

THE COMPARISON OF EXTRACTION METHOD AND SOLVENT VARIATION ON YIELD AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra* EXTRACT

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI DAN VARIASI PELARUT TERHADAP RENDEMEN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KUBIS UNGU (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*)

Rima Yulia Senja*, Elisa Issusilaningtyas, Akhmad Kharis Nugroho and Erna Prawita Setyowati
Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Red Cabbage (Brassica oleracea L. Var. Capitata f. rubra) has a high anthocyanin content therefore it can be potential as a natural antioxidant. In this research, the antioxidant activity of the red cabbage extract was evaluated quantitatively with a spectroscopy method using DPPH reagent to obtain the value of IC₅₀. This research was divided into 2 stages. First, the influence of solvent variant to the extract yield of red cabbage powder and the maximum wavelength (λ) using a maceration protocol. The kind of solvent (70%, 80%, 95%, and 96% of ethanol) with addition 3% of citric acid. Second, the influence of extraction methods in neutral condition to the antioxidant activity. The results show the red cabbage powder maceration with 96% ethanol solvent (acid condition) exhibits the highest yield. The fresh red cabbage soxhletation with 96% ethanol (neutral condition) exhibits 288,5 nm maximum wavelength (λ) and 168,78 mg/mL of IC₅₀ value.
Key words : Red cabbage extract, extraction method, solvent

ABSTRAK

Kubis ungu (Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra) memiliki kandungan antosianin tinggi sehingga potensial sebagai antioksidan alami. Dalam penelitian ini, aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu dievaluasi secara kuantitatif dengan metode spektroskopi menggunakan pereaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) untuk mendapatkan nilai IC₅₀. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap. Pertama, perbandingan variasi pelarut terhadap rendemen ekstrak serbuk kubis ungu dan panjang gelombang (λ) maksimum, menggunakan ekstraksi secara maserasi. Jenis pelarut yang digunakan (etanol 70%, 80%, 95%, 96%) yang ditambahkan asam sitrat 3%. Kedua, perbandingan variasi metode ekstraksi dalam suasana netral terhadap aktivitas antioksidan secara kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan maserasi serbuk kubis ungu dengan pelarut etanol 96% (suasana asam) menghasilkan rendemen tertinggi. Soxhletasi kubis ungu segar dengan pelarut etanol 96% (suasana netral) memiliki (λ) maksimum 288,5 nm dan IC₅₀ sebesar 168,78 μ g/mL.
Kata kunci : ekstrak kubis ungu, metode ekstraksi, pelarut.

PENDAHULUAN

Penuaan adalah suatu proses biologis kompleks sebagai hasil dari penuaan intrinsik (dari dalam tubuh seperti genetik) dan penuaan ekstrinsik (dari lingkungan). Faktor ekstrinsik yang paling berpengaruh dalam proses penuaan adalah radikal bebas. Radikal bebas dapat memberikan efek negatif yaitu mempercepat terjadinya penuaan dini akibat terjadinya stress oksidatif yang berperan penting dalam proses penuaan (Mackiewicz dan Rimkevicius, 2008).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi (Pokorny dkk., 2001). Antioksidan merupakan kelompok yang sangat potensial, memiliki kemampuan mencegah terjadinya dan mengurangi tingkat kerusakan kulit.

Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan

*Corresponding author: Rima Yulia Senja
Email: rimayulia_farmasi@yahoo.com

eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005).

Kubis ungu mempunyai banyak manfaat karena mempunyai banyak kandungan antara lain vitamin A, B, C dan E, mineral kalium, kalsium, fosfor, natrium dan besi, sulforafan serta mengandung antosianin (Lin dkk, 2008). Antosianin juga tergolong senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan alami dan memiliki kekuatan antioksidan 150 kali lebih kuat dari flavonoid (Neelufar dkk., 2012). Selain itu, antosianin mampu menghentikan reaksi radikal bebas dengan menyumbangkan hidrogen atau elektron pada radikal bebas dan menstabilkannya. Senyawa antioksidan dalam kubis ungu dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Dalam proses ekstraksi suatu bahan tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya : jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi pelarut terhadap rendemen ekstrak kubis ungu dan panjang gelombang (λ) maksimum serta mengetahui pengaruh metode ekstraksi kubis ungu terhadap aktivitas antioksidan.

