehatan termasuk fungsinya dalam pencegahan terhadap penyakit degeneratif. Beberapa senyawa fitokimia yang diketahui mempunyai fungsi fisiologis adalah karotenoid, fitosterol, saponin, glikosinolat, polifenol, inhibitor protease, monoterpen, fitoestrogen, sulfide dan asam fitat (Winarti dan Nurdjanah, 2005).

Komponen fenolik dalam tanaman diketahui dapat menghambat pertumbuhan kanker dan mempunyai aktivitas antimutagenik. Pertumbuhan kanker yang dapat ditekan oleh senyawa fenolik antara lain kanker usus, payudara, paru-paru, dan kulit (Craig, 1999).

Beberapa jenis tanaman yang dapat dikembangkan sebagai pangan fungsional bagi masyarakat Jawa barat dan Banten antara lain tertera pada tabel 1.

Tabel 1. Beberapa tanaman pangan fungsional masyarakat Jawa Barat dan Banten

No	Nama lokal	Spesies	Bagian yang dimanfaatkan	Kegunaan
1	Jamur merang	<i>Volvariella volvaceae</i>	Daging buah	Keripik
2	Kemangi	<i>Ocimum citriodorum</i>	Daun	Minuman
3	Sawo manila	<i>Manilkara zapota</i>	Daging buah	Sirup dan minuman
4	Namnam	<i>Cynometra cauliflora</i>	Daging buah	Asinan dan minuman
5	Honje	<i>Etlingera elatior</i>	Bunga	Sayuran
6	Kawista	<i>Limonia acidissima</i>	Daging buah	Wajit, sirup, dan selai
7	Nenas	<i>Ananas comosus</i>	Daging buah	Dodol, selai, dan wajit

2.4 Metabolomik

Metabolomik adalah salah satu bagian penelitian omik yang fokus pada peneltian identifikasi molekul metabolit pada suatu tanaman (Krastanov, 2011). Metabolomik dapat diaplikasikan untuk mempelajari korelasi antara bioaktivitas dan profil kimia yang pada akhirnya dapat digunakan untuk mengidentifikasi komponen bioaktif pada tanaman (Yuliana *et al.*, 2011). Metode ini dilakukan dengan cara mengekstraksi sampel secara komprehensif dengan menggunakan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda mulai dari yang nonpolar, semipolar dan polar. Ekstraksi menggunakan berbagai pelarut ini bertujuan untuk mengklasifikasikan senyawa-senyawa yang terkandung didalam tanaman tersebut dapat dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya.

Banyaknya data yang dihasilkan dari profil kimia menyebabkan analisis statistik pada studi metabolomik harus menggunakan data multivariat. Salah satu analisis data multivariat yang dapat digunakan untuk melihat korelasinya adalah dengan *orthogonal projection to letant structure* (OPLS) (Maser *et al.*, 2017). Aplikasi analisa data multivariat yang umunya digunakan adalah SIMCA dan Unscramble. Aplikasi ini digunakan untuk mengelompokkan senyawa metabolit sekunder hasil fraksinasi menggunakan alat bantu seperti *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) dan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS).

2.7 Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS/MS) merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Penggunaan LC-MS/MS untuk penelitian dibidang bio-analisis dimulai pada akhir 1980-an (Bowers, 1989).

Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy berfungsi untuk memisahkan beberapa komponen senyawa atau campuran senyawa berdasarkan kepolarannya (prinsip kerja kromatografi), dimana setelah campuran senyawa tersebut terpisah, maka senyawa yang murni akan diidentifikasi berat molekulnya. Data yang didapatkan adalah berat molekul ditambah beberapa muatan dan berat molekul pelarut (Audrey, 2003).

Metode LCMS telah banyak digunakan sebagai metode pemisahan dan identifikasi bagi kebanyakan senyawa obat atau organik. Metode ini sangat sensitif dan selektif dibandingkan metode deteksi dengan sinar UV biasa (Ortelli *et al.*, 2000). Setelah pemisahan analit pada kolom HPLC, analit akan masuk ke detektor massa. Kemudian di dalam detektor ini, analit akan mengalami ionisasi menjadi ion dalam fase gas. Ion-ion tersebut akan terpisah berdasarkan rasio mass to charge (m/z) dan akan terdeteksi berdasarkan kelimpahan masing-masing ion.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

Bahan. Sampel tanaman berupa bagian tanaman yang berpotensi sebagai bahan pangan fungsioanal masyarakat Jawa Barat dan Banten antara lain jamur merang, kemangi, sawo manila, namnam, honje, kawista, dan nenas yang dikumpulkan dari beberapa Kabupaten dan Kota di Wilayah Provinsi Jawa Barat dan Banten serta spesimennya dideterminasi dan disimpan di Herbarium Bogoriense LIPI Cibinong Bogor. Bahan kimia berupa beberapa pelarut seperti metanol yang berkualitas teknis terdestilasi, metanol (pa), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

Alat. Alat yang digunakan adalah, alat penghalus (*grinding mill*), alat-alat gelas, botol vial, pipet tetes, corong pisah, timbangan analitik, penangas air listrik dan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan alumunium berlapis Si-gel Kieselgel 60 F254 0.25 mm (Merck). Peralatan lain yang digunakan adalah *rotary evaporator* Heidolph, lampu ultraviolet (UV) dengan λ 254 dan 366 nm, dan HR-LCMS/MS dan Software Masslink, massbank dan Unscramble.

3.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa laboratorium antara lain: Ekstraksi dan uji aktivitas antioksidan dilakukan di Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Analisis LCMS dilakukan di Laboratorium Advance IPB University Kampus Dramaga Bogor.

3.3 Prosedur Kerja

Ekstraksi. Sampel tanaman berupa bagian tanaman yang berpotensi sebagai bahan pangan fungsioanal masyarakat Jawa Barat dan Banten antara lain jamur merang, kemangi, sawo manila, namnam, honje, kawista dan nenas yang telah dikeringkan dan dihaluskan, dimaserasi selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut metanol. Maserat disaring menggunakan kertas saring, sambil terus ditambahkan pelarut sampai hasil cairan penyaringan menjadi jernih. Cairan hasil penyaringan dipekatkan dalam *rotary evaporator* vakum pada suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak metanol pekat. Seluruh ekstrak kemudian diuji aktivitas antioksidan dan analisis profil senyawa kimia dengan LCMS.

Uji Antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak diukur dari kemampuannya melepaskan elektron atau atom hidrogen untuk mengubah senyawa radikal 1,1–difenil- 2- pikrilhidrazil (DPPH) yang stabil membentuk DPPH non-radikal (Mathew *et al.*,2006). Dibuat larutan induk ekstrak sebesar 1000 ppm dengan cara sebanyak 10 mg ekstrak metanol ditambahkan dengan 1000 mL metanol kemudian dibuat deret dengan konsentrasi 800; 400; 200; 100; 50; 25 ppm. Selanjutnya larutan sampel dengan berbagai konsentrasi sebanyak 2 mL ditambah 2 mL larutan DPPH dalam metanol (0,002%), divorteks kemudian didiamkan selama 30 menit di ruangan gelap dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 512-520 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer Lambda 25) dan lakukan secara duplo. Sebagai blanko digunakan 2 mL metanol yang ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0,002%. Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus menurut Zhao *et al.* (2011) yang dinyatakan dalam persentase inhibisinya terhadap radikal DPPH:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A.\text{blanko} - A.\text{sampel}}{A.\text{blanko}} \times 100 \%$$

Persen inhibisi sebagai ordinat (y) dan konsentrasi ekstrak sebagai absis (x) dan persamaan regresi linier. Ditentukan nilai IC₅₀ menggunakan persamaan regresi linier yaitu $y = ax + b$, dimana **y** adalah absorbansi dan **x** adalah konsentrasi.