METODOLOGI

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca elektrik (Mettler toledo, japan) dengan kapasitas 0,021-210 g, stirrer, sentrifugator, penangas air, *beaker glass*, seperangkat alat soxhlet, *vaccum rotary evaporator*, oven, spektrofotometer UV-VIS (Model U-2900, Japan), *Moisture Balance* (Ohaus MB23, Germany), alat *frezzdry*.

Kubis ungu (tua dan berwarna ungu) yang berasal dari perkebunan Lembang, radikal DPPH (2,2-Di (4-Tert-Octylphenyl)-1-picryl-Hydrazyl), etanol 70%, 80%, 95% dan 96%, asam sitrat, rutin, aquades.

Metode maserasi

Sampel yang digunakan pada proses ekstraksi dengan metode maserasi terdiri dari serbuk kubis ungu dalam suasana asam dan sampel kubis ungu segar dalam suasana netral. Jenis asam yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah asam sitrat 3% b/v dikarenakan asam sitrat merupakan jenis asam yang paling baik untuk mengekstraksi kubis ungu (Wirda dkk, 2011).

Maserasi serbuk kubis ungu

Kubis ungu segar dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C. Kubis ungu kering kemudian diserbuk dan diayak dengan pengayak mesh 100. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi pada suhu ruangan. Sampel sejumlah 100 gram dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan pelarut sampai seluruh bahan terendam. Jenis pelarut yang digunakan meliputi etanol 70%, 80%, 95% dan 96% yang masing-masing ditambahkan asam sitrat 3% b/v. Proporsi pelarut dan asam sitrat 3% b/v (85:15) (Kristiana dkk., 2012). Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan atau dengan bantuan *shaker*. Ekstraksi diulang sebanyak 3 kali. Maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan cara menguapkan pelarutnya menggunakan *vaccum rotary evaporator* dengan tekanan rendah pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental. Pada metode ini dilakukan juga proses *frezze dryer* untuk mendapatkan ekstrak kering.

Maserasi kubis ungu segar

Kubis ungu segar dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dengan cara diblender. Sejumlah 100 gram sampel dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sampai seluruh bahan terendam. Proses maserasi dilakukan sama seperti pada maserasi serbuk kubis ungu sampai diperoleh ekstrak kental.

Metode soxhletasi

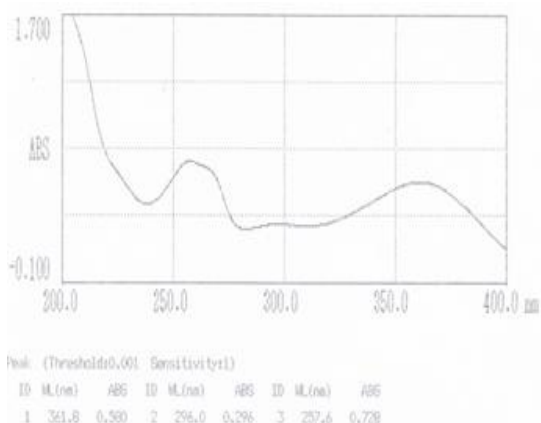
Sampel yang digunakan pada proses ekstraksi dengan metode soxhletasi terdiri dari serbuk kubis ungu dan sampel kubis segar dalam suasana netral.

Soxhletasi serbuk kubis ungu

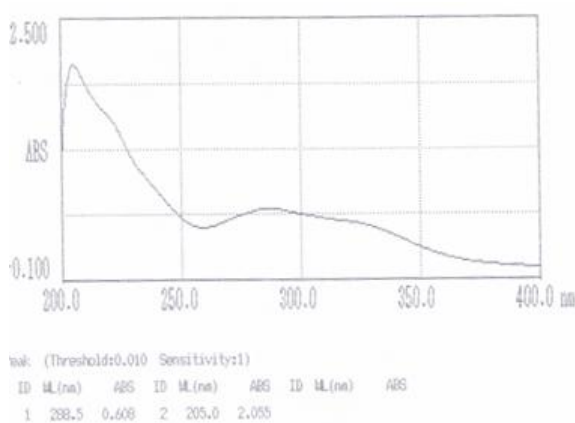
Sejumlah serbuk kubis ungu dimasukkan ke dalam alat soxhlet, kemudian ditambahkan etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1 : 5 sampai seluruh bahan terendam. Proses ekstraksi dilakukan selama kurang lebih 2jam. Maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan cara menguapkan pelarutnya menggunakan *vaccum rotary evaporator* dengan tekanan rendah pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Soxhletasi kubis ungu segar