Identifikasi Profil Senyawa Kimia. Sebanyak 1 mg fraksi teraktif dilarutkan dalam pelarut metanol. Sampel kemudian diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam LCMS (Waters, USA) sistem ESI (*Electrospray Ionisation*) model ion positif, kolom C18 (RP18) superco, panjang kolom 50 mm, diameter dalam kolom 2,1 mm,

ukuran partikel 1,8 μm dengan kecepatan alir diatur 0,3 mL/menit, suhu kolom 40 $^{\circ}\text{C}$. Hasil pengukuran disajikan dalam bentuk grafik LC dan MS (Cuyckens dan Claeys, 2002).

IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi dan Evaporasi

Ekstraksi senyawa aktif tanaman-tanaman seperti jamur merang (*V. volvaceae*), kemangi (*O. citriodorum*), sawo manila (*M. zapota*), namnam (*C. cauliflora*), kecombrang (*E. elatior*), kawista (*L. acidissima*), dan nenas (*A. comosus*) menggunakan metode ekstraksi padat cair pada suhu ruang atau yang lebih dikenal dengan metode maserasi. Proses maserasi dipilih karena memiliki beberapa keuntungan diantara prosesnya lebih mudah dan sederhana karena hanya hanya melakukan perendaman di suhu ruang sehingga tidak memerlukan peralatan yang rumit. Perendaman pada suhu ruang memungkinkan tidak terjadinya degradasi senyawa aktif yang tidak tahan terhadap panas, sehingga metode maserasi ini banyak dipilih oleh peneliti dalam melakukan ekstraksi/penarikan senyawa aktif pada suatu sampel.

Proses maserasi menggunakan pelarut metanol. Metanol dipilih karena metanol merupakan pelarut universal yang bersifat polar. Secara struktur kimia, metanol terdiri dari gugus CH_3 dan OH . Gugus CH_3 pada metanol memberikan kontribusi dapat menarik senyawa-senyawa nonpolar seperti terpenoid, asam-asam lemak, steroid, dan beberapa senyawa kumarin. Gugus OH pada metanol memberikan ciri sebanyak senyawa polar. Gugus OH berperan dalam menarik senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran yang tinggi seperti flavonoid, saponin, polifenol, dan beberapa alkaloid. Penggunaan pelarut metanol dipilih karena metanol dapat melarutkan seluruh senyawa yang ada di dalam sampel. Ukuran struktur metanol yang kecil bila dibandingkan dengan etanol dan yang lainnya sehingga metanol dapat dengan mudah masuk ke dalam sitoplasma sel. Masuknya metanol secara massif ke dalam sitoplasma menjadikan sitoplasma sel menjadi jenuh dan lisis sehingga senyawa-senyawa yang terkandung di dalam sel menjadi larut dan menyatu dengan metanol.

Maserasi/ perendaman dilakukan selama 24 jam, kemudian disaring dan dipekatkan dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator*.

Pemekatan dilakukan menggunakan *vaccum rotary evaporator* yang bertujuan untuk menguapkan pelarut di bawah titik titiknya. Penguapan dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator* memiliki keuntungan diantaranya adalah pelarut dapat menguap di bawah titik dididnya sehingga meminimalisir adanya pemanasan berlebihan. Pemanasan berlebih dapat mengakibatkan terdegradasinya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Ekstrak yang dihasilkan pada proses ini dapat dilihat pada table berikut ini:

Tabel 5. Hasil ekstraksi sampel tanaman pangan Jawa Barat dan Banten

Sampel	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)
Jamur merang	500	0.6934
Honje	500	0.3607
Namnam	500	0.5493
Kawista	500	1.095
Nanas	500	0.6775
Sawo manila	500	0.8022
Kemangi	500	0.9381

4.2 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tanaman Pangan Fungsional Jawa Barat dan Banten

Antioksidan merupakan senyawa inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara menyerahkan atom hidrogen membentuk radikal bebas tak

reaktif yang relatif stabil. Beberapa prinsip pengujian antioksidan diantaranya *free radicals* dan *nonradicals*. Metode yang dapat dilakukan pada pengujian antioskidan adalah *oxygen radical absorbance capacity (ORAC)*, *total radical tapping antioxidant parameter (TRAP)*, *ferric ion reducing antioxidant capacity (FRAP)*, *diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)*, dan sebagainya.

Metode DPPH dipilih pada penelitian ini karena metode DPPH mudah dalam pengujian dan memiliki akurasi yang tinggi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase *scavenging activity*, yaitu kemampuan antioksidan untuk menghambat aktivitas radikal bebas. Persentase *scavenging activity* ini diperoleh dari perbedaan serapan antara blanko dengan sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Margaretta *et al.*, 2011).

Tabel 6. Hasil pengukuran antioksidan ekstrak pangan fungsional

Sampel	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Kemangi	8.30767
Kawista	501.6594
Honje	17.971
Nanas	250.75
Namnam	281.91
Sawo Manila	304.56
Jamur Merang	281.77

Dalam uji ini diperoleh sampel yang mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi adalah daun kemangi dengan peroleh IC₅₀ sebesar 17 ppm. Oleh karena itu sampel daun kemangi dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu analisa menggunakan LCMS dengan pendekatan metabolomik menggunakan aplikasi Unscramble.

V. KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari bagian tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pangan fungsioanal masyarakat Jawa Barat dan Banten.
2. Aktivitas antioksidan terbaik dimiliki oleh ekstrak metanol daun kemangi dengan nilai IC₅₀ sebesar 8.308 ppm yang tergolong sebgai antioksidan sangat kuat.

5.2 Rekomendasi

Aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari ekstrak metanol daun kemangi, perlu dilakukan isolasi terhadap senyawa aktif antioksidan sehingga mengetahui senywa apa yang berperan terhadap aktivitas tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agilent Technologies. 2001. Agilent LC-MS Primer. U. S. A 5988-2045EN. <http://www.agilent.com/chem>.
- Ardiansyah, 2007. Artikel Iptek: *Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan*. <http://www.beritaiptek.com>. Akses 18 November 2007
- Astawan M. 2003. Pangan fungsional untuk kesehatan yang optimal. Kompas Sabtu 23 Maret 2003.
- Audrey RE.2003.*LiquidChromatography-MassSpectrometry:anIntroduction*, New York (USA): John Wiley&Sons.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2001, Kajian proses standarisasi produk pangan fungsional di Badan Pengawasan Obat dan Makanan.