Sejumlah kubis ungu segar yang sudah dipotong kecil-kecil dan diblender dimasukkan ke dalam alat soxhlet, kemudian ditambahkan



Gambar. 1 Panjang gelombang maksimal rutin



Gambar. 2 Panjang gelombang maksimal ekstrak kubis ungu segar (metode soxhletasi)

Tabel I. Perbandingan pelarut ekstraksi serbuk kubis ungu secara maserasi terhadap rendemen dan panjang gelombang maksimal yang dihasilkan

Jenis Pelarut	Konsistensi Ekstrak	Rendemen Ekstrak (%b/b)	λ maks (nm)
Etanol 70%	Kental	22,6	206,5
Etanol 80%	Kental	24,1	206
Etanol 95%	Kental	22,6	207,5
Etanol 96%	Kental	38,55	206
	Ekstrak Kering (freezdry)	37,11	281,5

Keterangan :

Proses maserasi serbuk kubis ungu dengan penambahan asam sitrat 3%b/v

etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1 : 5 sampai seluruh bahan terendam. Proses ekstraksi dilakukan sama seperti pada soxhletasi serbuk kubis ungu sampai diperoleh ekstrak kental.

Pengukuran panjang gelombang maksimal (λ maks)

Ekstrak dengan konsentrasi 1mg/mL dalam etanol diukur panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 200-400nm. Hal yang sama dilakukan pada larutan pembanding yaitu rutin dengan konsentrasi 20µg/ml. Hasil pengukuran λ maksimum rutin disajikan pada gambar 1 dan λ maksimum ekstrak disajikan pada gambar 2.

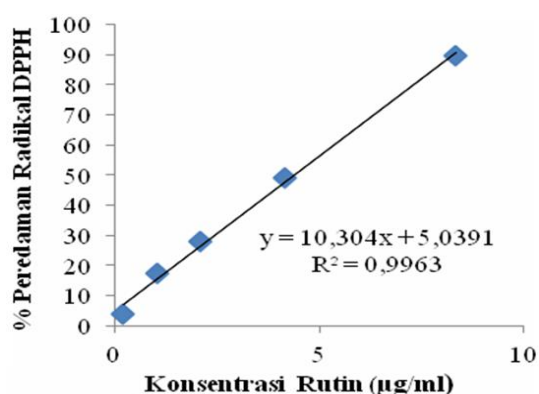
Uji aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH (Chun dkk., 2003)

Sebanyak 1,000 g ekstrak kubis ungu dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 100,0 mL. Larutan tersebut dipipet sebanyak 100; 200 ;

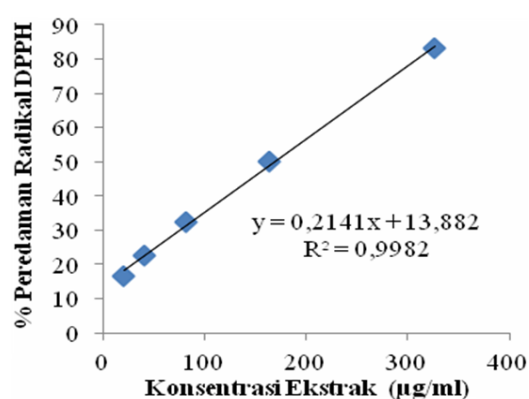
400; 800; 1600µL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5,0mL. Tambahkan 1,0mL DPPH 0,4 mM dan etanol sampai tanda batas, kocok hingga campuran homogen dan didiamkan selama 30menit. Larutan ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515nm. Dilakukan pula pembacaan absorbansi kontrol negatif yaitu tanpa penambahan larutan uji. Larutan rutin sebagai kontrol positif dibuat dengan konsentrasi 10µg /mL dalam etanol. Larutan tersebut dipipet sebanyak 0,1; 0,5; 1; 2; 4mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 5,0mL dan diberi perlakuan sama dengan perlakuan terhadap ekstrak. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan persamaan 1 :

$$(\%) \text{ inhibisi DPPH} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan



Gambar 3. Kurva kalibrasi larutan standar rutin



Gambar 4. Kurva uji aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu segar dengan metode soxhletasi

aktivitas penangkap radikal rata-rata (y) dari suatu seri replikasi pengukuran sehingga diperoleh harga IC_{50} yaitu konsentrasi bahan uji yang diperlukan untuk menangkap radikal DPPH selama 30 menit. Hasil uji aktivitas antioksidan perbandingan (rutin) disajikan pada gambar 3 dan aktivitas antioksidan ekstrak disajikan pada gambar 4.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kubis ungu yang digunakan adalah kubis ungu yang masih dalam keadaan segar. Pemilihan sampel harus diperhatikan dengan cermat untuk menghindari komposisi kimia sampel yang tidak representatif. Sampel yang digunakan adalah kubis ungu yang diperoleh dari perkebunan Lembang berasal dari satu kebun dan berusia 3 bulan dan sudah siap panen. Rendemen ekstrak merupakan persentase berat ekstrak dari berat kering kubis ungu. Data rendemen ekstrak dan pengukuran λ maksimum ekstrak serbuk kubis ungu berdasarkan pelarut dalam suasana asam disajikan dalam tabel I. Jenis pelarut dalam proses maserasi serbuk kubis ungu memberikan pengaruh terhadap rendemen dan panjang gelombang (λ) maksimum. Perbedaan besarnya rendemen dan panjang gelombang (λ) maksimum dikarenakan setiap pelarut memiliki kepolaran yang berbeda-beda sehingga akan mempengaruhi banyaknya senyawa aktif yang terlarut dalam proses ekstraksi kubis ungu. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut yang baik untuk mengekstraksi kubis ungu yaitu etanol 96%.

Uji tahap 2 dilakukan dengan membandingkan metode ekstraksi yaitu maserasi dan soxhletasi dengan sampel yaitu kubis ungu segar dan serbuk kubis ungu dengan pelarut

etanol 96% (suasana netral). Tujuan dari uji tahap 2 untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi kubis ungu terhadap aktivitas antioksidan. Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif adalah metode penangkapan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Metode DPPH mengukur kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Menurut Prior dkk. (2003), mekanisme penghambatan aktivitas radikal bebas DPPH oleh antosianin adalah dengan mendonorkan atom hidrogen dari sebagian gugus hidroksilnya ke senyawa radikal bebas DPPH sehingga membentuk senyawa radikal bebas DPPH lebih stabil (DPPH-H). Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan akan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa antioksidan. Konsentrasi DPPH pada akhir reaksi tergantung pada konsentrasi awal dan struktur komponen senyawa penangkap radikal (Supiyanti dkk, 2010). Adapun hasil perbandingan metode ekstraksi terhadap panjang gelombang maksimum dan aktivitas antioksidan disajikan pada tabel II.

Pengukuran panjang gelombang dilakukan untuk menentukan panjang gelombang maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan salah satu larutan standar rutin. Dari hasil pengukuran diperoleh tiga panjang gelombang maksimum khas senyawa rutin, yaitu pada panjang gelombang 257,6nm, 290nm, dan 361,8nm.

Berdasarkan hasil penelitian, metode yang paling sesuai untuk mengekstraksi senyawa dalam kubis ungu yaitu soxhletasi dari bahan segar

Tabel II. Perbandingan proses ekstraksi kubis ungu dalam suasana netral terhadap λ maksimal dan aktivitas antioksidan ekstrak.

Sampel	Metode ekstraksi	Konsistensi ekstrak	Lama proses ekstraksi	Proses setelah ekstraksi	λ maks (nm)	IC ₅₀ (μ g/mL)
Kubis ungu segar			24 jam	1	284,5	400,63 \pm 1,97
Kubis ungu segar	Maserasi	Kental	24 jam	2	283	420,55 \pm 9,53
Kubis ungu segar			3x24 jam	3	283,5	437,23 \pm 11,70
Serbuk Kubis ungu			3x24 jam	3	266	478,71 \pm 13,71
Serbuk Kubis ungu		Ekstrak kering (freeze dry)	3x24 jam	3	281,5	254,66 \pm 3,82
Kubis ungu segar			2 jam	1	288,5	168,78 \pm 5,15
Kubis ungu segar	Soxhletasi	Kental	2 jam	2	283,5	361,73 \pm 6,14
Serbuk kubis ungu			2 jam	1	268,5	583,65 \pm 12,02
Serbuk kubis ungu			2 jam	2	271	424,96 \pm 10,23