- Lokakarya Kajian Penyusunan Standar Pangan Fungsional. Badan Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Bowers LD. 1989. High-Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry: State of The Art for The Drug Analysis Laboratory. *Clin Chem.*35: 1282–7.
- Bowman W. and Rand M. 2000. *Textbook of Pharmacology, Second Edition*. Blackwell Scientific Publications, London.
- Craig WJ. 1999. Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Clin. Nutr.* 70(3): 491s–499s.
- Dawe CJ dan Potter M. 1997. Morphologic and biologic progression of a lymphoid neoplasm of the mouse in vivo and in vitro. *Am Journal Pathology.* 33(3):603.
- Dettmer K, Aronov PA, Hammock BD. 2007. Mass Spectroscopy-Based Metabolomic. *Mass Spectrum Rev.* 26 (1): 51-78.
- Djajanegara I dan Wahyudi P. 2009. Pemakaian sel HeLa dalam uji sitotoksitas fraksi kloroform dan etanol ekstrak daun *Annona squamosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 7 (1): 7-11.
- Donald J, Dykes BS and William RW. 2008. Pharmacogenomics in Drug Discovery and Development. XIII, 478, Hardcover ISBN: 978-1-58829-887-4
- Ferguson LR, Philpott M Karunasinghe N. 2004. *Dietary cancer and prevention using antimutagens. Toxicol.* 198: 147-159.
- Freimoser FM, Jakob CA, Aebi M, and Tuor A. 1999. The MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] Assay Is a Fast and Reliable Method for Colorimetric Determination of Fungal Cell Densities. *Applied and Environmental Microbiology.* 65: 3727-3729
- Freshney RI. 1987. *Animal cell Culture, A practical approach ed. 1st*. Washington DC: IRL Press.
- Gordon MH. 1990. The mechanism of antioxidants action in vitro. *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science, London: 1-18.
- Gurav S, Deshkar N, Gulkari V. 2007. Free Radical Scavenging Activity of *Poligala chinensis* Linn. *Pharmacology.* 2: 245-253.
- Ivanova E dan Ivanov B. 2000. *Mechanisms of extracellular antioxidant defend. Exp Pathol and Parasitol.* 4 : 49-59.
- Kochar SP dan Rossell B. 1990. *Detection estimation and evaluation of antioxidants in food system. Food Antioxidants*. Elvisier Applied Science. London: 19-64.
- Krastanov A. 2011. *Metabolomics the state of art. Biotechnol & Biotechnol* 24: 1537-1543
- Law LW, Dunn DB, Boyle PJ, Miller JH. 1949. Observations on the effect of a folic-acid antagonist on transplantable lymphoid leukemias in mice. *Journal National Cancer Inst.* 10:179–192.
- Liu Y, Peterson D.A, Kimura H, Schubert D. 1997. Mechanism of Cellular 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) Reduction. *Journal of Neurochemistry.* 69 (2): 581-593
- Maser WH, Rusmarilis H, Yuliana ND. 2017. Aplikasi Metabolomik Berbasis HPLC Untuk Mengidentifikasi Waktu Retensi Komponen Antibakteri *Staphylococcus aureus* Pada Ekstral Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*). *Alchemy* Vol. 13 No: 241-251
- Mathew S, Abraham ET. 2006. *In vitro* antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol.*44:198–206.

- Michael C, Alley, Dominic A, Scudiere, Anne M, Miriam L, Hursey. 1988. Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay. *Cancer Research Journal*. 48: 589-601.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2):211-219.
- Muchtadi D. 2004. Komponen Bioaktif dalam Pangan Fungsional, Perhimpunan Dokter Gizi Medik Indonesia Cabang DKI Jakarta. *Gizi Medik Indonesia*. 3 (7): 4-6.
- Osman H, Nasarudin R, Lee SL. 2004. Extracts of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Leaves and Their Antioxidation Potential. *Food Chem*. 86: 41-86.
- Pratt DE, Hudson. 1992. Natural Antioxidant Not Exploited Commercially. *Food Antioxidant, Elsevier Applied Science*. London: 99-170.
- Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajid N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5(11): 1142-1145.
- Rusanti A, Sukandar D, Rudiana T, Adawiah. 2017. Profil Fraksi Sitotoksik terhadap Sel Murine Leukemia P-388 dari Ekstrak Biji Honje (*Etilingera elatior*). *Jurnal Kimia Valensi* 3(1): 79-87.
- Sukandar D, Hermanto S, Amelia, ER. 201. *Penapisan Bioaktivitas Tabnaman Pangan Fungsional Masyarakat Jawa Barat dan Banten*, Direktorat Pendidikan Tinggi Islam Kementerian Agama RI, Jakarta. Cinta Buku Media.
- Trilaksana dan Wini. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. Term paper Intoductory Science Philosophy (PPS702): IPB
- Winarti, Christina dan Nurdjanah, Nanan, 2005, Peluang Tanaman Rempah dan Obat Sebagai Sumber Pangan Fungsional, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. *J. Litbang Pertanian*, 24(2): 47-55.
- Yuliana ND, Khatib A, Choi YH, Verpoort R. 2011. Metabolomic for Bioactivity Assesment of Natural Products. *Phytother Res*. 25 (2): 157-169.
- Zhao H, Wang Z, Cheng C, Yao L, Wang L, Lu W, Yang X, Ma F. 2011. In-Vitro Free Radical Scavenging Activities of Anthocyanins from Three Berries *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(32): 7036-7042.
- Zuhud, E., 2011. *Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker*. Yunita Indah. Cet-1. Agromedia Pustaka : Jakarta.