Keterangan :

Proses setelah ekstraksi :

(1) Oven pada suhu 100°C selama 1 jam

(2) Diuapkan di atas penangas air kemudian di oven pada suhu 100°C selama 1 jam

(3) Diuapkan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak kental

dengan proses oven pada suhu 100°C selama 1 jam. Ekstrak kubis ungu dengan metode soxhletasi bahan segar dengan proses oven pada suhu 100°C selama 1 jam, diperoleh IC₅₀ yaitu 168,78 μ g/mL dengan λ_{max} 288,5 nm. Hal ini kemungkinan dikarenakan kubis ungu segar memiliki kandungan antosianin yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kandungan antosianin dalam serbuk kubis ungu. Semakin banyak antosianin dan senyawa-senyawa antioksidan dalam kubis ungu yang tersari melalui proses ekstraksi tentu akan mempunyai potensi antioksidan yang lebih tinggi. Rutin sebagai pembanding memiliki IC₅₀ 4.37 μ g/mL dengan λ_{max} 257,6 nm, 296nm dan 361,8nm . Hal ini menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak kubis lebih besar dari rutin. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin besar daya antioksidan. Walaupun daya antioksidan Rutin 38,62 kali lebih kuat dari ekstrak kubis ungu, tetapi hasil tersebut

menunjukkan bahwa ekstrak kubis ungu mempunyai aktivitas antioksidan

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kubis ungu segar yang diperoleh dengan metode soxhletasi memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC₅₀ 168,78 μ g/mL dan λ_{max} 288,5nm. Aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu kemungkinan oleh kandungan senyawa antosianin atau kandungan lain didalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Chun, O.K., Kim, D.O. dan Lee, C.Y. 2003, Superoxide Radical Scavenging Activity of The Major Polyphenol in Fresh Plums, *J. Food Chem*, **51**: 8067-8072.
- Dalimartha, S. dan Soedibyo, M. 1999, *Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*, Trubus Agriwidya, Jakarta. hal. 36-40.

- Harborne J.B. 1987, *Phytochemistry Methods*, John Wiley and Sons: New York
- Kristiana, H.D., Ariviani, S., Khasanah, L.U. 2012. Ekstraksi Pigmen Antosianin Buah Senggani (*Melastoma malabathricum* Auct. non Linn) dengan Variasi Jenis Pelarut, *J.Teknosains Pangan* **1(1)**: 105-109
- Lin, W., Wu R.T., Wu, T., Khor, T., Wang, H. dan Kong, A. 2008, Sulforaphane Suppressed LPS-induced Inflammation in Mouse Peritoneal Macrophages through Nrf2 Dependent Pathway, *Biochem Pharmacol*, **76(8)** : 1776-1783.
- Mackiewicz, Z., Rimkevicius, A. 2008, Skin Aging. Institute of Experimental and Clinical Medicine at Vilnius University.
- Neelufar. S., Alekhya, T. dan Sudhakar, K. 2012, Pharmacognostical and Phytochemical evaluation of *Brassica Oleracea* Linn Var. *Capitata F. Rubra* (The Red Cabbage), *J. pharm bio*, **2(2)** : 43-46.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 2001, *Antioxidant in Food: Practical Application*, CRC Press Cambridge, New York
- Prior, R.L., Wu, X dan Schaich, K. 2005, Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplement, *J.Agric.Food Chem*, **55** : 2698A-J
- Rohdiana, D.(2001). Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh, *Majalah Jurnal Indonesia* **12 (1)** : 53-58.
- Supiyanti,W., Wulansari, E.D., dan Kusmita, L. 2010, Uji aktivitas antioksidan dan penentuan kandungan antosianin total kulit buah manggis (*Garcinia mangosta*. L). *Majalah Obat Tradisional*, **15(2)** : 64-70.
- Sunarni,T., (2005). Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae, *Jurnal Farmasi Indonesia* **2 (2)** : 53-61.
- Wirda, Z., Halim, H., Millati, T., Zulhidiani, R. 2011. Pengaruh Berbagai Jenis Pelarut dan Asam Terhadap Rendemen Antosianin Kubis Merah (*Brassica oleracea capitata*). *J. Agroscientific*, **18**: 2